

ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΙV: ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ



Διπλωματική εργασία

Πρωτεϊνικά υπερσυμπκνώματα ελαιοκράμβης μέσω εκχύλισης με υπέρηχους



Ιωάννης Μουρτογιάννης

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια ΕΜΠ: Κωνσταντίνα Τζιά

Αθήνα, Ιούνιος 2022

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών, που στεγάζεται στο Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, παρά τις ιδιαίτερες συνθήκες της πανδημίας.

Με την ολοκλήρωσή της, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες σε όλους όσους συμμετείχαν με το δικό τους τρόπο στην εκπόνησή της.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτριά μου Κωνσταντίνα Τζιά, για την ανάθεση της διπλωματικής εργασίας μου, για την πολύτιμη συμπαράσταση και την αμέριστη βοήθειά της. Η επιμονή και το ενδιαφέρον της ήταν αμείωτο από την αρχή μέχρι το τέλος. Οι επιστημονικές γνώσεις που έλαβα μέσω των καθημερινών συζητήσεών μας, οι εύστοχες παρατηρήσεις της κατά την εκτέλεση των πειραμάτων όσο και στην αναζήτηση της βιβλιογραφίας υπήρξαν καίριες για την ολοκλήρωση της εργασίας και θα αποτελέσουν σημαντικά εφόδια για τη μετέπειτα σταδιοδρομία μου.

Ιδιαίτερη μνεία θα ήθελα να κάνω στην κα Βιργινία Γιάννου για τη συνεχή παρακολούθηση και τις ακριβείς επισημάνσεις των σημείων που έχρηζαν της βοήθειάς της. Θα ήταν παράλειψή μου, να μην αναφερθώ και στα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών για το φιλικό κλίμα που διαμόρφωσαν καθ' όλη τη διάρκεια της ερευνητικής διαδικασίας.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ από καρδιάς στην οικογένειά μου για την αέναη στήριξη, τη συμπαράσταση και την κατανόησή τους όλα αυτά χρόνια. Σε αυτό το φοιτητικό μου «ταξίδι» δεν θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω και τους στενούς μου φίλους, που υπήρξαν συνοδοιπόροι σε αυτήν την προσπάθεια.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης μέσω εκχύλισης με τη βοήθεια υπερήχων και ισοηλεκτρικής καταβύθισης καθώς και η σύγκριση των αποτελεσμάτων με εκείνα της συμβατικής μεθόδου εκχύλισης. Επίσης, αξιολογούνται οι λειτουργικές ιδιότητες της ικανότητας συγκράτησης νερού και της δέσμευσης ελαίου των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων που λαμβάνονται με τη βοήθεια της νέας τεχνολογίας εκχύλισης.

Υπόλειμμα ελαιοκράμβης από τη βιομηχανία χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη και υποβάλλεται σε μία διαδικασία άλεσης προκειμένου να αποκτήσει την επιθυμητή κομμομετρία. Στη συνέχεια, πραγματοποιείται περαιτέρω απελαίωσή του με πετρελαϊκό αιθέρα, με σκοπό την απομάκρυνση της υπολειπόμενης ποσότητας ελαίου. Η σύσταση της πρώτης ύλης σε υγρασία και υπολειπόμενο έλαιο είναι 8,87% και 3,37% αντίστοιχα, ενώ η περιεκτικότητά της σε πρωτεΐνη είναι 39,50%.

Η παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων μέσω υδατικής εκχύλισης των πρωτεϊνών και ισοηλεκτρικής τους καταβύθισης πραγματοποιείται με απιονισμένο νερό για χρόνο εκχύλισης 30min, σε θερμοκρασία 50°C και pH=8 και αναλογίες στερεού–υγρού 1/15, 1/20, 1/25. Οι μεγαλύτερες αποδόσεις των πρωτεϊνών παρατηρούνται για αναλογία στερεού–υγρού 1/25, όπου η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών είναι 24,64%, η απόδοση καταβύθισης των πρωτεϊνών είναι 15,07% και η ολική απόδοση των πρωτεϊνών είναι 3,94% αντίστοιχα. Αντιθέτως, η μέγιστη περιεκτικότητα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη παρατηρείται για αναλογία στερεού–υγρού 1/20 και ισούται με 70,87%. Ο προσδιορισμός των πρωτεϊνών πραγματοποιείται με τη μέθοδο Kjeldhal.

Για την παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων μέσω εκχύλισης των πρωτεϊνών με τη βοήθεια υπερήχων και ισοηλεκτρικής τους καταβύθισης σχεδιάζονται τρεις πειραματικές σειρές. Στην 1^η πειραματική σειρά πραγματοποιείται εκχύλιση των πρωτεϊνών με απιονισμένο νερό σε ισχύ υπερήχων 320W, συχνότητα υπερήχων 37kHz, για χρόνους εκχύλισης 15,20,30min, σε θερμοκρασία 50°C και pH=8 και αναλογίες στερεού–υγρού 1/20, 1/25. Στη 2^η πειραματική σειρά πραγματοποιείται εκχύλιση των πρωτεϊνών με απιονισμένο νερό σε ισχύ υπερήχων 320W, συχνότητα υπερήχων 37kHz, για χρόνους εκχύλισης 10,15,20min, σε θερμοκρασία 40°C και pH=8 και αναλογίες στερεού–υγρού 1/15,1/20,1/25. Στην 3^η πειραματική σειρά πραγματοποιείται εκχύλιση των πρωτεϊνών με απιονισμένο νερό σε ισχύ υπερήχων 320W, συχνότητα υπερήχων

37kHz, για χρόνους εκχύλισης 10,15,min, σε θερμοκρασία 40°C και pH=9 και αναλογίες στερεού–υγρού 1/20,1/25. Η βέλτιστη τιμή pH εκχύλισης είναι pH=8 και οι μεγαλύτερες αποδόσεις των πρωτεϊνών όπως και η μέγιστη περιεκτικότητα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη παρατηρούνται σε θερμοκρασία των 50°C, αναλογία στερεού–υγρού 1/25 και χρόνο εκχύλισης 30min. Η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών είναι 47,54%, η απόδοση καταβύθισης των πρωτεϊνών είναι 22,04%, η ολική απόδοση των πρωτεϊνών είναι 12,27% και η μέγιστη περιεκτικότητα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη είναι 83,94%.

Η εκχύλιση των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης με τη βοήθεια υπερήχων πραγματοποιείται και με ευτηκτικό διαλύτη κιτρικού οξέος–γλυκερόλης σε θερμοκρασία 50°C, αναλογία στερεού–υγρού 1/25 και χρόνο εκχύλισης 30min, που παρέχει απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών 50,04%. Ωστόσο δεν παρατηρείται καταβύθιση των πρωτεϊνών.

Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων των παραπάνω πειραματικών σειρών, προκύπτει ότι η μεταβολή του χρόνου εκχύλισης από 10min σε 30min έχει μεγαλύτερη επίδραση στις επιμέρους αποδόσεις των σταδίων εκχύλισης και καταβύθισης, ενώ η περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη δεν επηρεάζεται στατιστικά σημαντικά από τις συνθήκες εκχύλισης, όπως η θερμοκρασία, ο χρόνος εκχύλισης, το pH και η αναλογία στερεού-υγρού. Από τη σύγκριση των δύο μεθόδων εκχύλισης (συμβατική εκχύλιση και εκχύλιση με τη βοήθεια υπερήχων), η εκχύλιση των πρωτεϊνών με τη βοήθεια υπερήχων αποδίδει καλύτερα αποτελέσματα σε όλες τις συνθήκες που εξετάζονται.

Όσον αφορά τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης που λαμβάνονται μέσω εκχύλισης με τη βοήθεια υπερήχων και ισοηλεκτρικής καταβύθισης, οι μέσες τιμές της ικανότητας συγκράτησης νερού και της ικανότητας δέσμευσης ελαίου είναι 371,86mL_{νερού}/100g_{δείγματος} και 247,19mL_{ελαίου}/100g_{δείγματος} αντίστοιχα. Η ικανότητα συγκράτησης νερού και η ικανότητα δέσμευσης ελαίου δεν επηρεάζονται από την αύξηση της θερμοκρασίας εκχύλισης από 40°C σε 50°C, όσο και τη μεταβολή του χρόνου εκχύλισης από 10min σε 30min. Ωστόσο επηρεάζονται σημαντικά από τη μεταβολή της αναλογίας στερεού–υγρού από 1/15 σε 1/25.

Επομένως, για τη βελτίωση της απόδοσης εκχύλισης των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης αξίζει να διερευνηθούν και άλλες τεχνικές εκχύλισης που έχουν αναπτυχθεί πρόσφατα, όπως η εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά ή με την παρουσία ενζύμων. Παράλληλα,

αξίζει να διερευνηθεί περαιτέρω η διαδικασία εκχύλισης των πρωτεϊνών με τη χρήση ευθηκτικών διαλυτών χρησιμοποιώντας άλλες τεχνικές καταβύθισης, όπως είναι η καταβύθιση με τη βοήθεια αλάτων.

Λέξεις-Κλειδιά: πρωτεΐνες, ελαιοκράμβη, ισοηλεκτρική καταβύθιση, πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα, υπέρηχοι, απόδοση εκχύλισης

ABSTRACT

The scope of the present diploma thesis is to obtain rapeseed protein isolates, using ultrasound-assisted extraction and isoelectric precipitation as well as comparing the results with the conventional extraction method. Furthermore, the functional properties of the water holding capacity and the oil absorption capacity of the protein isolates obtained using new extraction technology are evaluated.

Industrial rapeseed meal is used as raw material and it is subjected to a milling and sieving process to obtain a specific grain size. Subsequently, it is further defatted by extraction using petroleum ether to remove the residual amount of oil. The composition of the raw material in moisture and residual oil is 8,87% and 3,37% respectively, while its protein content is 39,50%.

Obtaining protein isolates by aqueous extraction of the proteins and subsequently by isoelectric precipitation is performed using deionized water, for an extraction time of 30 min, at a temperature of 50°C and pH=8 and solid-liquid ratio of 1/15, 1/20, 1/25. The highest protein yields are observed for a solid to liquid ratio of 1/25, where the protein extraction yield is 24,64%, the protein precipitation yield is 15,07% and the total protein yield is 3,94% respectively. In contrast, the maximum protein content of the protein isolates are observed for a solid to liquid ratio of 1/20 and is equal to 70,87%. Determination of protein content was carried out in solid samples by Kjeldhal method.

In order to obtain protein isolates by ultrasound-assisted extraction of proteins and subsequently by isoelectric precipitation, three set of experiments are planned to study the above. In the first set, protein extraction is performed using deionized water at 320W ultrasound power, ultrasonic frequency 37kHz, for an extraction time of 15,20,30min, at a temperature of 50°C and pH=8 and a solid-liquid ratio of 1/20, 1/25. In the second set, protein extraction is performed using deionized water at 320W ultrasound power, ultrasonic frequency 37kHz, for an extraction time of 10,15,20min, at a temperature of 40°C and pH=8 and a solid-liquid ratio of 1/20, 1/25. In the third set, protein extraction is performed using deionized water at 320W ultrasound power,

ultrasonic frequency 37kHz, for an extraction time of 10,15min, at a temperature of 40°C and pH=8 and a solid-liquid ratio of 1/20, 1/25. The optimum value of pH extraction is pH=8 and the highest protein yields as well as the maximum protein content of the protein isolates are observed at a temperature of 50°C, a solid-liquid ratio of 1/25 and for an extraction time of 30min. The protein extraction yield is 47,54%, the protein precipitation yield is 22,04%, the total protein yield 12,27% and the maximum protein content of the protein isolates is 83,94%.

Ultrasound-assisted extraction of rapeseed proteins is carried out with a eutectic solvent of citric acid-glycerol at a temperature of 50°C, a solid-liquid ratio 1/25 and for an extraction time of 30min, providing an protein extraction yield of 50,04%. However, no protein precipitation is observed.

From the statistical analysis of the results of the above set of experiments, it is found that that the change of the extraction time from 10min to 30min has a greater effect on the yields of the extraction and precipitation stages, while the protein content of the protein isolates is not statistically significantly affected by the extraction conditions, such as temperature, extraction time, pH and solid-liquid ratio. By comparing the two methods (conventional and ultrasound-assisted extraction), ultrasound-assisted extraction shows better results in all the conditions that are examined.

As for the functional properties of rapeseed protein isolates obtained by ultrasound-assisted extraction of proteins and subsequently by isoelectric precipitation, the average values of the water holding capacity and the oil absorption capacity are 371,86 mL_{water}/100g_{sample} and 247,19 mL_{oil}/100g_{sample} respectively. The water holding capacity and the oil absorption capacity are not affected by the increase of the extraction temperature from 40°C to 50°C, as well as the change of the extraction time from 10min to 30min. However, they are significantly affected by the change in the solid-liquid ratio from 1/15 to 1/25.

Therefore, in order to improve the extraction yield of rapeseed proteins, it is worth investigating other extraction techniques that have been recently developed, such as supercritical fluid extraction or enzyme-assisted extraction. Furthermore, it is also worth carrying out additional research on the protein extraction process using eutectic solvents and other precipitation techniques, such as salt precipitation.

Keywords: proteins, rapeseed, isoelectric precipitation, protein isolates, ultrasound, extraction yield.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	2
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	3
ABSTRACT	5
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ.....	7
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	11
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ.....	12
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	13
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	15
A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	17
1. ΧΗΜΕΙΑ-ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ.....	17
1.1. Εισαγωγικά για τις πρωτεΐνες	17
1.2. Αμινοξέα	18
1.2.1. Ηλεκτρικές ιδιότητες, ιδιότητες οξέος-βάσης των αμινοξέων	20
1.2.2. Υδροφοβικότητα αμινοξέων.....	21
1.2.3. Οπτικές ιδιότητες αμινοξέων	21
1.3. Πεπτιδικός δεσμός.....	22
1.4. Δομή πρωτεϊνών.....	23
1.4.1. Πρωτοταγής δομή	23
1.4.2. Δευτεροταγής δομή.....	23
1.4.3. Τριτοταγής δομή	25
1.4.4. Τεταρτοταγής δομή.....	26
1.5. Μετουσίωση πρωτεϊνών.....	27
1.6. Λειτουργικές ιδιότητες.....	28
1.6.1. Ενυδάτωση πρωτεϊνών.....	28
1.6.2. Διαλυτότητα.....	30
1.6.3. Γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες	31
1.6.4. Δυνατότητα διαμόρφωσης και σταθεροποίησης αφρού	33
1.6.5. Ικανότητα ζελοποίησης – σχηματισμός πηκτής	34
1.6.6. Ικανότητα απορρόφησης – δέσμευσης ελαίων και λιπαρών	35
2. ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ.....	36
2.1. Θρεπτικότητα πρωτεϊνών	36
2.2. Συστήματα πρωτεϊνών τροφίμων	38
2.2.1. Τρόφιμα ζωικής προέλευσης	38

2.2.1.1.	Κρέας.....	38
2.2.1.2.	Γάλα.....	39
2.2.1.3.	Αυγό.....	39
2.2.1.4.	Ψάρι.....	40
2.2.2.	Τρόφιμα φυτικής προέλευσης.....	41
2.2.2.1.	Δημητριακά	41
2.2.2.2.	Λαχανικά και φρούτα	42
2.2.2.3.	Ελαιούχοι σπόροι.....	42

3. ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ-ΧΡΗΣΕΙΣ 43

3.1.	Πρωτεϊνικά προϊόντα και χρήσεις στα τρόφιμα.....	43
3.1.1.	Πρωτεϊνικά άλευρα.....	43
3.1.2.	Πρωτεϊνικά συμπυκνώματα και υπερσυμπυκνώματα	44
3.2.	Παραλαβή πρωτεϊνών από ελαιούχους σπόρους/υπολείμματα	44
3.3.	Εισαγωγικά για την ανάκτηση φυσικών συστατικών των τροφίμων.....	46
3.3.1.	Συμβατικές τεχνολογίες-μέθοδοι εκχύλισης.....	47
3.3.2.	Εκχύλιση με υπέρηχους (Ultrasound Assisted Extraction - UAE).....	48
3.3.3.	Εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων (Microwave Assisted Extraction - MAE) 49	
3.3.4.	Εκχύλιση με τη βοήθεια ενζύμων (Enzyme Assisted Extraction - EAE) 50	
3.3.5.	Εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες.....	52
3.3.6.	Εκχύλιση με τη βοήθεια παλμικών ηλεκτρικών πεδίων (Pulsed Field Extraction - PEF)	52

4. ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΕΛΑΙΟΚΡΑΜΒΗΣ54

4.1.	Ελαιοκράμβη.....	54
4.1.1.	Σπόροι ελαιοκράμβης	56
4.1.1.1.	Επεξεργασία σπόρων ελαιοκράμβης.....	57
4.1.2.	Έλαιο ελαιοκράμβης.....	59
4.1.3.	Πρωτεΐνες ελαιοκράμβης.....	60
4.1.3.1.	Τύποι πρωτεϊνών ελαιοκράμβης.....	62
4.1.4.	Πρωτεϊνικά προϊόντα ελαιοκράμβης	64
4.1.4.1.	Πρωτεϊνικά άλευρα ελαιοκράμβης.....	65
4.1.4.2.	Πρωτεϊνικά συμπυκνώματα ελαιοκράμβης.....	66
4.1.4.3.	Πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα ελαιοκράμβης	68
4.1.5.	Νέες μέθοδοι παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης.....	73

4.1.5.1.	Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης με υπέρηχους	74
4.1.5.2.	Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης με τη βοήθεια μικροκυμάτων	75
4.1.5.3.	Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης με τη βοήθεια παλμικών ηλεκτρικών πεδίων	76
4.1.5.4.	Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης με τη βοήθεια ενζύμων	77
4.1.5.5.	Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης με βαθέως ευτηκτικούς διαλύτες	78
B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ		80
5. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ		80
5.1.	Σκοπός	80
5.2.	Α΄ ύλες–Αντιδραστήρια	81
5.3.	Εξοπλισμός	81
5.4.	Πειραματική Διαδικασία	83
5.4.1.	Προετοιμασία στερεού πρωτεϊνούχου υλικού	83
5.4.1.1.	Άλεση και κοσκίνιση πρώτης ύλης	83
5.4.1.2.	Θερμική κατεργασία–Απελαίωση πρώτης ύλης	83
5.4.2.	Διαδικασία Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων	84
5.4.2.1.	Υδατική εκχύλιση πρωτεϊνών	84
5.4.2.2.	Εκχύλιση πρωτεϊνών με τη βοήθεια υπερήχων	86
5.4.2.3.	Ισοηλεκτρική καταβύθιση	86
5.4.2.4.	Παρασκευή ευτηκτικού διαλύτη	87
5.4.2.5.	Προσδιορισμός ισοηλεκτρικού σημείου	87
5.5.	Ισοζύγια πρωτεϊνών στο σύνολο της πειραματικής διαδικασίας	88
5.6.	Προσδιορισμοί–Μετρήσεις	88
5.6.1.	Μέθοδος Kjeldahl–Προσδιορισμός περιεκτικότητας αζώτου	88
5.6.2.	Μέτρηση λειτουργικών ιδιοτήτων	91
5.6.3.	Προσδιορισμός υγρασίας της πρώτης ύλης	91
5.6.4.	Προσδιορισμός περιεκτικότητας πρώτης ύλης σε έλαιο	92
5.7.	Σχεδιασμός πειραμάτων	92
5.7.1.	Σχεδιασμός πειραμάτων για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με συμβατική υδατική εκχύλιση των πρωτεϊνών	92
5.7.2.	Σχεδιασμός πειραμάτων για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων μέσω εκχύλισης των πρωτεϊνών με τη βοήθεια υπερήχων	93

5.7.3. Σχεδιασμός πειραμάτων για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με ευτηκτικό διαλύτη 93

6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ–ΣΥΖΗΤΗΣΗ 94

6.1. Προσδιορισμός ισοηλεκτρικού σημείου 94

6.2. Σύσταση πρώτης ύλης 95

6.3. Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων..... 95

6.3.1. Αποτελέσματα παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης πρωτεϊνών 95

6.3.2. Αποτελέσματα παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων μέσω εκχύλισης πρωτεϊνών υποβοηθούμενη με υπέρηχους 96

6.3.2.1. Εκχύλιση με υπέρηχους $T=40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$ και $t=10\text{min}$ 96

6.3.2.2. Εκχύλιση με υπέρηχους $T=40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$ και $t=15\text{min}$ 97

6.3.2.3. Εκχύλιση με υπέρηχους $T=40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$ και $t=20\text{min}$ 98

6.3.2.4. Εκχύλιση με υπέρηχους $T=40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=9$ και $t=10\text{min}$ 99

6.3.2.5. Εκχύλιση με υπέρηχους $T=40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=9$ και $t=15\text{min}$ 100

6.3.2.6. Εκχύλιση με υπέρηχους $T=50^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$ και $t=15\text{min}$ 101

6.3.2.7. Εκχύλιση με υπέρηχους $T=50^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$ και $t=20\text{min}$ 102

6.3.2.8. Εκχύλιση με υπέρηχους $T=50^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$ και $t=30\text{min}$ 103

6.3.2.9. Στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της εκχύλισης πρωτεϊνών με τη βοήθεια υπερήχων 104

6.3.3. Αποτελέσματα παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με ευτηκτικό διαλύτη 105

6.4. Σύγκριση συμβατικής υδατικής εκχύλισης πρωτεϊνών και εκχύλισης με τη βοήθεια υπερήχων για $t=30\text{min}$ 105

6.5. Αποτελέσματα μέτρησης λειτουργικών ιδιοτήτων παραλαμβανόμενων υπερσυμπυκνωμάτων μέσω εκχύλισης με τη βοήθεια υπερήχων 110

6.5.1. Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης ($T=40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$, $w/v=1/15$) για $t=10\text{min}$ και για $t=15\text{min}$ με τη βοήθεια υπερήχων..... 110

6.5.2. Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης ($T=40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$, $w/v=1/20$) για $t=10\text{min}$, $t=15\text{min}$ και για $t=20\text{min}$ με τη βοήθεια υπερήχων 111

6.5.3. Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης ($T=40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$, $w/v=1/25$) για $t=10\text{min}$, $t=15\text{min}$ και για $t=20\text{min}$ με τη βοήθεια υπερήχων 112

6.5.4. Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης ($T=50^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$, $w/v=1/20$) για $t=15\text{min}$, $t=20\text{min}$ και για $t=30\text{min}$ με τη βοήθεια υπερήχων 112

6.5.5. Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης (T=50°C, pH=8, w/v=1/25) για t=15min, t=20min και για t=30min με τη βοήθεια υπερήχων.....	113
6.6. Μελέτη λειτουργικών ιδιοτήτων πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων μέσω εκχύλισης τη βοήθεια υπερήχων.....	114
Γ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ	117
7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ.....	117
7.1. Συμπεράσματα	117
7.2. Προτάσεις.....	119
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	120
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	127

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Γενικός τύπος αμινοξέων (Phillips & Williams, 2011).....	18
Εικόνα 2: Παρουσίαση των βασικών αμινοξέων και των ιδιοτήτων τους (Yada, 2018)	19
Εικόνα 3: : Ιοντιζόμενες μορφές της γλυκίνης (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007)	20
Εικόνα 4: Απεικόνιση πεπτιδικού δεσμού (Phillips & Williams, 2011)	22
Εικόνα 5: Απεικόνιση δομής α-έλικας (Ustunol, 2015)	24
Εικόνα 6: Απεικόνιση δομής β - πτυχωμένων φύλλων (Zeece, 2020)	25
Εικόνα 7: Απεικόνιση τριτοταγούς δομής της μυοσφαιρίνης (Zeece, 2020)	26
Εικόνα 8: Απεικόνιση τεταρτοταγούς δομής της αιμοσφαιρίνης (Zeece, 2020).....	26
Εικόνα 9: Φυτό Ελαιοκράμβης (Παπαστυλιανού, Μπιλάλης, Τραυλός & Παπαθεοχάρη, 2015).....	54
Εικόνα 10: Τρισδιάστατο μοντέλο ελαιοκράμβης σε αποκοπή (Yonsel, 2018).....	57
Εικόνα 11: Συσκευή εκχύλισης Soxhlet, θερμαινόμενου μανδύα (3 θέσεων)	84
Εικόνα 12: Λουτρό συμβατικής εκχύλισης HAAKE G.....	85
Εικόνα 13: Φυγόκεντρος HERAEUS MEGAFUGE 16R	85
Εικόνα 14: Λουτρό υπερήχων Elmasonic S 30 H	86
Εικόνα 15: Επιμέρους στάδια στη συσκευή καύσης Kjeldahl.....	89
Εικόνα 16: Συσκευή απόσταξης Kjeldahl.....	90

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1: Υδατική-Αλκαλική Έκπλυση Ελαιοκράμβης (Yada, 2018) (Jia et al., 2021)	67
Διάγραμμα 2: Διάγραμμα ροής παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης (Singh et al., 2022)	70
Διάγραμμα 3: Καμπύλη προσδιορισμού ισηλεκτρικού σημείου	94
Διάγραμμα 4: Μεταβολή αποδόσεων πρωτεϊνών για τα πειράματα με τη χρήση υπερήχων σε συνθήκες T=40°C, pH=8, t=10min	96
Διάγραμμα 5: Μεταβολή αποδόσεων για τα πειράματα μέσω εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων σε συνθήκες T=40°C, pH=8, t=15min	97
Διάγραμμα 6: Μεταβολή αποδόσεων πρωτεϊνών για τα πειράματα μέσω εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων σε συνθήκες T=40°C, pH=8 και t=20min	98
Διάγραμμα 7: Μεταβολή αποδόσεων πρωτεϊνών για τα πειράματα μέσω εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων σε συνθήκες T=40°C, pH=9, t=10min	99
Διάγραμμα 8: Μεταβολή αποδόσεων πρωτεϊνών για τα πειράματα μέσω εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων σε συνθήκες T=40°C, pH=9, t=15min	100
Διάγραμμα 9: Μεταβολή αποδόσεων πρωτεϊνών για τα πειράματα μέσω εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων σε συνθήκες T=50°C, pH=8 και t=15min	101
Διάγραμμα 10: Μεταβολή αποδόσεων πρωτεϊνών για τα πειράματα μέσω εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων σε συνθήκες T=50°C, pH=8 και t=20min	102
Διάγραμμα 11: Μεταβολή αποδόσεων πρωτεϊνών για τα πειράματα μέσω εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων σε συνθήκες T=50°C, pH=8 και t=30min	103
Διάγραμμα 12: Σύγκριση συμβατικής εκχύλισης πρωτεϊνών και εκχύλισης με υπέρηχους ως προς την απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών	106
Διάγραμμα 13: Σύγκριση συμβατικής εκχύλισης πρωτεϊνών και εκχύλισης με υπέρηχους ως προς την απόδοση καταβύθισης πρωτεϊνών	107
Διάγραμμα 14: Σύγκριση συμβατικής εκχύλισης πρωτεϊνών και εκχύλισης με υπέρηχους ως προς την απόδοση ολική απόδοση	108
Διάγραμμα 15: Σύγκριση συμβατικής εκχύλισης πρωτεϊνών και εκχύλισης με υπέρηχους ως προς την περιεκτικότητα υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη	109
Διάγραμμα 16: Σύγκριση συμβατικής εκχύλισης και εκχύλισης με υπέρηχους για όλες τις επιμέρους αποδόσεις πρωτεϊνών	110

Διάγραμμα 17: Σύγκριση ικανότητας συγκράτησης νερού συναρτήσει της θερμοκρασίας, του χρόνου και της αναλογίας w/v κατά την εκχύλιση πρωτεϊνών ..	114
Διάγραμμα 18: Σύγκριση ικανότητας δέσμευσης ελαίου συναρτήσει της θερμοκρασίας, του χρόνου και της αναλογίας w/v κατά την εκχύλιση πρωτεϊνών	115

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Βιομηχανικά φυτά. Εκτάσεις και παραγωγή κατά Περιφέρεια, Περιφερειακή Ενότητα, το 2019 (ΕΛΣΤΑΤ).....	16
Πίνακας 2: Παγκόσμια προμήθεια και διανομή ελαιοκράμβης (USDA,2022).....	56
Πίνακας 3: : Συνήθης περιεκτικότητα απαραίτητων αμινοξέων των πρωτεϊνών στους σπόρους ελαιοκράμβης (Tan et al., 2021)	61
Πίνακας 4: Συνήθης περιεκτικότητα μη απαραίτητων αμινοξέων των πρωτεϊνών στους σπόρους ελαιοκράμβης (Tan et al., 2021)	61
Πίνακας 5: Χημική σύσταση παραπροϊόντος της επεξεργασίας των σπόρων ελαιοκράμβης.....	64
Πίνακας 6: : Σχεδιασμός πειραμάτων για συμβατική υδατική εκχύλιση πρωτεϊνών ..	92
Πίνακας 7: Σχεδιασμός πειραμάτων για εκχύλιση πρωτεϊνών υποβοηθούμενη με υπέρηχους	93
Πίνακας 8: Σχεδιασμός πειραμάτων για εκχύλιση πρωτεϊνών με ευτηκτικό διαλύτη	93
Πίνακας 9: Δεδομένα βάρους κατά τον προσδιορισμό του ισοηλεκτρικού σημείου ..	94
Πίνακας 10: Αποδόσεις πειραμάτων με τη συμβατικό μέθοδο εκχύλισης πρωτεϊνών	95
Πίνακας 11: Αποδόσεις πειραμάτων εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων για T=40°C, pH=8, t=10min.....	96
Πίνακας 12: Αποδόσεις πειραμάτων εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων για T=40°C, pH=8, t=15min.....	97
Πίνακας 13: Αποδόσεις πειραμάτων εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων για T=40°C, pH=8 και t=20min.....	98
Πίνακας 14: Αποδόσεις πειραμάτων εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων για T=40°C, pH=9, t=10min.....	99
Πίνακας 15: Αποδόσεις πειραμάτων εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων για T=40°C, pH=9, t=15min.....	100
Πίνακας 16: Αποδόσεις πειραμάτων εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων για T=50°C, pH=8 και t=15min.....	101

Πίνακας 17: Αποδόσεις πειραμάτων εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων για $T=50^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$ και $t=20\text{min}$	102
Πίνακας 18: Αποδόσεις πειραμάτων εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων για $T=50^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$ και $t=30\text{min}$	103
Πίνακας 19: Επίδραση του διαλυτικού μέσου στην απόδοση εκχύλισης με υπέρηχους για $T=50^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$ και $t=30\text{min}$	105
Πίνακας 20: Σύγκριση συμβατικής εκχύλισης πρωτεϊνών και εκχύλισης με υπέρηχους σε όλες τις παραμέτρους για $t=30\text{min}$	105
Πίνακας 21: Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης με υπέρηχους ($T=40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$, $w/v=1/15$) για $t=10\text{min}$ και για $t=15\text{min}$	110
Πίνακας 22: Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης με υπέρηχους ($T=40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$, $w/v=1/20$) για $t=10\text{min}$, $t=15\text{min}$ και για $t=20\text{min}$	111
Πίνακας 23: Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης με υπέρηχους ($T=40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$, $w/v=1/25$) για $t=10\text{min}$, $t=15\text{min}$ και για $t=20\text{min}$	112
Πίνακας 24: Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης με υπέρηχους ($T=50^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$, $w/v=1/20$) για $t=15\text{min}$, $t=20\text{min}$ και για $t=30\text{min}$	112
Πίνακας 25: Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης με υπέρηχους ($T=50^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$, $w/v=1/25$) για $t=15\text{min}$, $t=20\text{min}$ και για $t=30\text{min}$	113
Πίνακας 26: Σύγκριση ικανότητας συγκράτησης νερού στα πειράματα μέσω εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων	114
Πίνακας 27: Σύγκριση ικανότητας δέσμευσης ελαίου στα πειράματα μέσω εκχύλιση με τη χρήση υπερήχων.....	115

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι πρωτεΐνες, ως μακροθρεπτικά συστατικά, είναι ζωτικής σημασίας για την κάλυψη των ανθρώπινων αναγκών σε άζωτο, καθώς και σε απαραίτητα και μη απαραίτητα αμινοξέα. Στο σύνολο τους, οι πρωτεΐνες παίζουν καθοριστικό ρόλο σε βιολογικά συστήματα, καθώς αποτελούν δομικά συστατικά των ιστών και των κυττάρων, συμμετέχουν σε διεργασίες στο ανθρώπινο σώμα με τη μορφή ενζύμων, ορμονών, μορίων μεταφοράς, υποδοχέων και δεξαμενών στο αίμα και τους ιστούς, αντισωμάτων, παραγόντων πήξης και επίσης ως δομικό υλικό στους μύες. Συνεπώς, η επαρκής πρόσληψη πρωτεϊνών είναι απαραίτητη για την κυτταρική ακεραιότητα και λειτουργία, καθώς και για τη γενική υγεία του ανθρώπου.

Οι ζωικής προέλευσης πρωτεΐνες είναι πιο κυρίαρχες και πιο αποδεκτές στην ανθρώπινη διατροφή, παρόλο αυτά τείνουν να εξαφανιστούν λόγω της αυξημένης ζήτησής τους και της κατάστασης του υπερπληθυσμού. Οι ανησυχίες για την ασφάλεια των τροφίμων ζωικής προέλευσης, οι περιβαλλοντικές ανησυχίες, η αύξηση των τροφικών δυσανεγιών και των αλλεργιών, και παράλληλα η αυξημένη προσβασιμότητα των χορτοφαγικών και vegan τροφίμων και η υιοθέτηση προληπτικών προσεγγίσεων για την υγεία και την ευεξία από τους καταναλωτές οδηγούν στην αναζήτηση εναλλακτικών πηγές πρωτεϊνών. Στην κατηγορία αυτή εντάσσονται και οι φυτικές πρωτεΐνες.

Οι ελαιούχοι σπόροι, οι οποίοι εμφανίζονται σε μεγάλη αφθονία στη φύση αποτελούν μία ιδιαίτερη κατηγορία φυτικών πρωτεϊνών. Η παραλαβή των πρωτεϊνών τους γενικά πραγματοποιείται μέσω εκχύλισης και ισοηλεκτρικής καταβύθισης, ωστόσο διαρκώς αναζητούνται νέες μέθοδοι που να ευνοούν τα οικονομικά και ενεργειακά κριτήρια και να προωθούν τη προστασία του περιβάλλοντος. Μέχρι πρότινος, η κάλυψη των ανθρώπινων αναγκών από φυτικές πρωτεΐνες περιοριζόταν κυρίως από τους ελαιούχους σπόρους σόγιας ή προϊόντων σόγιας. Ελάχιστη προσοχή είχε δοθεί στην ελαιοκράμβη ως πρόσθετη πηγή φυτικών πρωτεϊνών, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς της σε αντιθρεπτικούς παράγοντες, όπως το ερουκικό οξύ και οι γλυκοσινολάτες, οι οποίες περιορίζουν τη βιοδιαθεσιμότητα και τη διατροφική αξία της πρωτεΐνης.

Η χρήση νέων βιομηχανικών τεχνολογιών απομακρύνει αποτελεσματικά τους αντιθρεπτικούς παράγοντες, επιτυγχάνοντας υψηλότερη πεπτικότητα και καλύτερη βιοδιαθεσιμότητα της πρωτεΐνης της ελαιοκράμβης στον άνθρωπο με

χαρακτηριστικότερο παράδειγμα την υβριδική ποικιλία ελαιοκράμβης (canola), η οποία έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε ερουκικό οξύ και γλυκοσινολάτες που την καθιστούν κατάλληλη για εδωδιμους σκοπούς.

Η ελαιοκράμβη έχει υψηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο που προσεγγίζει το 30% κατά μέσο όρο σε ξηρή βάση. Τα τελευταία χρόνια, η ελαιοκράμβη αντιπροσωπεύει μια σημαντική καλλιέργεια ελαιούχων σπόρων σε πολλές χώρες. Σύμφωνα με το υπουργείο Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών USDA, κατά το έτος 2021 η παγκόσμια ετήσια παραγωγή ελαιοκράμβης ανερχόταν στα 71,18 million metric tones. Ένα σημαντικό πλεονέκτημα της ελαιοκράμβης αποτελεί το γεγονός ότι η καλλιέργειά της μπορεί να επιτευχθεί με χαμηλό κόστος, γεγονός που θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως εναλλακτική καλλιέργεια ή ακόμη και να συμπληρώσει τα υπάρχοντα συστήματα καλλιέργειας.

Στην Ελλάδα, η παραγωγή ελαιοκράμβης είναι μία από τις σημαντικότερες, όπως απεικονίζεται και στον παρακάτω πίνακα της ΕΛΣΤΑΤ.

Πίνακας 1: Βιομηχανικά φυτά. Εκτάσεις και παραγωγή κατά Περιφέρεια, Περιφερειακή Ενότητα, το 2019 (ΕΛΣΤΑΤ)

Περιφέρειες και Περιφερειακές Ενότητες	Σύνολο Εκτάσεων Total Area	Βαμβάκι Cotton				Σουσάμι Sesame		Ηλιανθος Sunflower		Σόργο Sorghum			Σόγια, σπόρος Soya seed		Ζαχαρότευτλα Sugarbeets		Ελαιοκράμβη Rapeseed		Αρωματικά φυτά ⁽¹⁾ Aromatic plants	Λουτά ⁽¹⁾ Other
		ποτιστικό irrigated		ξηρικά non-irrigated		1	2	1	2	Σύνολο Total	χόρτο broom	σπόρος seed	1	2	1	2	1	2	1	1
		1	2 ⁽²⁾	1	2 ⁽²⁾	1	2	1	2	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	1
Σύνολο Ελλάδας	4.192.920	2.585.716	846.908	331.363	53.838	6.852	884	806.923	216.134	899	69	141	31.650	9.057	17.162	102.018	146.895	29.573	79.428	14.577
Περιφέρεια Ανατολικής Μακεδονίας και Θράκης	1.391.158	526.166	142.710	266.379	41.114	3.454	460	434.054	125.932	119	15	0	29.338	8.451	2.772	19.537	47.017	10.380	4.080	247
Περιφέρεια Κεντρικής Μακεδονίας	1.251.146	799.765	268.293	44.705	6.874	2.729	357	264.450	65.126	56	0	0	2.149	563	6.661	38.939	51.503	9.197	22.233	1.556
Περιφέρεια Δυτικής Μακεδονίας	129.527	822	222	181	23	7	1	75.730	18.027	95	0	0	6	1	1.698	7.722	16.267	3.370	22.452	5.683
Περιφέρεια Ηπείρου	2.806	962	352	6	2	0	0	4	2	12	4	0	46	19	0	0	0	0	1.724	37
Περιφέρεια Θεσσαλίας	979.295	901.240	321.527	2.393	449	163	24	7.946	1.882	367	4	0	0	0	4.753	28.981	20.947	4.501	17.704	4.157
Περιφέρεια Στερεάς Ελλάδας	378.704	321.878	102.068	9.237	2.330	114	14	24.202	5.072	110	5	140	90	21	1.274	6.830	11.159	2.125	5.881	658
Περιφέρεια Ιονίων Νήσων	154																			
Περιφέρεια Δυτικής Ελλάδας	43.087	34.717	11.672	0	0	162	10	8	2	100	40	1	0	0	0	0	0	0	1.231	149
Περιφέρεια Πελοποννήσου	4.399	0	0	0	0	0	0	412	75	1	0	0	20	2	0	0	2	0	2.126	495
Περιφέρεια Αττικής	8.992	166	61	8.462	3.046	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	5	0	0	280	78
Περιφέρεια Βορείου Αιγαίου	731	0	0	0	0	92	7	114	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	271	253
Περιφέρεια Νοτίου Αιγαίου	885	0	0	0	0	131	11	2	0	14	2	0	1	0	2	2	0	0	505	225
Περιφέρεια Κρήτης	2.036	0	0	0	0	0	0	0	0	25	0	0	0	0	1	2	0	0	941	1.039

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΧΗΜΕΙΑ–ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

1.1. Εισαγωγικά για τις πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες απαντώνται σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς και κατέχουν βασικό ρόλο σε πολλές βιολογικές διαδικασίες όπως η κυτταρική επικοινωνία και η κυτταρική συνάφεια καθώς και η ανοσολογική απόκριση. Είναι αναγνωρισμένο ότι ένας αριθμός πρωτεϊνών υποβάλλεται σε επεξεργασία σε βιομηχανική κλίμακα για την αξιοποίησή τους σε ένα εύρος τομέων, συμπεριλαμβανομένων και των τροφίμων. Συνεπώς, οι πρωτεΐνες αποτελούν σημαντικά βιομόρια που διαθέτουν υψηλή θρεπτική αξία και αποδίδουν σημαντικά λειτουργικά χαρακτηριστικά στα συστήματα τροφίμων (Phillips & Williams, 2011).

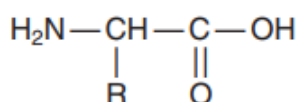
Σε στοιχειακό επίπεδο, οι πρωτεΐνες περιέχουν επί τοις εκατό βάρος κατά βάρος(%) 50–55% άνθρακα, 6–7% υδρογόνο, 20–23% οξυγόνο, 12–19% άζωτο και 0,2–3,0% θείο. Αν και υπάρχουν μικρές διακυμάνσεις, η περιεκτικότητα του αζώτου στις πρωτεΐνες είναι περίπου 16% επί της συνολικής μοριακής μάζας, συνεπώς 6,25g πρωτεΐνης περιέχει 1 g αζώτου. Η τιμή 6,25 χρησιμοποιείται ως παράγοντας για τον υπολογισμό της ποσότητας πρωτεΐνης σε ένα δείγμα με γνωστή περιεκτικότητα σε άζωτο N (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007)

Με βάση τις διάφορες βιολογικές λειτουργίες που επιτελούν, οι πρωτεΐνες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως ενζυμικοί καταλύτες, δομικές πρωτεΐνες, συστατικές πρωτεΐνες (μυοσίνη, ακτίνη και τουμπουλίνη), ορμόνες (ινσουλίνη και αυξητική ορμόνη), πρωτεΐνες μεταφοράς (λευκωματίνη ορού, τρανσφερρίνη και αιμοσφαιρίνη), αντισώματα (ανοσοσφαιρίνες), πρωτεΐνες αποθήκευσης και προστατευτικές πρωτεΐνες (τοξίνες και αλλεργιογόνα) (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

Γενικότερα όλες οι βιολογικά παραγόμενες πρωτεΐνες μπορούν να αξιοποιηθούν ως πρωτεΐνες τροφίμων. Ωστόσο για πρακτικούς σκοπούς, ως πρωτεΐνες τροφίμων μπορούν να οριστούν αυτές που είναι εύκολα εύπεπτες, μη τοξικές, διατροφικά – θρεπτικά επαρκείς, αξιοποιήσιμες σε προϊόντα διατροφής και διαθέσιμες σε αφθονία (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

1.2. Αμινοξέα

Ειδικότερα, οι πρωτεΐνες είναι μακρομόρια, πολυμερή δομικών μονάδων μικρού μοριακού βάρους που ονομάζονται αμινοξέα. Κάθε αμινοξύ περιέχει μία πρωτοταγή αμινομάδα ($-\text{NH}_2$) και μία καρβοξυλομάδα ($-\text{COOH}$). Ο α -άνθρακας βρίσκεται δίπλα στην καρβοξυλική ομάδα, ενώ κοινό χαρακτηριστικό των αμινοξέων είναι ότι η αμινομάδα βρίσκεται σε α -θέση ως προς την καρβοξυλομάδα, γεγονός που αποδίδει τις ιδιαίτερες φυσικοχημικές ιδιότητες στο σύνολο των αμινοξέων. Τα αμινοξέα έχουν γενικό τύπο της μορφής: (Phillips & Williams, 2011).



Εικόνα 1: Γενικός τύπος αμινοξέων (Phillips & Williams, 2011)

Η πλευρική ομάδα R διαφέρει για τα διάφορα αμινοξέα και μπορεί να προσδώσει πολικά, μη πολικά, ανιοντικά ή κατιοντικά χαρακτηριστικά. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες, όπως το καθαρό φορτίο, η διαλυτότητα και η υδροφοβικότητα των αμινοξέων εξαρτώνται από τη χημική φύση της πλευρικής ομάδας R (Phillips & Williams, 2011) (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007) (Yada, 2018).

Με εξαίρεση το αμινοξύ της γλυκίνης που προκύπτει από την υποκατάσταση της πλευρικής ομάδας R με υδρογόνο, όλα τα α -αμινοξέα έχουν δύο εναντιομερείς μορφές L και D, γεγονός που οφείλεται στον ασύμμετρο χαρακτήρα του α -άνθρακα. Συγκεκριμένα, υπάρχουν 20 L- α -αμινοξέα που είναι τα δομικά στοιχεία όλων των πρωτεϊνών που σχετίζονται συνολικά με τρόφιμα. Δεκαεννέα από αυτά τα είκοσι αμινοξέα έχουν τη γενική δομή $\text{H}_2\text{N} - \text{C}_\alpha\text{H}(\text{R}) - \text{CO}_2\text{H}$ που προαναφέρθηκε, ενώ το εικοστό αμινοξύ είναι στην πραγματικότητα ένα ιμινοξύ, στο οποίο η πλευρική ομάδα είναι συνδεδεμένη με το άτομο του αζώτου. Τα είκοσι βασικά αμινοξέα (και οι συντομογραφίες με τις οποίες εμφανίζονται) που απαντώνται στις πρωτεΐνες καθώς και ορισμένες ιδιότητες που επιδεικνύουν παρουσιάζονται στην εικόνα που ακολουθεί: (Phillips & Williams, 2011) (Yada, 2018).

Type of side chain (R)	Amino acid	Abbreviation	Symbol	Mass (Da)	pK _a	pI ^b (R group)	Residue nonpolar surface area (Å ²) ^{c,d}	Estimated hydrophobic effect, side chain burial (kcal/mol) ^e	Percentage with solvent exposed area ^{f,j}		Frequency in proteins ^g (%)
									> 30 Å ²	< 10 Å ²	
Aromatic	Phenylalanine	Phe	F	147.18	5.48		39 + 155	2.3	42	42	4.2
	Tryptophan	Trp	W	186.12	5.89		37 + 199	2.9	49	44	1.1
	Tyrosine	Tyr	Y	163.18	5.66	9.7	38 + 116	1.6	67	20	3.2
Nonpolar, aliphatic	Alanine	Ala	A	71.09	6.00		86	1.0	48	35	8.1
	Glycine	Gly	G	57.05	5.97		47	0.0	51	36	7.2
	Isoleucine	Ile	I	113.16	6.02		155	2.7	39	47	6.8
	Leucine	Leu	L	113.16	5.98		164	2.9	41	49	10.3
	Methionine	Met	M	131.19	5.74		137	2.3	44	20	2.5
	Proline	Pro	P	97.12	6.30		124	1.9	78	13	5.1
	Valine	Val	V	99.14	5.96		135	2.2	40	50	4.3
Polar, uncharged	Asparagine	Asn	N	115.09	5.41		42	-0.1	82	10	4.0
	Cysteine	Cys	C	103.15	5.07	9.0-9.5	48	0.0	32	54	1.2
	Glutamine	Gln	Q	128.14	5.65		66	0.5	81	10	3.8
	Serine	Ser	S	87.08	5.68		56	0.2	70	20	6.2
	Threonine	Thr	T	101.11	5.60		90	1.1	71	16	5.1
Positively charged	Arginine	Arg	R	156.19	10.76	12.0	89	1.1	84	5	5.1
	Histidine	His	H	137.14	7.59	6.0-7.0	43 + 86	1.3	66	19	2.2
	Lysine	Lys	K	128.17	9.74	10.4-11.1	122	1.9	93	2	5.9
Negatively charged	Aspartic acid	Asp	D	114.11	2.77	3.9-4.0	45	-0.1	81	9	5.2
	Glutamic acid	Glu	E	129.12	3.22	4.3-4.5	69	0.5	93	4	6.5

Εικόνα 2: Παρουσίαση των βασικών αμινοξέων και των ιδιοτήτων τους (Yada, 2018)

Η ταξινόμηση των αμινοξέων, γίνεται με βάση τη δομή της πλευρικής αλυσίδας τους και συνεπώς έχει ως εξής:

- όξινα αμινοξέα (Asp, Glu), που αποτελούν υδρόφιλα μόρια που περιέχουν αρνητικά φορτισμένες ομάδες
- βασικά αμινοξέα (Arg, His, Lys), που αποτελούν υδρόφιλα μόρια που περιέχουν θετικά φορτισμένες ομάδες
- αλειφατικά αμινοξέα (Ala, Ile, Leu, Val), που αποτελούν υδρόφοβα μόρια
- αρωματικά αμινοξέα (Phe, Tyr, Trp), που είναι δυνατόν να είναι είτε υδρόφιλα ή υδρόφοβα.
- πολικά αμινοξέα (Ser, Thr), που αποτελούν υδρόφιλα μόρια που περιέχουν ομάδες που σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου με το νερό
- αμινοξέα που περιέχουν θειόλη (Cys, Met), παρέχοντας γέφυρες θείου που σταθεροποιούν την τριτοταγή δομή
- αμιδικά αμινοξέα (Asn, Gln) που προκύπτουν από την υποκατάσταση του καρβοξυλίου με αμιδική ομάδα (-CONH₂)

Με βάση τους διατροφικούς/φυσιολογικούς ρόλους τους, τα αμινοξέα μπορούν να διαφοροποιηθούν ως:

- απαραίτητα αμινοξέα, τα οποία δεν μπορούν να συντεθούν από τον ανθρώπινο οργανισμό και πρέπει να παρέχονται στη διατροφή, όπως: βαλίνη, λευκίνη, ισολευκίνη, φαινυλαλανίνη, τρυπτοφάνη, μεθειονίνη, ιστιδίνη (απαιραίτητα για τα νήπια), λυσίνη και αργινίνη (‘‘ήμι-απαραίτητα’’)

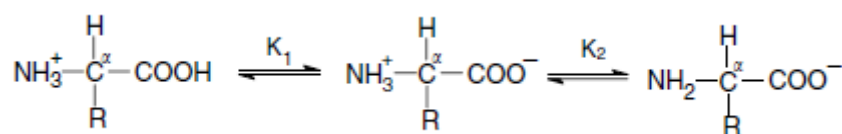
- μη απαραίτητα (δευτερεύοντα) αμινοξέα όπως: γλυκίνη, αλανίνη, προλίνη, σερίνη, κυστεΐνη, τυροσίνη, ασπαραγίνη, γλουταμίνη, ασπαραγινικό οξύ και γλουταμινικό οξύ (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007) (Yada, 2018) (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011).

Αξίζει να σημειωθεί ότι η συσχέτιση μεταξύ δομής και λειτουργιών των πρωτεϊνών μπορεί να αποδοθεί και στις ιδιότητες των αμινοξέων που τις συνθέτουν.

1.2.1. Ηλεκτρικές ιδιότητες, ιδιότητες οξέος-βάσης των αμινοξέων

Δεδομένου ότι τα αμινοξέα περιέχουν μία καρβοξυλομάδα και μία αμινομάδα στο μόριό τους, συμπεριφέρονται ως ασθενή οξέα και ασθενείς βάσεις, δηλαδή είναι αμφολύτες (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007) (Zeece, 2020).

Σε υδατικά διαλύματα τα αμινοξέα είναι παρόντα, ανάλογα με το pH, ως κατιόντα, zwitterions (επαμφοτερίζοντα ιόντα-δίπολα) ή ανιόντα. Για παράδειγμα, το αμινοξύ της γλυκίνης, το απλούστερο από όλα τα αμινοξέα, μπορεί να υπάρχει σε τρεις διαφορετικές ιοντισμένες καταστάσεις, ανάλογα με το pH του διαλύματος: (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007) (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011)



Εικόνα 3: : Ιοντιζόμενες μορφές της γλυκίνης (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007)

Πλησίον στο ουδέτερο pH, τόσο η α-αμινομάδα όσο και η α-καρβοξυλομάδα ιοντίζονται και το μόριο είναι διπολικό. Το pH στο οποίο το διπολικό ιόν είναι ηλεκτρικά ουδέτερο ονομάζεται ισοηλεκτρικό σημείο pI και κυμαίνεται από 5 έως 6,5 για το πλήθος των αμινοξέων με ελάχιστες εξαιρέσεις (Εικόνα 2). Όταν το διπολικό ιόν υποβάλλεται σε όξινο περιβάλλον, παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης των ιόντων υδρογόνου H⁺ στο μέσο τα οποία μειώνουν τη διπολικότητα του αμινοξέος, καθώς οι ομάδες καρβοξυλίου COO⁻ πρωτονιώνονται και το αμινοξύ συμπεριφέρεται ως κατιόν. Ομοίως, όταν το διπολικό ιόν βρίσκεται σε αλκαλικό περιβάλλον, η συγκέντρωση των ιόντων υδρογόνου H⁺ μειώνεται και η αντίστοιχη των ριζών υδροξυλίου OH⁻ αυξάνεται, με αποτέλεσμα οι αμινομάδες NH₃⁺ να αποβάλλουν πρωτόνια και εν τέλει το αμινοξύ να συμπεριφέρεται ως ανιόν. Εκτός από τις α-αμινομάδες και τις α-καρβοξυλομάδες, οι πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων Lys, Arg,

His, Asp, Glu, Cys, και Tyr περιέχουν επίσης ιοντιζόμενες ομάδες (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007) (Thiyam-Hollaender et al, 2013) (Wanasundara, 2011).

1.2.2. Υδροφοβικότητα αμινοξέων

Ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζουν τις φυσικοχημικές ιδιότητες των πρωτεϊνών, και κατ' επέκταση τη σταθερότητά τους, είναι η υδροφοβικότητα των αμινοξέων. Η υδροφοβικότητα μπορεί να οριστεί ως η περίσσεια ελεύθερης ενέργειας μίας διαλυμένης ουσίας στο νερό σε σύγκριση με αυτή σε έναν οργανικό διαλύτη υπό παρόμοιες συνθήκες. Ο πιο άμεσος και απλούστερος τρόπος εκτίμησης της υδροφοβικότητας των πλευρικών ομάδων των αμινοξέων είναι ο πειραματικός προσδιορισμός των μεταβολών της ελεύθερης ενέργειας για τη διάλυση των πλευρικών ομάδων των αμινοξέων στο νερό και σε έναν οργανικό διαλύτη, όπως η οκτανόλη ή η αιθανόλη. Μία υψηλή θετική τιμή υποδηλώνει ένα αμινοξύ με υδρόφοβη πλευρική ομάδα που προτιμά να βρίσκεται στην οργανική φάση παρά στην υδατική φάση. Αντιθέτως, μία αρνητική τιμή υποδεικνύει μία υδρόφιλη πλευρική ομάδα. Συνεπώς, τα αμινοξέα ποικίλλουν ως προς τον βαθμό υδροφοβικότητάς τους ανάλογα με τα συστατικά των πλευρικών ομάδων (Ustunol, 2015) (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

1.2.3. Οπτικές ιδιότητες αμινοξέων

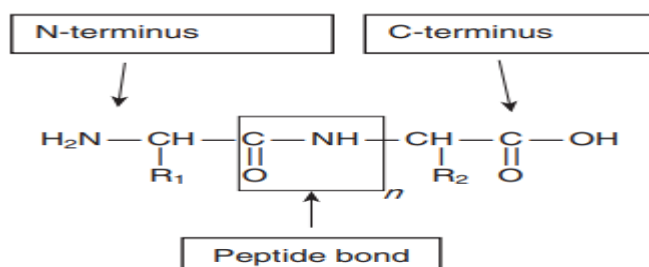
Το σύνολο των αμινοξέων που έχουν δακτύλιο αρωματικής ομάδας εμφανίζουν ικανότητα απορρόφησης φωτός καθώς και δυνατότητα φθορισμού στην εγγύς υπεριώδης περιοχή (250-300nm) αποδίδοντας αντίστοιχες ιδιότητες και στο σύνολο των πρωτεϊνών, οι οποίες με τη σειρά τους εμφανίζουν μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 280nm. Εφόσον οι ιδιότητες απορρόφησης και φθορισμού αυτών των αμινοξέων επηρεάζονται από την πολικότητα του περιβάλλοντός τους, οποιαδήποτε αλλαγή στις οπτικές ιδιότητες των πρωτεϊνών υποδεικνύει μεταβολές στη διαμόρφωση των πρωτεϊνών (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

Λόγω του ασύμμετρου κέντρου, τα αμινοξέα παρουσιάζουν οπτική ενεργότητα περιστρέφοντας το επίπεδο του γραμμικά πολωμένου φωτός. Η γωνία περιστροφής του επιπέδου του πολωμένου φωτός εξαρτάται από διάφορες συνθήκες, μεταξύ των οποίων η θερμοκρασία, το μήκος κύματος φωτός, η συγκέντρωση και το πάχος του διαλύματος

που διασχίζεται από το φως. Παράλληλα, η ειδική στροφή των αμινοξέων σε υδατικό διάλυμα επηρεάζεται έντονα από το pH, όπου λαμβάνει τιμή ένα στην ουδέτερη περιοχή pH και αυξάνεται μετά την προσθήκη οξέων ή βάσεων (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007) (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011).

1.3. Πεπτιδικός δεσμός

Τα αμινοξέα συνδέονται μεταξύ τους μέσω ενός πεπτιδικού δεσμού που σχηματίζεται μεταξύ της καρβοξυλικής ομάδας ενός αμινοξέος και της α – αμινομάδας ενός άλλου και συνοδεύεται από την απομάκρυνση ενός μορίου νερού, σχηματίζοντας μία πολυπεπτιδική αλυσίδα χαρακτηριστικού μήκους όπως φαίνεται παρακάτω: (Phillips & Williams, 2011)



Εικόνα 4: Απεικόνιση πεπτιδικού δεσμού (Phillips & Williams, 2011)

Ο πεπτιδικός δεσμός σταθεροποιείται μέσω συντονισμού δύο μεσομερικών μορφών. Αποτέλεσμα του ανωτέρω συντονισμού είναι οι δεσμοί C–N και C=O να έχουν χαρακτήρα 40% διπλού δεσμού και 40% απλού δεσμού αντίστοιχα, ενώ συγκεκριμένα ο δεσμός C–N να μην περιστρέφεται και να είναι ιδιαίτερα σταθερός. Επιπρόσθετα, τα τέσσερα άτομα του πεπτιδικού δεσμού καθώς και οι α – άνθρακες βρίσκονται σε ένα ενιαίο επίπεδο (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019) (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

Συνεπώς, η επίπεδη φύση των ατόμων γύρω από τον πεπτιδικό δεσμό και οι ογκώδεις πλευρικές αλυσίδες ορισμένων αμινοξέων επιβάλλουν περιορισμούς στην ευκαμψία των πολυπεπτιδικών αλυσίδων. Μία άλλη συνέπεια της φύσης του μερικού διπλού δεσμού του πεπτιδικού δεσμού είναι ότι τα τέσσερα άτομα που συνδέονται με τον πεπτιδικό δεσμό μπορούν να υπάρχουν είτε σε cis ή σε trans μορφή. Ωστόσο, σχεδόν όλοι οι πεπτιδικοί δεσμοί πρωτεΐνης υπάρχουν σε trans μορφή. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η trans μορφή είναι θερμοδυναμικά σταθερότερη από την cis μορφή (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007) (Yada, 2018).

Μία πολυπεπτιδική αλυσίδα θεωρείται πρωτεΐνη όταν έχει μοριακή μάζα που κυμαίνεται από 20.000–100.000 Da. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ελεύθερη υδροξυλομάδα –OH στο C–άκρο είναι διαθέσιμη για να σχηματίσει περαιτέρω πεπτιδικούς δεσμούς και πρωτεΐνες (Phillips & Williams, 2011) (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

1.4. Δομή πρωτεϊνών

1.4.1. Πρωτοταγής δομή

Η δομή της πρωτεΐνης είναι πολύπλοκη, που δικαιολογείται από το γεγονός ότι οι πρωτεΐνες που παρατηρούνται εμφανίζουν τέσσερα διαφορετικά επίπεδα οργάνωσης. Συγκεκριμένα, η πρωτοταγής δομή των πρωτεϊνών ορίζεται από τη χαρακτηριστική αλληλουχία και τον αριθμό των αμινοξέων της πολυπεπτιδικής αλυσίδας, που με τη σειρά της καθορίζει σε μεγάλο βαθμό τη δευτεροταγή, τριτοταγή και τεταρτοταγή δομή μίας πρωτεΐνης. Η τεράστια δυνατότητα για ποικιλία πρωτεϊνών προκύπτει από το γεγονός ότι θεωρητικά, κάθε θέση στην πρωτοταγή αλληλουχία θα μπορούσε να καταληφθεί από ένα από τα είκοσι αμινοξέα. Παρόλο αυτά, μεταβολές στη σειρά και στη θέση των αμινοξέων ή αντικαταστάσεις μπορεί να επηρεάσουν τη λειτουργική ικανότητα του μορίου και να το καταστήσουν ανενεργό ή μη δραστικό (Phillips & Williams, 2011) (Yada, 2018) (Ustunol, 2015).

Κατά σύμβαση, το αμινοτελικό N–άκρο αντιπροσωπεύει την αρχή και το C–άκρο το τέλος της πολυπεπτιδικής αλυσίδας όταν απαιτούνται πληροφορίες σχετικά με την πρωτοταγή δομή. Το μήκος της αλυσίδας και η αλληλουχία στην οποία τα αμινοξέα είναι συνδεδεμένα καθορίζουν τις φυσικοχημικές, δομικές και βιολογικές ιδιότητες καθώς και τη λειτουργικότητα μίας πρωτεΐνης (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

1.4.2. Δευτεροταγής δομή

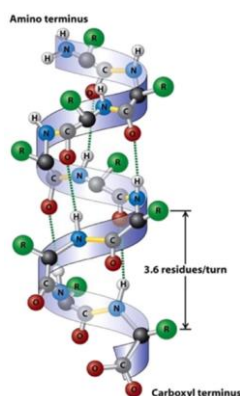
Η δευτεροταγής δομή απευθύνεται στον τρισδιάστατο τρόπο διάταξης της πρωτεΐνης κατά τον άξονά της, που καθορίζεται από την επιπεδότητα του πεπτιδικού δεσμού, τους δεσμούς υδρογόνου που αναπτύσσονται μεταξύ των ομάδων C=O και N–H καθώς και την πιθανή περιστροφή γύρω από τους δεσμούς N–Ca και C–Ca. Η σταθερότητα της δομής προκύπτει από την ελαχιστοποίηση της ελεύθερης ενέργειας που αποδίδεται στις

παραπάνω αλληλεπιδράσεις (Yada, 2018) (Ustunol, 2015) (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019).

Γενικά, δύο μορφές δευτεροταγών δομών παρατηρούνται στις πρωτεΐνες. Αυτές είναι ελικοειδείς δομές και εκτεταμένες δομές. Όσον αφορά τις ελικοειδείς δομές, στις πρωτεΐνες τροφίμων απαντώνται μόνο τρεις βασικοί τύποι και ειδικότερα η α -, η 3_{10} - και η β -έλικα. Μεταξύ των τριών ελικοειδών δομών, η δομή της α -έλικας είναι η κύρια δομή που βρίσκεται στις πρωτεΐνες και είναι η πιο σταθερή (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

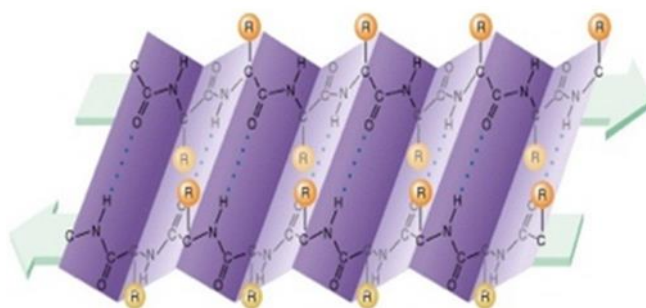
Στην περίπτωση της α -έλικας, η πολυπεπτιδική αλυσίδα είναι διατεταγμένη υπό τη μορφή σπείρας σε έναν κεντρικό άξονα. Μία πλήρης περιστροφή της έλικας εμφανίζει βήμα $5,4\text{\AA}$ κατά μήκος του άξονα της πρωτεΐνης και κάθε περιστροφή της σπείρας περιλαμβάνει 3,6 αμινοξέα. Τα αμινοξέα είναι διατεταγμένα κάθετα στον άξονα της έλικας με τις πλευρικές ομάδες R στραμμένες προς τα έξω και οι δεσμοί υδρογόνου είναι προσανατολισμένοι παράλληλα στον άξονα της έλικας. Η δομή της α -έλικας φέρει δεξιόστροφο προσανατολισμό, που είναι σταθερός (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007) (Yada, 2018) (Zeece, 2020).

Ο σχηματισμός της α -έλικας καθορίζεται και από το είδος των αμινοξέων που φέρει η πολυπεπτιδική αλυσίδα. Για παράδειγμα, η παρουσία προλίνης δεν είναι συμβατή με την αντίστοιχη δομή της α -έλικας, η οποία διακόπτεται λόγω της δομής δακτυλίου που φέρει το συγκεκριμένο αμινοξύ, αποτρέποντας την ικανότητα σχηματισμού δεσμών υδρογόνου. Πρωτεΐνες που περιέχουν υψηλά επίπεδα προλίνης λαμβάνουν τυχαίες απεριοδικές δομές υπό τη μορφή σπείρας, που αποτελεί μία μορφή δευτεροταγούς δομής. Τυχαία σπείρα δημιουργείται επίσης λόγω φορτισμένων ή ογκωδών πλευρικών αλυσίδων. Παρακάτω αποδίδεται σχηματικά η δομή της α -έλικας: (Zeece, 2020) (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019) (Ustunol, 2015)



Εικόνα 5: Απεικόνιση δομής α -έλικας (Ustunol, 2015)

Όσον αφορά τις εκτεταμένες δομές, η πιο διαδεδομένη μορφή είναι εκείνη των β-πτυχωμένων φύλλων, η οποία αναδιπλώνεται και διατάσσεται στο χώρο έχοντας τεθλασμένη μορφή ζιγκ-ζαγκ. Αποτελείται από β-κλώνους, που συνήθως περιέχουν 5-15 αμινοξέα, και συνδέονται παράλληλα μέσω δεσμών υδρογόνου που αναπτύσσονται μεταξύ των αλυσίδων. Η καρβοξυλομάδα και η αμινομάδα κάθε αμινοξέος είναι προσανατολισμένες κάθετα στην κατεύθυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας, ενώ η πολυπεπτιδική αλυσίδα είναι ελαφρώς αναδιπλωμένη στο α-άνθρακα, με αποτέλεσμα οι πλευρικές ομάδες R να επιμηκύνονται και να εκτείνονται κάθετα στον άξονα της αλυσίδας (πάνω και κάτω από το επίπεδο του φύλλου). Παρακάτω αποδίδεται σχηματικά η δομή των β-πτυχωμένων φύλλων: (Zeece, 2020) (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019) (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011).



Εικόνα 6: Απεικόνιση δομής β - πτυχωμένων φύλλων (Zeece, 2020)

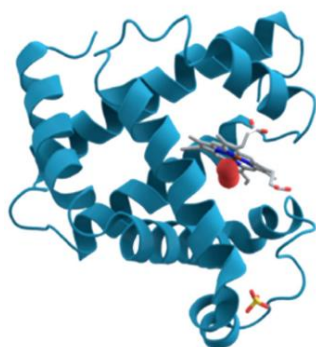
Γενικά, η δομή των β-πτυχωμένων φύλλων είναι πιο σταθερή από την αντίστοιχη της α-έλικας. Παράλληλα είναι δυνατόν να συνυπάρχουν στην ίδια πρωτεΐνη και οι δύο δομές (Yada, 2018) (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

1.4.3. Τριτοταγής δομή

Η τριτοταγής δομή αναφέρεται στην τρισδιάστατη οργάνωση μεγάλων τμημάτων της πολυπεπτιδικής αλυσίδας που περιέχει περιοχές σαφώς καθορισμένης δευτεροταγούς δομής και περιοχές με ασαφή ή χωρίς δευτεροταγή δομή. Κατ' ουσίαν, η τριτοταγής δομή υπαγορεύει το τελικό μέγεθος και το σχήμα του μορίου της πρωτεΐνης (Yada, 2018) (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019).

Τη μεγαλύτερη συμβολή στη διαμόρφωση της τριτοταγούς δομής, διαθέτουν οι υδρόφοβες και υδρόφιλες αλληλεπιδράσεις. Η κατανομή των υδρόφιλων και υδρόφοβων αμινοξέων που υπάρχουν στην πολυπεπτιδική αλυσίδα καθορίζει σε μεγάλο βαθμό εάν η πρωτεΐνη περιελίσσεται στο χώρο, αποδίδοντας σφαιρικά ή

ραβδοειδή σχήματα. Οι σφαιροειδείς (globular) πρωτεΐνες είναι υδατοδιαλυτές και τείνουν να αποκτήσουν διαμόρφωση, ώστε τα υδρόφοβα αμινοξέα να διατάσσονται στο εσωτερικό και τα υδρόφιλα ομοιόμορφα στην επιφάνεια. Από την άλλη πλευρά, οι ινώδεις πρωτεΐνες είναι μόρια με ραβδοειδές σχήμα που μπορούν επίσης να σχηματίζονται ως αποτέλεσμα γραμμικής συσσωμάτωσης μικρών σφαιρικών πρωτεϊνών. Η μυοσφαιρίνη είναι μία πρωτεΐνη της οποίας η αλληλουχία και η τρισδιάστατη δομή είναι καθορισμένη και επομένως αποτελεί ένα καλό μοντέλο για την περιγραφή της τριτοταγούς δομής (Zeece, 2020) (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019).

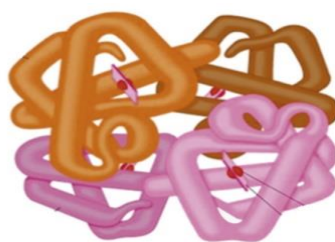


Εικόνα 7: Απεικόνιση τριτοταγούς δομής της μυοσφαιρίνης (Zeece, 2020)

1.4.4. Τεταρτοταγής δομή

Η τεταρτοταγής δομή αναφέρεται στην τρισδιάστατη οργάνωση των πρωτεϊνικών μορίων που αποτελούνται από περισσότερες από μία πολυπεπτιδικές αλυσίδες, όπου δεν εμφανίζουν απαραίτητα καθορισμένη συμμετρία. Οι αλληλεπιδράσεις και οι δυνάμεις σύνδεσης που εμφανίζονται σε πολλαπλές θέσεις και τμήματα της δομής και είναι υπεύθυνες για τη σταθεροποίηση της τεταρτοταγούς δομής μιας πρωτεΐνης είναι δεσμοί υδρογόνου, ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις καθώς και ομοιοπολικοί δισουλφιδικοί δεσμοί (Zeece, 2020) (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019).

Χαρακτηριστικό παράδειγμα τεταρτοταγούς δομής αποτελεί αυτό της αιμοσφαιρίνης, όπως αποδίδεται παρακάτω:



Εικόνα 8: Απεικόνιση τεταρτοταγούς δομής της αιμοσφαιρίνης (Zeece, 2020)

1.5. Μετουσίωση πρωτεϊνών

Στο σύνολο των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των πρωτεϊνών, ιδιαίτερη αναφορά αξίζει να γίνει στο φαινόμενο της μετουσίωσης που καθορίζει την αξιοποίηση των πρωτεϊνών στις εφαρμογές των τροφίμων.

Μία πρωτεΐνη υφίσταται μετουσίωση όταν παρατηρείται απώλεια δευτεροταγούς, τριτοταγούς ή τεταρτοταγούς δομής χωρίς διάσπαση των πεπτιδικών δεσμών. Η μετουσίωση προκύπτει από τη μεταβολή των αλληλεπιδράσεων που καθορίζουν τη σταθερότητα των συγκεκριμένων δομών, όπως οι δεσμοί υδρογόνου και οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις, και μπορεί να φτάσει μέχρι και το πλήρες ξετύλιγμα της αλύσου (Zeese, 2020) (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019).

Η μετουσίωση είναι γενικά αντιστρεπτή, όταν η πεπτιδική αλυσίδα σταθεροποιείται στην αποδιοργανωμένη κατάσταση από τον παράγοντα μετουσίωσης και η φυσική διαμόρφωση μπορεί να επαναποκατασταθεί μετά την απομάκρυνση του παράγοντα. Η μη αντιστρεπτή μετουσίωση εμφανίζεται όταν σταθεροποιείται η ξετυλιγμένη πεπτιδική αλυσίδα από αλληλεπιδράσεις με άλλες αλυσίδες (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011).

Οι παράγοντες που καθορίζουν το φαινόμενο διακρίνονται σε φυσικούς και χημικούς αντίστοιχα. Η θέρμανση είναι ο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενος φυσικός μετουσιωτικός παράγοντας κατά την επεξεργασία και τη συντήρηση των τροφίμων. Όταν μία πρωτεΐνη θερμαίνεται σταδιακά πάνω από μία κρίσιμη θερμοκρασία, υφίσταται απότομη μετάβαση από τη φυσική κατάσταση στη μετουσιωμένη κατάσταση. Συγκεκριμένα, οι δεσμοί υδρογόνου και οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, οι οποίες είναι εξώθερμες εκ φύσεως, αποσταθεροποιούνται και οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις, οι οποίες είναι ενδόθερμες, σταθεροποιούνται καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία. Συνδυαστικά με την επίδραση της θερμοκρασίας, η αλληλουχία των αμινοξέων επηρεάζει τη διεργασία της μετουσίωσης των πρωτεϊνών και κατ' επέκταση και τη θερμική σταθερότητα των πρωτεϊνών. Συγκεκριμένα, πρωτεΐνες που περιέχουν μεγαλύτερη αναλογία υδρόφοβων αμινοξέων τείνουν να είναι πιο σταθερές από τις πιο υδρόφιλες πρωτεΐνες (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007). Στην κατηγορία των φυσικών μετουσιωτικών παραγόντων εντάσσεται η επίδραση της υδροστατικής πίεσης και της διατμητικής τάσης μέσω μηχανικής καταπόνησης.

Αντιθέτως στην κατηγορία των χημικών παραγόντων εντάσσεται η επίδραση του pH, η χρήση οργανικών διαλυτών, η χρήση πρόσθετων μικρού μοριακού βάρους ή

επιφανειοδραστικών ουσιών. Συγκεκριμένα όσον αφορά τις μεταβολές του pH, οι πρωτεΐνες είναι πιο σταθερές έναντι της μετουσίωσης στο ισοηλεκτρικό τους σημείο από ότι σε οποιοδήποτε άλλο pH. Ωστόσο ακραίες τιμές pH έχουν ως αποτέλεσμα τη διόγκωση και το ξετύλιγμα της πολυπεπτιδικής αλυσίδας του μορίου της πρωτεΐνης, όπου το φαινόμενο είναι εντονότερο σε ακραίες τιμές αλκαλικού pH από ότι σε ακραίες όξινες τιμές pH. Λοιποί παράγοντες μετουσίωσης σχετίζονται με την ακτινοβολήση, την ψύξη, την εφαρμογή υψηλής πίεσης καθώς και ρόφησης σε διεπιφάνειες (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

Πολλές βιολογικά ενεργές πρωτεΐνες χάνουν τη δραστηριότητά τους κατά τη μετουσίωση. Στην περίπτωση των πρωτεϊνών τροφίμων, η μετουσίωση συνήθως προκαλεί μείωση της διαλυτότητας και μεταβολή ορισμένων φυσικοχημικών και λειτουργικών ιδιοτήτων. Συγκεκριμένα παρατηρείται μεταβολή της ικανότητας ρόφησης του νερού, αύξηση της ευπάθειας σε πρωτεολυτικά ένζυμα, αύξηση του ιξώδους και απώλεια της ικανότητας κρυστάλλωσης. Παράλληλα, η μετουσίωση βελτιώνει την πεπτικότητα μίας πρωτεΐνης (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007) (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019) (Zeece, 2020).

1.6. Λειτουργικές ιδιότητες

Οι διατροφικές προτιμήσεις των ανθρώπων βασίζονται κυρίως στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων όπως είναι η υφή, η γεύση, το χρώμα και η εμφάνιση. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ενός τροφίμου είναι το καθαρό αποτέλεσμα πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων μεταξύ διαφόρων δευτερευόντων και βασικών συστατικών του τροφίμου, με τις πρωτεΐνες να εμφανίζουν ιδιαίτερη επιρροή πάνω σε αυτά. Συνεπώς, η λειτουργικότητα των πρωτεϊνών τροφίμων αναφέρεται στις φυσικές και χημικές ιδιότητες που επηρεάζουν την απόδοση των πρωτεϊνών σε συστήματα τροφίμων κατά την επεξεργασία, αποθήκευση, προετοιμασία και κατανάλωση.

1.6.1. Ενυδάτωση πρωτεϊνών

Οι ρεολογικές ιδιότητες και οι αντίστοιχες ιδιότητες υφής των τροφίμων εξαρτώνται από την αλληλεπίδραση του νερού με τις πρωτεΐνες. Συγκεκριμένα, το νερό τροποποιεί τις φυσικοχημικές ιδιότητες των πρωτεϊνών, ενώ παράλληλα πολλές λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών εξαρτώνται από τις αλληλεπιδράσεις νερού – πρωτεΐνης.

Συγκεκριμένα, ιοντισμένες λειτουργικές ομάδες όπως $-\text{NH}^{+3}$, $-\text{COO}^-$ και άλλες πολικές ομάδες ($-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $=\text{NH}$) στις πρωτεΐνες προσελκύουν μόρια νερού. Αυτά τα μόρια νερού προσανατολίζονται γύρω από την πρωτεΐνη, σχηματίζοντας ένα στρώμα διαλυτοποίησης που καλείται κέλυφος ενυδάτωσης (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

Μία χαρακτηριστική αλληλεπίδραση νερού-πρωτεΐνης αποτελεί η ικανότητα συγκράτησης νερού των πρωτεϊνών (water holding capacity) που ορίζεται ως η συνολική ποσότητα νερού που μπορεί να απορροφηθεί ανά 1g ξηρής πρωτεΐνης. Γενικά, η ικανότητα συγκράτησης νερού των πρωτεϊνών επηρεάζεται από τις εγγενείς ιδιότητες της πρωτεΐνης, όπως η συγκέντρωση και η σύνθεση των αμινοξέων, καθώς και από εξωτερικούς παράγοντες όπως η ιοντική ισχύς, το pH, η θερμοκρασία και οι συνθήκες διεργασίας (Zhang, 2021) (Yada, 2018).

Η δέσμευση του νερού οφείλεται στον διπολικό χαρακτήρα του νερού και μπορεί να προβλεφθεί από τη σύνθεση αμινοξέων των πρωτεϊνών. Οι πρωτεΐνες που περιέχουν πολλά φορτισμένα αμινοξέα τείνουν να δεσμεύουν μεγάλες ποσότητες νερού. Επιπρόσθετα, η ικανότητα δέσμευσης νερού των πρωτεϊνών γενικά μειώνεται καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία, λόγω των μειωμένων δεσμών υδρογόνου και της μειωμένης ενυδάτωσης των ιοντικών ομάδων.

Παράλληλα, τα ιόντα άλατος σε χαμηλές συγκεντρώσεις τείνουν να αυξάνουν την ικανότητα συγκράτησης νερού. Όσον αφορά την επίδραση του pH, οι πρωτεΐνες είναι λιγότερο ενυδατωμένες στο ισοηλεκτρικό pH όπου οι ενισχυμένες αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης έχουν ως αποτέλεσμα την ελάχιστη αλληλεπίδραση με το νερό. Πέρα από το ισοηλεκτρικό pH, λόγω της αύξησης του καθαρού φορτίου και των απωστικών δυνάμεων, οι πρωτεΐνες διογκώνονται και δεσμεύουν περισσότερο νερό (Zhang, 2021) (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

Λειτουργικές ιδιότητες, όπως η ικανότητα διασποράς (dispersibility), η ικανότητα διαβροχής (wetting) και η διόγκωση (swelling) καθορίζονται επίσης από τις αλληλεπιδράσεις νερού-πρωτεΐνης.

1.6.2. Διαλυτότητα

Η διαλυτότητα περιγράφει την ικανότητα μίας δεδομένης διαλυμένης ουσίας να διαλύεται σε ένα διαλύτη. Η διαλυτότητα είναι ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά των πρωτεϊνών ιδίως στις εφαρμογές που σχετίζονται με τη βιομηχανία των τροφίμων. Ειδικότερα, η διαλυτότητα μίας πρωτεΐνης είναι η εκδήλωση της θερμοδυναμικής ισορροπίας των αλληλεπιδράσεων πρωτεΐνης-πρωτεΐνης και πρωτεΐνης-διαλύτη, όπου στην περίπτωση του νερού αποδίδεται παρακάτω: (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007), (Yada, 2018):



Οι κύριες αλληλεπιδράσεις που επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά διαλυτότητας των πρωτεϊνών είναι υδρόφοβης και ιοντικής/ηλεκτροστατικής φύσης. Οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις προάγουν τις αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης και έχουν ως αποτέλεσμα μειωμένη διαλυτότητα, ενώ οι ιοντικές αλληλεπιδράσεις προάγουν τις αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-διαλύτη και έχουν ως αποτέλεσμα αυξημένη διαλυτότητα (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

Οι πρωτεΐνες διαφέρουν ως προς την ικανότητα διαλυτότητάς τους λόγω της διαφοράς που εντοπίζεται στην αλληλουχία και στη σύνθεση αμινοξέων τους. Γενικά, οι πρωτεΐνες με υψηλότερη περιεκτικότητα σε πολικά αμινοξέα είναι πιο διαλυτές σε σύγκριση με εκείνες με χαμηλότερη περιεκτικότητα, καθώς η ευνοϊκή αλληλεπίδραση παρέχεται κυρίως από τις ιοντιζόμενες ομάδες. Εκτός από αυτές τις εγγενείς φυσικοχημικές ιδιότητες, η διαλυτότητα επηρεάζεται από παράγοντες όπως το pH, η ιοντική ισχύς, η θερμοκρασία και η παρουσία οργανικών διαλυτών (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007) (Zeece, 2020).

Όσον αφορά την επίδραση του pH, σε τιμές πέρα από το ισοηλεκτρικό σημείο pI, τα πρωτεϊνικά μόρια απωθούνται μεταξύ τους και η διαλυτότητα των πρωτεϊνικών μορίων αυξάνεται. Αντιθέτως, όταν προσεγγίζεται το ισοηλεκτρικό σημείο, τα πρωτεϊνικά μόρια έλκονται μεταξύ τους, διευκολύνοντας τη συσσωμάτωση και την καταβύθιση των πρωτεϊνών (ισοηλεκτρική καταβύθιση). Αξίζει να σημειωθεί ότι η πλειοψηφία των πρωτεϊνών των τροφίμων είναι όξινες πρωτεΐνες. Επομένως, παρουσιάζουν ελάχιστη διαλυτότητα σε όξινες τιμές pH και μέγιστη διαλυτότητα αντίστοιχα σε αλκαλικό pH (Zhang 2021) (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

Η επίδραση της ιοντικής ισχύος ενός διαλύματος ουδέτερου άλατος στη διαλυτότητα των πρωτεϊνών εκφράζεται μέσω της συγκέντρωσης των ιόντων και του σθένους τους.

Κατά κανόνα, η επίδραση του προστιθέμενου ουδέτερου άλατος σε ένα εύρος συγκέντρωσης 0,5-1M είναι η αύξηση της διαλυτότητας, φαινόμενο που χαρακτηρίζεται ως εναλάτωση. Αντιθέτως, εάν η συγκέντρωση του άλατος είναι υψηλότερη (>1M), η επίδραση στη διαλυτότητα αντιστρέφεται, καθώς τα ιόντα άλατος προβάλλουν ανταγωνισμό για τα μόρια νερού. Η προκύπτουσα απώλεια ενυδάτωσης των πρωτεϊνών προάγει τις αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης και κατ' επέκταση την καταβύθισή τους. Το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό ως εξαλάτωση και αξιοποιείται για τον καθαρισμό και την απομόνωση των πρωτεϊνών (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019) (Zeece, 2020).

Σε σταθερή τιμή pH και ιοντική ισχύ, η διαλυτότητα των περισσότερων πρωτεϊνών γενικά αυξάνεται σε ένα εύρος θερμοκρασιών 0°C έως 40°C. Πάνω από τους 40°C, η αύξηση της θερμικής κινητικής ενέργειας προκαλεί το ξετύλιγμα της πρωτεϊνικής αλυσίδας (μετουσίωση), τη συσσωμάτωση και την καταβύθιση των πρωτεϊνών, που συνεπάγεται μειωμένη διαλυτότητα (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

Η προσθήκη οργανικών διαλυτών, όπως αιθανόλη ή ακετόνη, συμβάλλει στην αύξηση των ενδομοριακών και διαμοριακών ηλεκτροστατικών δυνάμεων απωστικής φύσης που προκαλούν το ξετύλιγμα της πολυπεπτιδικής αλυσίδας της πρωτεΐνης, την καταβύθιση της πρωτεΐνης κατ' επέκταση τη μειωμένη διαλυτότητα στο οργανικό μέσο (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

1.6.3. Γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες

Τα γαλακτώματα σχηματίζονται κατά τη διασπορά μίας φάσης (διεσπαρμένη ή σταγονοειδής φάση) σε μία άλλη (συνεχής ή εξωτερική φάση) από δύο τουλάχιστον μη αναμίξιμες φάσεις. Τα γαλακτώματα μπορεί να είναι υγρά, ημιστερεά ή στερεά. Στη βιομηχανία τροφίμων απαντώνται δύο βασικοί τύποι γαλακτωμάτων. Ειδικότερα εάν η διεσπαρμένη φάση είναι έλαιο και η συνεχής φάση είναι νερό, προκύπτει γαλάκτωμα ελαίου σε νερό. Όταν η συνεχής φάση είναι έλαιο και η διεσπαρμένη φάση είναι νερό, προκύπτει ένα γαλάκτωμα νερού σε έλαιο, στο οποίο περιλαμβάνονται οι μαργαρίνες και το βούτυρο. Αντιθέτως το γάλα, το παγωτό, η μαγιονέζα και οι κρέμες αποτελούν χαρακτηριστικά παραδείγματα γαλακτωμάτων ελαίου σε νερό. (Yada 2018) (Lu et al., 2021).

Για το σχηματισμό του γαλακτώματος, ένα ενεργειακό φράγμα είναι απαραίτητο να ξεπεραστεί για να αποτραπεί η συνένωση της διεσπαρμένης φάσης. Αυτό το

ενεργειακό φράγμα παρέχεται από τασιενεργά, που καλούνται γαλακτωματοποιητές, και οι πρωτεΐνες εντάσσονται σε αυτήν την κατηγορία. Τα επιφανειοδραστικά μόρια προσροφώνται στην επιφάνεια των σταγονιδίων, εμποδίζοντάς τα να συσσωρευτούν σε μεγαλύτερα σταγονίδια, συμβάλλοντας στη μείωση της διεπιφανειακής τάσης. Παράλληλα πρόκειται για τις ενώσεις που αυξάνουν το ιξώδες της συνεχούς φάσης και, με τον τρόπο αυτό, επιβραδύνουν την κίνηση και τη συσσώρευση των σταγονιδίων (Yada 2018) (Zhang et al., 2021).

Γενικά ως καλοί γαλακτωματοποιητές ορίζονται εύκαμπτες πρωτεΐνες ικανές να ξετυλίγονται και να σχηματίζουν υδρόφοβους δεσμούς στην επιφάνεια των σταγονιδίων ελαίου, γεγονός που αποδίδεται στον αμφίφιλο χαρακτήρα που φέρουν περιέχοντας τόσο πολικά όσο και μη πολικά αμινοξέα σε κατάλληλη αναλογία (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019) (Zeece, 2020).

Οι γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες των πρωτεϊνών τροφίμων αξιολογούνται με διάφορα κριτήρια, όπως η κατανομή μεγέθους των σχηματιζόμενων σταγονιδίων ελαίου, η γαλακτωματοποιητική ικανότητα και η σταθερότητα του γαλακτώματος. Συγκεκριμένα, το μέσο μέγεθος σταγονιδίων των γαλακτωμάτων μπορεί να προσδιοριστεί μέσω μικροσκοπίας φωτός ή και με σκέδαση φωτός (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

Η ικανότητα γαλακτωματοποίησης (emulsion capacity) ορίζεται ως ο όγκος ελαίου που μπορεί να γαλακτωματοποιηθεί ανά 1g πρωτεΐνης πριν συμβεί το φαινόμενο της αναστροφής φάσης. Για ένα πρωτεϊνικά σταθεροποιημένο γαλάκτωμα, η αναστροφή φάσης συμβαίνει συνήθως όταν το ποσοστό διεσπαρμένης φάσης Φ είναι περίπου 0,65 – 0,85. Το μέγεθος αυτό μειώνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης πρωτεΐνης έως ότου φτάσει σε ένα σημείο όπου η μη προσροφημένη πρωτεΐνη συσσωρεύεται στην υδατική φάση (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

Η ικανότητα ενός γαλακτώματος να αντιστέκεται στις μεταβολές των φυσικών και χημικών ιδιοτήτων του καθώς και στην καταστροφή αυτών των ιδιοτήτων αναφέρεται ως σταθερότητα του γαλακτώματος. Η σταθερότητα του γαλακτώματος επηρεάζεται από την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες. Σε χαμηλή συγκέντρωση πρωτεΐνης μπορεί να σχηματιστεί λεπτό υμένιο με χαμηλή αντοχή. Ενώ η ικανότητα γαλακτωματοποίησης μειώνεται με τη συγκέντρωση πρωτεΐνης, η σταθερότητα αυξάνεται αισθητά. Αξίζει να σημειωθεί ότι η μέγιστη σταθερότητα γαλακτώματος παρατηρείται για $0,77 < \Phi < 0,88$ (Lu et al., 2021) (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019).

Λοιπές παράμετροι που επηρεάζουν τη διαμόρφωση γαλακτώματος είναι η θερμοκρασία, το pH, η παρουσία σακχάρων, η παρουσία επιφανειοδραστικών ουσιών χαμηλού μοριακού βάρους, ο τύπος ελαίου, όπως και η συγκέντρωση του διαλύτη – πρωτεΐνης (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019).

1.6.4. Δυνατότητα διαμόρφωσης και σταθεροποίησης αφρού

Οι αφροί είναι κολλοειδή συστήματα που αποτελούνται από μία υδατική συνεχή φάση και μία αέρια διασπαρμένη φάση. Πολλά επεξεργασμένα τρόφιμα στη βιομηχανία είναι προϊόντα τύπου αφρού, συμπεριλαμβανομένων της μπύρας και λοιπών γλυκισμάτων. Στα περισσότερα από αυτά τα προϊόντα τροφίμων, οι πρωτεΐνες είναι οι κύριοι επιφανειοδραστικοί παράγοντες που βοηθούν στο σχηματισμό και τη σταθεροποίηση της διεσπαρμένης αέριας φάσης. Συγκεκριμένα, οι πρωτεΐνες που συμβάλλουν στη διαμόρφωση και τη σταθεροποίηση αφρού διαχέονται και προσροφώνται ταχύτατα στη διεπιφάνεια αέρα-νερού, υφίστανται ταχεία μετουσίωση και αναδιάταξη στη διεπιφάνεια ενώ παράλληλα διαμορφώνουν ένα συνεκτικό ιξωδοελαστικό φιλμ λόγω ενδομοριακών υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων (Zhang et al., 2021) (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

Αξίζει να σημειωθεί πως ως καλοί αφροποιητές ορίζονται οι ενώσεις που φέρουν χαμηλή επιφανειακή τάση, υψηλό ιξώδες συνεχούς φάσης καθώς και ισχυρά και ελαστικά προσροφημένα φιλμ (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019).

Η ικανότητα των πρωτεϊνικών μορίων στη διαμόρφωση αφρού αξιολογείται με διάφορους τρόπους, ιδίως μέσω της ικανότητας αφρισμού και της σταθερότητας αφρού. Ως ικανότητα αφρισμού ορίζεται η έκταση της συνολικής επιφάνειας επαφής των δύο φάσεων διεπιφάνειας που μπορεί να δημιουργηθεί από την πρωτεΐνη. Η ικανότητα αφρισμού γενικά αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης μέχρι να επιτευχθεί μία μέγιστη τιμή. Η σταθερότητα του αφρού (foam stability) αναφέρεται στην ικανότητα της πρωτεΐνης να σταθεροποιεί τον αφρό έναντι βαρυτικών και μηχανικών καταπονήσεων. Η σταθερότητα του αφρού εκφράζεται συχνά ως ο χρόνος που απαιτείται για την αποστράγγιση του 50% του υγρού από τον αφρό ή για μείωση του όγκου του αφρού κατά 50% (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

Συνοπτικά, η επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων στη δομή και τη σταθερότητα του αφρού αποδίδονται ως εξής:

- Σε τιμές pH διαφορετικές από το ισοηλεκτρικό σημείο pI, η ικανότητα αφρισμού των πρωτεϊνών είναι συχνά καλή, αλλά η σταθερότητα του αφρού είναι κακή.
- Οι επιδράσεις των αλάτων στις ιδιότητες αφρισμού των πρωτεϊνών εξαρτώνται από τον τύπο του άλατος και τα χαρακτηριστικά διαλυτότητας της πρωτεΐνης σε αυτό το διάλυμα άλατος.
- Η προσθήκη σακχάρων σε διαλύματα πρωτεΐνης συχνά βλάπτει την ικανότητα αφρισμού, αλλά βελτιώνει τη σταθερότητα του αφρού.
- Τα λιπίδια επηρεάζουν σημαντικά τις ιδιότητες αφρισμού των πρωτεϊνών.
- Η μερική θερμική μετουσίωση βελτιώνει τις ιδιότητες αφρισμού των πρωτεϊνών (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

1.6.5. Ικανότητα ζελοποίησης – σχηματισμός πηκτής

Ο σχηματισμός πηκτής περιλαμβάνει το ξετύλιγμα της αλύσου της πρωτεΐνης που προκαλείται λόγω του φαινομένου της μετουσίωσης και οδηγεί στη διαμόρφωση ενός τρισδιάστατου δικτύου που σταθεροποιείται μέσω ελκτικών και απωστικών δυνάμεων και είναι ικανό να παγιδεύει και να συγκρατεί νερό και άλλες ουσίες μικρού μοριακού βάρους. Συνοψίζοντας, ο σχηματισμός πηκτής είναι το αποτέλεσμα της ισορροπίας μεταξύ των αλληλεπιδράσεων πολυμερούς-πολυμερούς πρωτεΐνης και πολυμερούς πρωτεΐνης-νερού (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007) (Yada, 2018).

Παρατηρούνται δύο τύποι πρωτεϊνικών πηκτών, όπως είναι οι αντιστρεπτές πηκτές και οι αναντίστρεπτες πηκτές. Στην πρώτη κατηγορία, εντάσσονται πρωτεΐνες που περιέχουν μικρές ποσότητες μη πολικών αμινοξέων και σχηματίζουν αρχικά διαλυτά σύμπλοκα κατά τη μετουσίωση. Ο σχηματισμός του τρισδιάστατου δικτύου επιτυγχάνεται κυρίως μέσω δεσμών υδρογόνου και με θέρμανση ακολουθούμενη από ψύξη. Επιπρόσθετα, κατά την αναθέρμανση, η πηκτική επιστρέφει σε ρευστοποιημένη κατάσταση. Η διαμόρφωση πηκτής υπό αυτές τις συνθήκες μπορεί να προκληθεί επίσης από άλατα, ελαφρά οξίνιση ή ένζυμα (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007) (Zhang, 2021) (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019).

Στην περίπτωση των αναντίστρεπτων πρωτεϊνικών πηκτών, παρατηρούνται πρωτεΐνες που περιέχουν μεγάλες ποσότητες μη πολικών αμινοξέων και υφίστανται

συσσωμάτωση μέσω υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων. Ο σχηματισμός του τρισδιάστατου δικτύου στηρίζεται στην επίδραση της θέρμανσης και σταθεροποιείται μέσω πιθανών δισουλφιδικών δεσμών εκτός των υδρόφοβων δυνάμεων. Γενικά, οι αναντίστρεπτες πηκτές καταλαμβάνουν την πλειοψηφία των πηκτών τροφίμων. Οι πηκτές τροφίμων παρέχουν μία επιθυμητή μαλακή υφή, επειδή περιέχουν υψηλή περιεκτικότητα σε νερό (Zhang et al., 2021), (Zeece, 2020) (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019) (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

Ανεξάρτητα από τον τύπο της πρωτεϊνικής πηκτής, οι ιδιότητές της επηρεάζονται τόσο από εγγενείς ιδιότητες (συγκέντρωση πρωτεΐνης, μοριακό βάρος) καθώς και από περιβαλλοντικούς παράγοντες (pH και ιοντική ισχύς). Συγκεκριμένα, για να σχηματιστεί ένα αυτόνομο δίκτυο πηκτής απαιτείται μία ελάχιστη συγκέντρωση πρωτεΐνης που είναι γνωστή ως ελάχιστο σημείο συγκέντρωσης (least concentration endpoint) και ποικίλει ανάλογα με το είδος της πρωτεΐνης. Επιπρόσθετα, η σταθερότητα του τρισδιάστατου δικτύου εμφανίζει γραμμική σχέση με το μοριακό βάρος της πρωτεΐνης (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007) (Zhang et al., 2021).

Όσον αφορά την επίδραση του pH, η αντοχή και η σταθερότητα της πηκτής είναι μεγαλύτερη όταν το pH βρίσκεται στο ισοηλεκτρικό σημείο της πρωτεΐνης επειδή η ηλεκτροστατική απόθεση είναι ελάχιστη, προάγοντας την αλληλεπίδραση πρωτεΐνης-πρωτεΐνης. Σχετικά με την ιοντική ισχύ, χαμηλές συγκεντρώσεις άλατος μειώνουν την ηλεκτροστατική απόθεση και προάγουν την υδρόφοβη αλληλεπίδραση προς τον σχηματισμό πηκτής. Σε αυτό το σημείο αξίζει να αναφερθεί ότι με την αύξηση των ελκτικών δυνάμεων, η πηκτή συστέλλεται αποβάλλοντας μέρος του συγκρατούμενου νερού και το φαινόμενο αυτό ονομάζεται συναίρεση (Zeece, 2020)(Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019).

1.6.6. Ικανότητα απορρόφησης – δέσμευσης ελαίων και λιπαρών

Η ικανότητα απορρόφησης λιπαρών είναι ένας ποσοτικός δείκτης του ελαίου που απορροφάται και συγκρατείται ανά 1g ξηρής πρωτεΐνης. Η ιδιότητα αυτή συμβάλλει στη διατήρηση της γεύσης και της υφής των τροφίμων και βρίσκει εφαρμογή στην παρασκευή γαλακτωμάτων.

Ο μηχανισμός δέσμευσης ελαίου οφείλεται στη φυσική παγίδευση του ελαίου και καθορίζεται από τη μικροδομή, το είδος, τη συγκέντρωση της πρωτεΐνης καθώς και από τον τύπο του ελαίου, την κατανομή των σωματιδίων ελαίου όπως και τις

αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-λιπαρών. Συγκεκριμένα, οι αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-λιπαρών αφορούν υδρόφοβες, ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις και δεσμούς υδρογόνου. Οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην σταθερότητα των συμπλεγμάτων πρωτεΐνης-λιπιδίου, συνεπώς πρωτεΐνες που φέρουν μεγάλο αριθμό υδρόφοβων περιοχών εμφανίζουν και μεγαλύτερη ικανότητα απορρόφησης λιπαρών. Αξίζει να σημειωθεί ότι για το μέγεθος των σωματιδίων ξηρής πρωτεΐνης μπορεί επίσης να επηρεάσει την απορρόφηση του ελαίου. Συγκεκριμένα, καθώς το μέγεθος των σωματιδίων μειώνεται, παρατηρείται υψηλότερη ικανότητα απορρόφησης ελαίου (Yada, 2018) (Zhang et al., 2021).

2. ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

2.1. Θρεπτικότητα πρωτεϊνών

Οι πρωτεΐνες είναι απαραίτητο κομμάτι της ανθρώπινης διατροφής. Εκτός από πηγή ενέργειας, συμβάλλουν στην παροχή των απαραίτητων αμινοξέων και του αζώτου για τη σύνθεση των πρωτεϊνών του σώματος και κατ' επέκταση την ανάπτυξη του οργανισμού. Η πρόσληψη αζώτου στηρίζεται σε δύο ενδογενείς κύκλους που καθορίζουν εν τέλει τη διαδικασία σύνθεσης των πρωτεϊνών του σώματος, όπως είναι:

- η ισορροπία μεταξύ πρόσληψης και απέκκρισης αζώτου
- η ισορροπία μεταξύ πρωτεϊνικής σύνθεσης και διάσπασης

Γενικά, σε όλες τις ηλικίες, σε υγιή άτομα, τα επίπεδα πρωτεΐνης τροφίμων που είναι απαραίτητα για την κάλυψη των αναγκών του οργανισμού σε άζωτο και αμινοξέα ανέρχονται στα 0,8 g πρωτεΐνης/kg/day (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019) (Yada, 2018) (Fukagawa & Yu, 2009).

Αν και η ποιότητα των πρωτεϊνών των τροφίμων επηρεάζεται από τη βιοδιαθεσιμότητα του συνόλου των αμινοξέων τους, εν τούτοις καθορίζεται πρωτίστως από την περιεκτικότητά τους σε απαραίτητα αμινοξέα. Αξίζει να σημειωθεί ότι η θρεπτική αξία των πρωτεϊνών είναι ιδανική όταν περιέχει όλα τα απαραίτητα αμινοξέα σε αναλογίες που συμβάλλουν σε βέλτιστους ρυθμούς πρωτεϊνικής σύνθεσης και βέλτιστης ικανότητας συντήρησης του οργανισμού. Η ανάγκη για απαραίτητα αμινοξέα εκφράζεται μέσω του λόγου απαραίτητων αμινοξέων προς τα συνολικά αμινοξέα και είναι μεγαλύτερη στα παιδιά, όπου $AA/\Sigma A = 37\%$ για τα βρέφη και

AA/ΣA= 15% για τους ενήλικες (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007) (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019).

Ο προσδιορισμός της θρεπτικής αξίας των πρωτεϊνών πραγματοποιείται μέσω βιολογικών, χημικών και ενζυμικών μεθόδων. Οι βιολογικές μέθοδοι βασίζονται στην αύξηση βάρους ή στη συγκράτηση αζώτου και οι δείκτες της συγκεκριμένης κατηγορίας είναι οι εξής:

- Η βιολογική αξία ορίζεται ως η αναλογία της απορροφούμενης πρωτεΐνης από ένα τρόφιμο, σε σχέση με αυτήν που τελικά ενσωματώνεται στις πρωτεΐνες του σώματος, δηλαδή:

$$BV = \frac{\text{Συγκρατούμενο άζωτο}}{\text{Απορροφημένο άζωτο}} \cdot 100 (\%)$$

- Ο συντελεστής αποτελεσματικότητας (PER) ορίζεται ως το βάρος (σε γραμμάρια) που λαμβάνεται ανά γραμμάριο πρωτεΐνης που καταναλώνεται:

$$PER = \frac{\text{Αύξηση βάρους}}{\text{Βάρος πρωτεΐνης}}$$

Συγκεκριμένα, μία πρωτεΐνη τροφίμων θεωρείται καλής ποιότητας όταν PER = 2.5 και BV = 85 – 98 %.

- Η καθαρή χρησιμοποιήσιμη πρωτεΐνη (NPU) ορίζεται ως το ποσοστό πρωτεΐνης που συγκρατείται στον οργανισμό σε συνθήκες περιορισμένης πρόσληψης πρωτεΐνης, δηλαδή:

$$NPU = \frac{\text{Συγκρατούμενη ποσότητα αζώτου}}{\text{Συνολική ποσότητα αζώτου στο τρόφιμο}} \cdot 100 (\%)$$

Οι βιολογικές μέθοδοι είναι ακριβές και χρονοβόρες. Οι χημικές μέθοδοι στηρίζονται στον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των πρωτεϊνών σε αμινοξέα σε σύγκριση με την αντίστοιχη περιεκτικότητα των απαραίτητων αμινοξέων που φέρει μία ιδανική πρωτεΐνη αναφοράς σύμφωνα με τον FAO. Χαρακτηριστικό παράδειγμα χημικού δείκτη είναι το εξής:

- Το χημικό σκόρ (CS) αντιστοιχεί στην εκτιμώμενη ποσότητα πρωτεΐνης ή μείγματος πρωτεϊνών τροφίμων που απαιτείται για την κάλυψη της ημερήσιας απαίτησης του περιοριστικού αμινοξέος και ορίζεται ως:

$$CS = \frac{\frac{\text{mg}}{\text{g πρωτεΐνης}} \text{ περιοριστικού αμινοξέος}}{\frac{\text{mg}}{\text{g πρωτεΐνης}} \text{ του ίδιου αμινοξέος στο FAO}}$$

Αξίζει να σημειωθεί ότι ως περιοριστικό αμινοξύ ή περιοριστικός παράγοντας μίας πρωτεΐνης ορίζεται ως το απαραίτητο αμινοξύ που βρίσκεται στην πρωτεΐνη σε

μικρότερη αναλογία σε σχέση με την ποσότητα του αμινοξέος στην πρότυπη πρωτεΐνη αναφοράς του FAO (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007) (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019) (Ribarova, 2018).

2.2. Συστήματα πρωτεϊνών τροφίμων

Τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, όπως το κρέας, τα γαλακτοκομικά προϊόντα, το αυγό και τα αλιευτικά προϊόντα περιλαμβάνουν πρωτεΐνες υψηλότερης ποιότητας για τον ανθρώπινο οργανισμό σε σχέση με τα τρόφιμα φυτικής προέλευσης, καθώς περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα σε επίπεδα μεγαλύτερα από τα επίπεδα αναφοράς FAO/WHO/UNU και το σύνολο των αμινοξέων που έχουν πληρεί τα κριτήρια βιοδιαθεσιμότητας. Ωστόσο, οι πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης, αν και εμφανίζουν υψηλότερη ζήτηση, θεωρούνται γενικά λιγότερο περιβαλλοντικά βιώσιμες. Συνεπώς, η σταδιακή μετάβαση από τις ζωικές πηγές στις φυτικές πηγές είναι επιθυμητή για τη διατήρηση της περιβαλλοντικής σταθερότητας, την ικανοποίηση υψηλότερης ζήτησης των καταναλωτών και την αντιμετώπιση του προβλήματος του υποσιτισμού (Langyan et al., 2022) (Lv et al., 2021) (Damodaran, Parkin & Fennema, 2007).

Χαρακτηριστικά παραδείγματα τροφίμων ζωικής και φυτικής προέλευσης αναλύονται παρακάτω.

2.2.1. Τρόφιμα ζωικής προέλευσης

2.2.1.1. Κρέας

Οι βασικές κατηγορίες κρέατος που υπάρχουν είναι το κόκκινο κρέας, τα πουλερικά (ή αλλιώς λευκό κρέας) καθώς και το κρέας από λιγότερο συμβατικές πηγές. Το κρέας αποτελείται από το μυϊκό ιστό των ζώων καθώς και το συναφές λίπος που είναι είτε με τη μορφή λιπώδους ιστού, είτε με τη μορφή ενδομυϊκού λίπους. Η υπεροχή του κρέατος έναντι των εναλλακτικών πηγών πρωτεϊνών τροφίμων, όπως τα λαχανικά, οι ξηροί καρποί ή τα όσπρια, οφείλεται στο ιδιαίτερο θρεπτικό προφίλ που εμφανίζει σε άπαχη μορφή, περιέχοντας 18-20% πρωτεΐνη επί υγρής βάσης (Gibson, & Newsham, 2018a) (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019).

Συγκεκριμένα, το κρέας έχει τρεις κύριες πρωτεϊνικές ομάδες:

- τις μυοϊνδικές πρωτεΐνες (κυρίως μυοσίνη και ακτίνη) που αναλογούν περίπου στο 50%-55% της συνολικής πρωτεΐνης κρέατος,

- τις σαρκοπλασματικές πρωτεΐνες (όπως η αιμοσφαιρίνη και η μυοσφαιρίνη) που αναλογούν περίπου στο 30%-34% του κρέατος
- τις πρωτεΐνες συνδετικού ιστού (κυρίως κολλαγόνο και ζελατίνη) που αποτελούν το υπόλοιπο 10%-15% των πρωτεϊνών του κρέατος.

Οι μυοϊνιδικές πρωτεΐνες συμβάλλουν στον σχηματισμό ενός τρισδιάστατου δικτύου που βοηθά στη συγκράτηση νερού στο εσωτερικό και στην επιφάνεια του κρέατος καθορίζοντας τη γευστικότητα και την τρυφερότητά του. Όσον αφορά τις σαρκοπλασματικές πρωτεΐνες, η δράση τους σχετίζεται με τον κόκκινο χρωματισμό του νωπού κρέατος και τον καφέ χρωματισμό του μαγειρεμένου κρέατος (Lv et al., 2021) (Gibson, & Newsham, 2018a).

2.2.1.2. Γάλα

Το γάλα περιέχει 3-4% πρωτεΐνη και αποτελείται από δύο κυρίαρχα πρωτεϊνικά κλάσματα, την καζεΐνη και τις πρωτεΐνες ορού γάλακτος, όπου περίπου το 82% αυτού του ποσοστού αναλογεί στην καζεΐνη ενώ το υπόλοιπο 18% αναλογεί στις πρωτεΐνες ορού γάλακτος (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019) (Gibson, & Newsham, 2018b).

Η καζεΐνη ανήκει στην οικογένεια των φωσφοροπρωτεϊνών και βρίσκεται υπό τη μορφή μικκυλίων (εναιώρημα κολλοειδών σωματιδίων) στην υδατική φάση του γάλακτος. Η υψηλή περιεκτικότητα της καζεΐνης σε φωσφορικά άλατα επιτρέπει στο γάλα να συγκρατεί μεγαλύτερη ποσότητα ασβεστίου, γεγονός που συμβάλλει στην πήξη της πυτιάς του γάλακτος και κατ' επέκταση στην παρασκευή γαλακτοκομικών προϊόντων και ιδίως των τυριών.

Αντίστοιχα, οι κυρίαρχες πρωτεΐνες ορού γάλακτος, όπως είναι η β-λακτοσφαιρίνη και η α-λακταλβουμίνη, βρίσκονται σε διαλυτή μορφή στην υδατική φάση του γάλακτος. Οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος αξιοποιούνται σε μετουσιωμένη κατάσταση καθώς τείνουν να συσσωματώνονται με τις πρωτεΐνες κ-καζεΐνης οδηγώντας στο σχηματισμό συμπλόκων, τα οποία βοηθούν στην παραγωγή επιδόρπιων με βάση το γάλα (Lv et al., 2021) (Gibson, & Newsham, 2018b).

2.2.1.3. Αυγό

Η περιεκτικότητα του αυγού σε πρωτεΐνη ανέρχεται κατά προσέγγιση στο 12-13% και αποτελείται από δύο κυρίαρχα πρωτεϊνικά κλάσματα, τις πρωτεΐνες του

λευκώματος του αυγού (μία υδαρή λευκή ουσία που περιβάλλει μία πηκτή λευκή ουσία) και τις πρωτεΐνες του κρόκου. Συγκεκριμένα, στο ρευστό τμήμα του αυγού ο κρόκος καταλαμβάνει το 35% και αντίστοιχα το λεύκωμα αποτελεί το υπόλοιπο 65% (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019) (Gibson, & Newsham, 2018).

Το λεύκωμα του αυγού είναι το πιο ωφέλιμο συστατικό και περιέχει δύο κατηγορίες πρωτεϊνών, τις αλβουμίνες και τις μυκοπρωτεΐνες ή βλεννοπρωτεΐνες. Ειδικότερα οι κυριότερες πρωτεΐνες του λευκώματος του αυγού είναι:

- Η ωαλβουμίνη αναλογεί στο 54% της πρωτεΐνης του λευκώματος του αυγού, συνεισφέροντας σημαντικά στη γεύση των αυγών. Η ωαλβουμίνη εμφανίζει καλή ικανότητα σχηματισμού αφρού και πηκτής καθώς και καλή γαλακτωματοποιητική ικανότητα.

- Η ωοτρανσεφερρίνη αποτελεί το 12% της πρωτεΐνης του λευκώματος του αυγού και μετουσιώνεται εύκολα με την επιβολή θέρμανσης.

- Το ωομυκοειδές είναι μία γλυκοπρωτεΐνη που αναλογεί στο 11% της πρωτεΐνης του λευκώματος αυγού και αποτελεί τον κύριο παράγοντα σχηματισμού πηκτής.

- Η λυσοζύμη αναλογεί στο 3,5% της συνολικής πρωτεΐνης. Αποτελεί ένα ένζυμο που βοηθά στη διάσπαση των βακτηριακών κυτταρικών τοιχωμάτων και συμβάλλει στη σταθεροποίηση του σχηματισμού αφρού.

- Η ωομυκίνη αποτελεί περίπου το 1,5% της αλβουμίνης και τείνει να έχει τη μεγαλύτερη επιρροή στην πήξη του λευκώματος του αυγού.

Ο κρόκος αυγού αποτελεί ένα γαλάκτωμα λίπους σε νερό. Αποτελείται από λιποπρωτεΐνες, όπως η λιποβιτελλίνη και η λιποβιτελλενίνη, που αποδίδουν στον κρόκο αξιοσημείωτη γαλακτωματοποιητική ικανότητα καθώς και φωσφοροπρωτεΐνες, όπως η φωσβιτίνη, που παρέχουν αντιοξειδωτική δράση (Gibson, & Newsham, 2018) (Lv et al., 2021) (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011).

2.2.1.4. Ψάρι

Το ψάρι περιέχει 40-60% εδάδιμης σάρκα που είναι συγκριτικά πιο εύπεπτη από εκείνη των θηλαστικών και επομένως το ψάρι έχει πολύ μικρότερη διατροφική ικανότητα κορεσμού. Παράλληλα, η βιολογική αξία των ιχθυοπρωτεϊνών είναι αντίστοιχη με αυτή των ζωικών, αλλά αυτές δεν είναι τόσο σταθερές και υπόκεινται εύκολα σε αλλοιώσεις (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011) (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019).

Η περιεκτικότητα των ψαριών σε ακατέργαστη πρωτεΐνη είναι 17-20%, ωστόσο η περιεκτικότητα σε πρωτεϊνικό άζωτο του μυϊκού ιστού των ψαριών κυμαίνεται μεταξύ του 2% και 3%. Χαρακτηριστικά, οι σαρκοπλασματικές πρωτεΐνες αναλογούν στο 20-30% της ολικής πρωτεΐνης του μυϊκού ιστού και αποτελούνται από ένζυμα που υπάρχουν και μυϊκό ιστό των θηλαστικών. Οι συσταλτές πρωτεΐνες αποτελούν το 65-75% της πρωτεΐνης, ενώ οι πρωτεΐνες του συνδετικού ιστού αντιστοιχούν σε ένα ποσοστό 3% της συνολικής πρωτεΐνης. Το κολλαγόνο είναι η σημαντικότερη πρωτεΐνη του συνδετικού ιστού συμβάλλοντας στη συνοχή και στην τρυφερότητα του φιλέτου ψαριού (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011) (Lv et al., 2021).

2.2.2. Τρόφιμα φυτικής προέλευσης

2.2.2.1. Δημητριακά

Τα θρεπτικά συστατικά που παρέχονται από την κατανάλωση δημητριακών, όπως το σιτάρι, το ρύζι και το καλαμπόκι, στις αναπτυγμένες χώρες προσεγγίζουν το 50% της ημερήσιας απαίτησης σε υδατάνθρακες, ενώ παράλληλα καλύπτουν και το ένα τρίτο της ενεργειακής απαίτησης της ανθρώπινης διατροφής σε πρωτεΐνες. Παρόλα αυτά, οι πρωτεΐνες των δημητριακών περιέχουν γενικά λιγότερη ποσότητα λυσίνης που υποβαθμίζει τη θρεπτική αξία τους (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011) (Langyan et al., 2022).

Μεταξύ των δημητριακών, το σιτάρι είναι η πιο σημαντική καλλιέργεια παγκοσμίως. Η περιεκτικότητα του σιταριού σε πρωτεΐνη κυμαίνεται από 8% έως 15%, ανάλογα με την ποικιλία. Το 80% των πρωτεϊνών του σιταριού αναλογούν στη γλουτένη, η οποία μπορεί να απομονωθεί από την έκπλυση του σιτάλευρου με νερό. Η γλουτένη έχει την ιδιότητα να σχηματίζει μία συνεκτική, ιξωδοελαστική πρωτεϊνική δομή υπό τη μορφή ζυμαριού που επιτρέπει στο σιτάρι να χρησιμοποιείται για την παραγωγή προϊόντων αρτοποιίας. Η ικανότητα αυτή της γλουτένης αποδίδεται στις επιμέρους πρωτεΐνες της, όπως είναι η γλοιαδίνη και η γλουτενίνη, που βρίσκονται σε αναλογία 1:1 (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019) (Małeckı et al., 2021).

Το ρύζι έχει τη δεύτερη μεγαλύτερη συγκομιδή στον κόσμο μετά το σιτάρι. Η πρωτεΐνη ρυζιού περιέχει τη δεύτερη υψηλότερη περιεκτικότητα σε λυσίνη και προτιμάται έναντι άλλων τροφίμων που εντάσσονται στην κατηγορία των δημητριακών. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη στο ρύζι είναι σχετικά χαμηλή, περίπου

8%. Αντίστοιχα, το καλαμπόκι είναι ένα από τα πιο σημαντικά τρόφιμα φυτικής προέλευσης που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία και η περιεκτικότητά του σε πρωτεΐνη κυμαίνεται μεταξύ 9% και 12% (Mañeckí et al., 2021).

2.2.2.2. Λαχανικά και φρούτα

Η περιεκτικότητα των λαχανικών σε πρωτεΐνη κυμαίνεται μεταξύ 1% και 2%. Το πρωτεϊνικό κλάσμα αποτελείται κατά ένα μεγάλο βαθμό από ένζυμα τα οποία συμβάλλουν στη χαρακτηριστική γεύση και άρωμα ή στο σχηματισμό ανεπιθύμητων γεύσεων και οσμών, στο μαλάκωμα των ιστών και στον αποχρωματισμό των λαχανικών (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019) (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011).

Αντίστοιχα, η σύσταση των φρούτων μπορεί να επηρεαστεί σε μεγάλο βαθμό από την ποικιλία και την ωριμότητά τους. Ενδεικτικά, η περιεκτικότητα των φρούτων σε πρωτεΐνη είναι 1-2%, όπου το πρωτεϊνικό κλάσμα συμμετέχει κυρίως στο μεταβολισμό των υδατανθράκων και των λιπιδίων των φρούτων (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019) (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011).

2.2.2.3. Ελαιούχοι σπόροι

Η κατανάλωση τροφίμων φυτικής προέλευσης αυξάνεται συνεχώς, και οι ελαιούχοι σπόροι αποτελούν μία σημαντικά αναδυόμενη πηγή θρεπτικής αξίας, η οποία ωστόσο υποβαθμίζεται από αντιθρεπτικούς παράγοντες όπως οι αναστολείς ενζύμων, οι αιματογλουτινίνες, οι σαπωνίνες καθώς και η έλλειψή τους σε απαραίτητα αμινοξέα. Παρόλα αυτά, συνεχώς επιδιώκεται η εφαρμογή νέων μεθόδων σε βιομηχανική κλίμακα που καταστρέφουν ή αδρανοποιούν τους αντιθρεπτικούς παράγοντες και παράλληλα επιτρέπουν την μεταποίηση και την καλύτερη αξιοποίησή τους.

Οι ελαιούχοι σπόροι γίνονται ολοένα και περισσότερο δημοφιλή πρόσθετα συστατικά τροφίμων. Συσσωρεύουν περίπου το 15% του λίπους, αλλά ταυτόχρονα αποτελούν πηγή πολύτιμης πρωτεΐνης. Οι πρωτεΐνες των σπόρων ταξινομούνται με βάση τη λειτουργία τους ως βιολογικά ενεργές (π.χ. ένζυμα), δομικές ή αποθηκευτικές. Οι πρωτεΐνες αποθηκευτικής φύσης λαμβάνονται υπόψη ως κατάλληλες για ανθρώπινη κατανάλωση. Στους περισσότερους ελαιούχους σπόρους, οι πρωτεΐνες αποθηκευτικής φύσης αναλογούν στο 50% της συνολικής πρωτεΐνης και εμπίπτουν σε τέσσερις κύριες κατηγορίες με βάση διαλυτότητά τους: (α) τις υδατοδιαλυτές αλβουμίνες, (β) τις

διαλυτές σε άλατα γλοβουλίνες, (γ) τις προλαμίνες που είναι διαλυτές σε υδατικό διάλυμα αλκοόλης 60-80% και (δ) τις γλουτελίνες που είναι διαλυτές σε αραιωμένα οξέα και αλκάλια. Τέσσερα πρωτεϊνικά κλάσματα με συντελεστές καταβύθισης 2S, 7S, 11S (12S) και 15S είναι τα βασικά στους ελαιούχους σπόρους. Τα δύο κυρίαρχα πρωτεϊνικά κλάσματα είναι το 11S και το 2S και οι αναλογίες τους είναι μεταβλητές μεταξύ των διαφόρων ειδών ελαιούχων σπόρων (Kotecka-Majchrzak et al., 2020) (Yada, 2018) (Tan et al., 2021).

Η μέση περιεκτικότητα των ελαιούχων σπόρων σε ακατέργαστη πρωτεΐνη είναι 20–40%. Χαρακτηριστικά ο λιναρόσπορος περιέχει πρωτεΐνη υψηλής βιολογικής αξίας που κυμαίνεται από 18% έως 19% ενώ ο ηλιόσπορος περιέχει 10–27% πρωτεΐνη και η σόγια έχει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (περίπου 35–40%), που καθορίζεται από την ποικιλία και τις συνθήκες ανάπτυξής της (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019) (Langyan et al., 2022) (Małeckı et al., 2021).

Στο σύνολο των ελαιούχων σπόρων εντάσσεται και η ελαιοκράμβη, η οποία αποτελεί και το θέμα ανάπτυξης της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας.

3. ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ–ΧΡΗΣΕΙΣ

3.1. Πρωτεϊνικά προϊόντα και χρήσεις στα τρόφιμα

Όπως ισχύει στην περίπτωση των ελαιούχων σπόρων έτσι και στο γενικότερο σύνολο των συστημάτων τροφίμων, αναζητούνται και εφαρμόζονται νέες μέθοδοι για την παραλαβή και την αξιοποίηση ακατέργαστης πρωτεΐνης που διακρίνεται για την υψηλή οικονομική και θρεπτική αξία της καθώς και τη λειτουργικότητά της. Ανάλογα με τις τεχνικές που έχουν αναπτυχθεί σε βιομηχανική κλίμακα, λαμβάνονται πρωτεϊνικά άλευρα (flours), συμπυκνώματα (concentrates) και υπερσυμπυκνώματα (isolates) με υψηλότερη περιεκτικότητα πρωτεΐνης εδώδιμης ποιότητας (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019).

3.1.1. Πρωτεϊνικά άλευρα

Ως πρωτεϊνικά άλευρα χαρακτηρίζονται υλικά στερεάς κατάστασης που περιέχουν διακριτά σωματίδια μεγέθους που κυμαίνεται από νανόμετρα έως χιλιοστόμετρα με περιεκτικότητα μεγαλύτερη από 45% πρωτεΐνης. Προκύπτουν από τρόφιμα σε στερεή

ή υγρή κατάσταση που υποβάλλονται σε διαδικασία ξήρανσης, άλεσης, κονιοποίησης ή κρυστάλλωσης (Bhandari, 2013) (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019).

Τα πρωτεϊνικά άλευρα τείνουν να παραμορφώνονται ευκολότερα με την επιβολή πίεσης. Παράλληλα λόγω της μεγαλύτερης επιφάνειας ανά όγκο που εμφανίζουν σε σύγκριση με τον κύριο όγκο του τροφίμου, έχουν μεγαλύτερη ικανότητα ενυδάτωσης. Επιπρόσθετα, τα πρωτεϊνικά άλευρα μικρού μεγέθους και χαμηλής πυκνότητας εμφανίζουν μεγαλύτερη ικανότητα απορρόφησης λιπαρών, σε αντίθεση με τις πρωτεΐνες μεγαλύτερου μεγέθους και υψηλής πυκνότητας (Yada, 2018) (Bhandari, 2013).

3.1.2. Πρωτεϊνικά συμπυκνώματα και υπερσυμπυκνώματα

Τα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα λαμβάνονται όταν μη πρωτεϊνικά συστατικά όπως υδατάνθρακες, διαλυτά μέταλλα, αντιθρεπτικοί παράγοντες και ορισμένες αζωτούχες ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους απομακρύνονται από τα τρόφιμα ενώ κατεργάζονται με υδατικά-αλκοολικά διαλύματα, όξινα ή βασικά διαλύματα με μέγιστη περιεκτικότητα 65-75% πρωτεΐνης. Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα είναι η πιο εξευγενισμένη μορφή πρωτεϊνικών προϊόντων που περιέχουν τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, αλλά σε αντίθεση με τα πρωτεϊνικά άλευρα και τα συμπυκνώματα δεν περιέχουν διαιτητικές ίνες. Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα έχουν συγκέντρωση πρωτεΐνης σε ξηρή βάση που υπερβαίνει το 75% και λαμβάνονται μέσω διαλυτοποίησης σε υδατικά μέσα και καταβύθισης των αζωτούχων συστατικών με ρύθμιση του pH στο ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα εμφανίζουν ορισμένα πλεονεκτήματα που σχετίζονται με το χρώμα, τη γεύση και τις λειτουργικές ιδιότητες που διαθέτουν, με αποτέλεσμα να αποτελούν μία υποσχόμενη πηγή για την καταπολέμηση του προβλήματος του υποσιτισμού (Garba & Kaur, 2014) (Cruz Solorio et al., 2020).

3.2. Παραλαβή πρωτεϊνών από ελαιούχους σπόρους/υπολείμματα

Η κύρια αξιοποίηση των ελαιούχων σπόρων αφορά την εξαγωγή ελαίου μέσω διαφορετικών τεχνολογιών. Δεδομένου ότι τα παραπροϊόντα των ελαιούχων σπόρων περιέχουν σημαντικές ποσότητες πρωτεϊνών και διαφόρων συστατικών, αναζητούνται τεχνολογίες προκειμένου να αξιοποιηθεί η υψηλή θρεπτική αξία τους. Συνεπώς, τα

παραπροϊόντα των ελαιούχων σπόρων μπορούν να αποτελέσουν την πρώτη ύλη για την παραγωγή εμπλουτισμένων τροφίμων (Lafarga et al., 2021).

Αρχικά πραγματοποιείται η συγκομιδή των ελαιούχων σπόρων και ακολουθεί το στάδιο του καθαρισμού τους. Οι εισερχόμενοι ελαιούχοι σπόροι καθαρίζονται προκειμένου να απομακρυνθούν προσμίξεις όπως κλωνάρια, κομμάτια μίσχων, χώμα και σκόνη. Ο καθαρισμός γίνεται κυρίως με δονούμενους διαχωριστές για τα περισσότερα είδη ελαιούχων σπόρων, αλλά μερικές φορές αξιοποιούνται και θάλαμοι αναρρόφησης για τον καθαρισμό προσμίξεων μικρού βάρους από βαρύτερους ελαιούχους σπόρους (Williams, 2013).

Έπειτα, οι ελαιούχοι σπόροι υποβάλλονται στο στάδιο της αποφλοίωσης. Η αποτελεσματική απομάκρυνση του φλοιού των ελαιούχων σπόρων πραγματοποιείται μέσω μίας διαδικασίας ξήρανσης που προηγείται της αποφλοίωσης. Οι παραλαμβανόμενοι φλοιοί αποτελούν τα πρώτα παραπροϊόντα που παράγονται κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας ελαιούχων σπόρων. Αντιπροσωπεύουν περίπου το 5-30% του συνολικού βάρους των ελαιούχων σπόρων και περιέχουν υπολογίσιμες ποσότητες φυτικών ινών και πρωτεΐνης καθώς και μικρά ποσοστά ελαίου (Lafarga et al., 2021) (Williams, 2013).

Το στάδιο της αποφλοίωσης των ελαιούχων σπόρων ακολουθεί η θραύση των πυρήνων τους σε μικρότερα σωματίδια και έπειτα η φολιδοποίησή τους προς το σχηματισμό λεπτών νιφάδων/φολιδών. Η διαδικασία της θραύσης και της φολιδοποίησης γίνεται σε διάταξη κυλινδρόμυλων που τοποθετούνται παράλληλα αγγίζοντας ο ένας τον άλλον και περιστρέφονται προς αντίθετη κατεύθυνση, επιτρέποντας στον ελαιούχο σπόρο να περνά ανάμεσά τους. Η φολιδοποίηση ευνοεί και το ομοιόμορφο μαγείρεμα των ελαιούχων σπόρων που ακολουθεί, το οποίο αποσκοπεί στην απελευθέρωση ελαίου από τον πυρήνα των ελαιούχων σπόρων και την αδρανοποίηση των ενζύμων και πραγματοποιείται σε οριζόντιους φούρνους ή σε φούρνους που τοποθετούνται σε στοιβάδες (Williams, 2013).

Συμπληρωματικά, το στάδιο της φολιδοποίησης συμβάλλει στην ομοιόμορφη διείσδυση του διαλύτη και την εκχύλιση του ελαίου. Όταν οι φολίδες καθίστανται κορεσμένες σε οργανικούς διαλύτες (π.χ εξάνιο) απομακρύνεται η μεγαλύτερη ποσότητα του περιεχόμενου ελαίου και λαμβάνεται η πίτα ελαιούχων σπόρων ως τελικό παραπροϊόν της συνολικής επεξεργασίας.

Η πίτα ελαιούχων σπόρων που λαμβάνεται μέσω κατεργασίας με διαλύτες είναι πλούσια σε πρωτεΐνες με χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά και αποτελεί την πρώτη ύλη για την παραγωγή πρωτεϊνικών προϊόντων. Εναλλακτικά, η πίτα ελαιούχου σπόρου λαμβάνεται με μηχανικές μεθόδους και είναι πλούσια σε φυτικές ίνες και έλαια, αλλά έχει χαμηλότερα επίπεδα πρωτεΐνης από αυτά που λαμβάνονται μέσω εκχύλισης με διαλύτη (Lafarga et al., 2021) (Williams, 2013).

3.3. Εισαγωγικά για την ανάκτηση φυσικών συστατικών των τροφίμων

Η ανάπτυξη της πράσινης τεχνολογίας έχει επηρεάσει σημαντικά την ανάκτηση φυσικών ενώσεων που προορίζονται για τη βιομηχανία τροφίμων. Η καινοτομία στις τεχνικές εκχύλισης που αξιοποιούνται για το συγκεκριμένο σκοπό οφείλεται τόσο στην πρόοδο της πράσινης χημείας όσο και στο αυξανόμενο ενδιαφέρον των καταναλωτών για πιο υγιεινά και βιώσιμα προϊόντα, χωρίς χημικά πρόσθετα. Η χρήση χημικών προσθέτων στη βιομηχανία τροφίμων αποσκοπεί στη βελτίωση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων των τροφίμων και στην παράταση της διάρκειας ζωής τους. Η συχνή κατανάλωσή τους είναι γνωστό ότι είναι δυνητικά επικίνδυνη για την υγεία του ανθρώπου και για αυτό η βιομηχανία τροφίμων επισπεύδει τις προσπάθειές της για την αντικατάσταση των χημικών προσθέτων με τις αντίστοιχες φυσικές ενώσεις, όπως χρωστικές ουσίες, φαινολικές ενώσεις, βιταμίνες, πολυσακχαρίτες, ακόρεστα λιπαρά οξέα καθώς και πρωτεΐνες που λαμβάνονται από τα διάφορα συστήματα τροφίμων και επιτελούν τους ίδιους σκοπούς. Η εφαρμογή των πράσινων νέων τεχνολογιών ελαχιστοποιεί τις μεταβολές που σχετίζονται με τις φυσικοχημικές και τις οργανοληπτικές ιδιότητες καθώς και τη θρεπτικότητα των πρώτων υλών, μειώνοντας ταυτόχρονα τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις. Το λειτουργικό κόστος που συνδέεται με την υλοποίηση και την εφαρμογή αυτών των καινοτόμων τεχνολογιών αποτελεί σημαντική πρόκληση για τις βιομηχανίες τροφίμων και εμποδίζει την αποκλειστικότητά τους έναντι των συμβατικών μεθόδων (Laganà et al., 2017) (Picot-Allain et al., 2021).

Το κεφάλαιο που ακολουθεί εστιάζει σε μία ανασκόπηση των συμβατικών μεθόδων εκχύλισης καθώς και των διαφόρων τύπων τεχνικών πράσινης εκχύλισης πρωτεϊνικών τροφίμων που αποτελούν το πρώτο στάδιο προς την απομόνωση και παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.

3.3.1. Συμβατικές τεχνολογίες-μέθοδοι εκχύλισης

Η επιλογή των συμβατικών μεθόδων εκχύλισης που εφαρμόζονται στο σύνολο των οργανικών ενώσεων καθορίζεται τόσο από την πολυπλοκότητα και τη φύση της πρώτης ύλης που αξιοποιείται καθώς και το είδος της οργανικής ουσίας που χρήζει απομόνωσης. Ειδικότερα, στην περίπτωση των πρωτεϊνών αξιοποιούνται χημικές μέθοδοι που ταξινομούνται με βάση τη φύση του διαλύτη εκχύλισης που χρησιμοποιείται όπως νερό, οξέα, οργανικοί και αλκαλικοί διαλύτες. Οι χημικές μέθοδοι υλοποιούνται με γνώμονα τη μέγιστη ανάκτηση των πρωτεϊνών. Η συνολική διαδικασία συνοδεύεται από την επίδραση της θερμοκρασίας και της ανάδευσης του δείγματος που διευκολύνουν την επιλεκτική και αποτελεσματική μεταφορά μάζας των ενώσεων υψηλής αξίας από τη μήτρα της πρώτης ύλης. Παράλληλα, οι χημικές μέθοδοι συνδυάζονται και με άλλες μεθόδους για την επίτευξη του αρχικού σκοπού (Garcia-Vaquero et al., 2020) (Kumar et al., 2021).

Χαρακτηριστικά παραδείγματα συμβατικής εκχύλισης είναι τα εξής:

- η υδατική εκχύλιση που αποτελεί την πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδο λόγω της φιλικότητας του διαλύτη προς το περιβάλλον καθώς και της υψηλής διαλυτότητας και σταθερότητας των απομονωμένων πρωτεϊνών που επιτυγχάνει.
- η εκχύλιση με οργανικούς διαλύτες, όπως αιθανόλη, βουτανόλη και η ακετόνη, που είναι ενδεικτική για την απομόνωση πρωτεϊνών, οι οποίες εμφανίζουν ικανότητα απορρόφησης λιπαρών και περιέχουν μη πολικές ή πολικές πλευρικές αλυσίδες.
- η αλκαλική εκχύλιση που είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη συμβατική μέθοδος για την εκχύλιση πρωτεϊνών φυτικής προέλευσης επιτυγχάνοντας υψηλότερη απόδοση εκχύλισης σε αντίθεση με τους οργανικούς διαλύτες. Αλκαλικά διαλύματα όπως NaOH και KOH χρησιμοποιούνται συνήθως για τη διατήρηση του pH σε βασικές τιμές, με τη θερμοκρασία να διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο. Αξίζει να σημειωθεί ότι η αναλογία δείγματος προς διαλύτη, η συγκέντρωση των αλκαλικών διαλυμάτων, το χρονικό διάστημα και η θερμοκρασία μπορούν να βελτιστοποιηθούν για να επιτευχθεί η μέγιστη απόδοση πρωτεΐνης σε χαμηλό κόστος. Σε κάθε περίπτωση, η παραλαβή των εκχυλισμάτων και των πρωτεϊνικών προϊόντων απαιτεί ορισμένα στάδια φυγοκέντρωσης προκειμένου να διαχωριστούν από τον κύριο όγκο του δείγματος (Kumar et al., 2021) (Garcia-Vaquero et al., 2020).

Οι συμβατικές τεχνικές εκχύλισης είναι χρονοβόρες, με υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις και δεν είναι φιλικές προς το περιβάλλον, λόγω της χρήσης οργανικών

διαλυτών, αλκαλικών διαλυμάτων και οξέων σε μεγάλες ποσότητες. Επιπρόσθετα, σε ορισμένες περιπτώσεις μειώνεται η πεπτικότητα των πρωτεϊνών και η συνολική ποιότητα των απομονωμένων πρωτεϊνών (Kumar et al., 2021). Συνεπώς νέες τεχνολογίες κερδίζουν συνεχώς έδαφος στη βιομηχανία τροφίμων.

3.3.2. Εκχύλιση με υπέρηχους (Ultrasound Assisted Extraction - UAE)

Στην επεξεργασία τροφίμων η εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους στηρίζεται στη δράση μηχανικών κυμάτων που έχουν συχνότητα (> 20 kHz) υψηλότερη από το ακουστικό εύρος συχνοτήτων της ανθρώπινης ακοής (20 Hz έως 20 kHz). Αυτά τα κύματα αποτελούνται από μία σειρά κύκλων συμπίεσης και αραιώσης που μπορούν να διαδοθούν μέσω στερεού, υγρού ή αερίου μέσου κύματα και εξάγουν ενώσεις-στόχους από μήτρες διαφόρων συστημάτων τροφίμων, με ιδιαίτερη αναφορά στα τρόφιμα φυτικής προέλευσης. Στην πλειοψηφία των εκχυλίσεων, η συγκεκριμένη πραγματοποιείται σε υδατόλουτρο υπέρηχων και στηρίζεται στη διάδοση ταλαντώσεων με την ταχύτητα του ήχου, προκαλώντας μετατόπιση και απομάκρυνση των μορίων από τις αρχικές θέσεις τους σε μία στερεή μήτρα (Srivastav et al., 2021) (Oliveira et al., 2021).

Η σπηλαιώση είναι ο κύριος μηχανισμός που εμπλέκεται στην εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους. Συγκεκριμένα στην περίπτωση μηχανικών κυμάτων υψηλής έντασης, η αρνητική πίεση κατά τη διάρκεια των κύκλων αραιώσης υπερβαίνει το μέγεθος των ελκτικών δυνάμεων που συγκρατεί τα μόρια μεταξύ τους, με αποτέλεσμα να απομακρύνονται και να δημιουργούνται φυσαλίδες σπηλαιώσης. Αυτές οι μικροφυσαλίδες συνενώνονται, και όταν το μέγεθός τους φτάσει σε ένα κρίσιμο σημείο, καταρρέουν κατά τη διάρκεια ενός κύκλου συμπίεσης δημιουργώντας παροδικά hot spots που επιταχύνουν τις διάφορες βιοχημικές αντιδράσεις, απελευθερώνοντας παράλληλα μεγάλες ποσότητες ενέργειας. Όταν οι φυσαλίδες καταρρέουν στην επιφάνεια ενός στερεού υλικού, η υψηλή πίεση και εκλυόμενη θερμοκρασία παράγουν κρουστικά κύματα (shock waves) που κατευθύνονται προς την επιφάνεια του στερεού και τα κυτταρικά τοιχώματα της στερεής μήτρας, με επακόλουθο την απελευθέρωση του κυτταρικού περιεχομένου στο υδατικό μέσο (Srivastav et al., 2021).

Η απόδοση της εκχύλισης υποβοηθούμενη με υπέρηχους επηρεάζεται από διάφορες παραμέτρους, όπως η μήτρα τροφίμων, οι φυσικές ιδιότητες του διαλύτη, ο χρόνος και

η θερμοκρασία κατεργασίας, η ισχύς και η συχνότητα των υπερήχων καθώς και ο τύπος εξοπλισμού που χρησιμοποιείται. Χαρακτηριστικά, χαμηλότερες συχνότητες δημιουργούν μεγαλύτερες φυσαλίδες με συνεπακόλουθο μία πιο βίαιη κατάρρευση των φυσαλίδων σπηλαίωσης με υψηλότερες τοπικές θερμοκρασίες και πιέσεις και υψηλότερες αποδόσεις. Όσον αφορά τη θερμοκρασία, οι υψηλές θερμοκρασίες συμβάλλουν στη διακοπή της αλληλεπίδρασης του διαλύτη και της μήτρας και βελτιώνουν τους ρυθμούς διάχυσης του διαλύτη, ενώ οι χαμηλές θερμοκρασίες βελτιώνουν τη σπηλαίωση. Ο μεγάλος χρόνος εκχύλισης βελτιώνει τις αποδόσεις εκχύλισης και μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στην εκχυλιζόμενη ένωση. Η φύση του διαλύτη έχει επιρροή στο φαινόμενο, ώστε ένας ιξώδης διαλύτης να μειώνει τη σπηλαίωση και ένας πτητικός διαλύτης να μπορεί να εξατμιστεί, εάν η εκχύλιση πραγματοποιείται σε υψηλότερη θερμοκρασία για μεγάλο χρονικό διάστημα. Τέλος, η εφαρμογή πολύ υψηλής ενέργειας μπορεί να σχηματίσει ένα στάσιμο σύνολο φυσαλίδων που επηρεάζουν αρνητικά την αποτελεσματικότητα της διαδικασίας (Picot-Allain et al., 2021) (Kentish & Feng, 2014) (Oliveira et al., 2021) (Tiwari, 2015).

Η εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπερήχους είναι μία οικονομικά αποδοτική και φιλική προς το χρήστη τεχνική ανάκτησης φυσικών ουσιών με εφαρμογές υψηλής κλίμακας στη βιομηχανία τροφίμων. Η μέθοδος απαιτεί λιγότερο χρόνο και χαμηλές θερμοκρασίες. Ως εκ τούτου, μπορεί να αξιοποιηθεί αποτελεσματικά επιτυγχάνοντας υψηλές αποδόσεις θερμοευαίσθητων πρωτεϊνών.

Στην περίπτωση των τροφίμων φυτικής προέλευσης, η παρατεταμένη χρήση των υπερήχων και η υψηλή ισχύς μπορεί να συμβάλλουν στη μείωση του μεγέθους αυτού. Οι υπερήχοι σχετίζονται με το σχηματισμό ριζών υδροξυλίου που είναι υπεύθυνες για την απελευθέρωση προϊόντων αποδόμησης που επηρεάζουν την ποιότητα των πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα την απώλεια αρώματος και την αλλαγή στο χρώμα, στη δομή και στην υφή των πρωτεϊνών (Oliveira et al., 2021) (Kumar et al., 2021).

3.3.3. Εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων (Microwave Assisted Extraction - MAE)

Η εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων (MAE) είναι μία τεχνική που συνδυάζει τη συμβατική εκχύλιση με διαλύτη με θέρμανση του δείγματος με μικροκύματα. Τα μικροκύματα είναι μη ιονίζουσες ηλεκτρομαγνητικές ακτινοβολίες με συχνότητα που κυμαίνεται από 300 MHz έως 300 GHz. Τα κύματα αυτά απορροφώνται από τη μήτρα

και μετατρέπονται σε θερμική ενέργεια στο εσωτερικό της, προκαλώντας εξάτμιση της περιεχόμενης υγρασίας και υψηλή πίεση στα τοιχώματα των κυττάρων. Η υψηλή πίεση αυξάνει το πορώδες των τοιχωμάτων των κυττάρων και προκαλεί διάρρηξη της μήτρας του τροφίμου, διευκολύνοντας την εκχύλιση των ενώσεων.

Η εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων πραγματοποιείται σε ανοιχτό ή κλειστό σύστημα δοχείων ανάλογα με τις συνθήκες θερμοκρασίας και πίεσης. Το ανοιχτό σύστημα είναι κατάλληλο για κατεργασίες σε συνθήκες περιβάλλοντος, ενώ τα κλειστά συστήματα είναι ιδανικά για συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας και υψηλής πίεσης. Στα πλεονεκτήματα αυτής της τεχνικής περιλαμβάνονται η υψηλή απόδοση, η ταχεία αύξηση της θερμοκρασίας, ο σύντομος χρόνος εκχύλισης, η καλύτερη παρακολούθηση της διαδικασίας, η χαμηλή κατανάλωση ενέργειας και το χαμηλό κόστος που την καθιστούν κατάλληλη τεχνολογία για την εξαγωγή διαφόρων ενώσεων, όπως πρωτεΐνες και αντιοξειδωτικές πολυφαινόλες. Ένα από τα μειονεκτήματα της εκχύλισης με τη βοήθεια μικροκυμάτων είναι η αποικοδόμηση ορισμένων ενώσεων λόγω της θερμότητας που παράγεται κατά την ακτινοβολήση των μικροκυμάτων (Oliveira et al., 2021) (Kumar et al., 2021) (Sarfarazi et al., 2020).

Η αποτελεσματικότητα της μεθόδου εξαρτάται από παράγοντες όπως η φύση του εκχυλιστικού, η ισχύς των μικροκυμάτων, η θερμοκρασία και ο χρόνος εκχύλισης, τα χαρακτηριστικά της μήτρας, η αναλογία στερεού–υγρού καθώς και η ανάδευση του συστήματος. Η απόδοση της εκχύλισης είναι συνήθως ανάλογη της ισχύος των μικροκυμάτων. Οι βέλτιστοι χρόνοι κατεργασίας κυμαίνονται από λίγα έως 30min. Η ανάδευση επηρεάζει τη διαδικασία εκχύλισης καθώς περιορίζει τις αρνητικές επιδράσεις που παρατηρούνται κατά την ανάκτηση των εκχυλισμάτων (Alfaro et al., 2003) (Moreira et al., 2017) (Oliveira et al., 2021).

3.3.4. Εκχύλιση με τη βοήθεια ενζύμων (Enzyme Assisted Extraction - EAE)

Τα ένζυμα είναι πρωτεϊνικά μόρια των οποίων η λειτουργία είναι να καταλύουν συγκεκριμένες χημικές αντιδράσεις δρώντας σε ένα συγκεκριμένο υπόστρωμα. Λόγω της ικανότητας αυτής, τα ένζυμα είναι σημαντικά για την τεχνολογία τροφίμων και χρησιμοποιούνται ευρέως για τη μετατροπή πρώτων υλών σε βελτιωμένα προϊόντα τροφίμων. Με την πρόοδο της τεχνολογίας, έχουν αναπτυχθεί νέες εφαρμογές καθώς και νέες πηγές για τη λήψη ενζύμων, με τα μικροβιακά ένζυμα να αποτελούν την

προτιμώμενη πηγή λόγω των πλεονεκτημάτων που παρουσιάζουν, μεταξύ των οποίων αξίζει να τονιστεί η εύκολη, επικερδής και συνεχής παραγωγή. Μεταξύ των νέων εφαρμογών των ενζύμων είναι η εκχύλιση ενώσεων ενδιαφέροντος, όπως πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες, φαινόλες και έλαια, από διάφορες πρώτες ύλες για να χρησιμοποιηθούν ως πρόσθετα στη βιομηχανία τροφίμων (Chaudhary, 2015) (Echave et al., 2020).

Η υποβοηθούμενη από ένζυμα εκχύλιση (EAE) στα τρόφιμα φυτικής προέλευσης βασίζεται στη δράση των ενζύμων στα κύρια συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος. Συγκεκριμένα παρατηρείται ενζυμική αποδόμηση των συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος (ημικυτταρίνη, κυτταρίνη και πηκτίνη) με αποτέλεσμα τη διάσπαση του τοιχώματος και την απελευθέρωση των κυτταρικών πρωτεϊνών. Μετά την απελευθέρωση αυτών των πρωτεϊνών, τα ένζυμα κλασματοποιούν τις πρωτεΐνες υψηλού μοριακού βάρους σε μικρότερα και πιο διαλυτά τμήματα, παρέχοντας έτσι ευνοϊκές συνθήκες εκχύλισης.

Σε κάθε μελέτη της ενζυμικής υποβοηθούμενης εκχύλισης, οι λειτουργικές συνθήκες που εξετάζονται είναι: η θερμοκρασία αντίδρασης, ο χρόνος εκχύλισης, το pH του συστήματος, η συγκέντρωση και το είδος του ενζύμου που θα χρησιμοποιηθεί (όπως είναι οι λιπάσες, οι κυτταρίνες και οι πρωτεάσες). Αξίζει να σημειωθεί ότι τα ένζυμα χρειάζονται ένα εύρος από όξινες και αλκαλικές τιμές pH για να λειτουργήσουν με τη βέλτιστη καταλυτική τους απόδοση. Για παράδειγμα, αρκετές πρωτεάσες λειτουργούν σε αλκαλικό περιβάλλον και έχουν βέλτιστο εύρος pH και θερμοκρασίας 8–10 και 45–60°C αντίστοιχα (Oliveira et al., 2021) (Kumar et al., 2021) (Echave et al., 2020).

Η μέθοδος εκχύλισης με τη βοήθεια ενζύμων έχει πλεονεκτήματα έναντι άλλων παραδοσιακών μεθόδων, καθώς διαθέτει υψηλή επιλεκτικότητα και αποτελεσματικότητα, είναι μία φιλική διαδικασία προς το περιβάλλον με ελάχιστη κατανάλωση ενέργειας και χημικών προϊόντων, έχει καλή απόδοση και δυνατότητα ανακύκλωσης της διαδικασίας. Τα λαμβανόμενα προϊόντα εμφανίζουν υψηλότερη καθαρότητα και καταλληλότητα για ανθρώπινη κατανάλωση. Η συγκεκριμένη μέθοδος έχει ορισμένα μειονεκτήματα, όπως το κόστος των ενζύμων, το μεγάλο χρόνο επεξεργασίας, η αυξημένη κατανάλωση ενέργειας, η έλλειψη γνώσης σχετικά με τις βέλτιστες ή συμβατές συνθέσεις ενζύμων για την κυτταρική διάσπαση και η αδυναμία πλήρους υδρόλυσης των δεσμών του φυτικού κυτταρικού τοιχώματος (Echave et al., 2020) (Oliveira et al., 2021).

3.3.5. Εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες

Οι συμβατικοί οργανικοί διαλύτες που χρησιμοποιούνται διακρίνονται για το χαμηλό κόστος και εξατμίζονται εύκολα. Επειδή τα επίπεδα υπολειμμάτων τους είναι υψηλά και η επακόλουθη ρύπανση είναι ανησυχητική, γίνονται προσπάθειες από τη βιομηχανία τροφίμων για την ανάπτυξη φιλικών προς το περιβάλλον. Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (DES) έχουν εμφανιστεί πρόσφατα ως νέοι και πράσινοι διαλύτες. Μπορούν εύκολα να συντεθούν με ανάμειξη ενός δέκτη δεσμών υδρογόνου (HBA) και ενός δότη δεσμών υδρογόνου (HBD) μετά από ήπια θέρμανση (60–90°C μπορεί και μέχρι 100°C) για 30 min έως 1h. Χρησιμοποιούνται στην εκχύλιση, στο διαχωρισμό και στην προσυμπύκνωση συστατικών–στόχων, συμπεριλαμβανομένων φαινολικών ενώσεων, φλαβονοειδών, σακχάρων, πρωτεϊνών και μετάλλων.

Το ιξώδες των DESs είναι γενικά υψηλότερο από αυτό των συμβατικών οργανικών διαλυτών, επηρεάζοντας σημαντικά την απόδοση εκχύλισης. Συνεπώς, η προσαρμογή του ιξώδους των DESs πραγματοποιείται αλλάζοντας τις συγκεντρώσεις και τον γραμμομοριακό λόγο των HBA και HBD καθώς και τη θερμοκρασία κατά την εκχύλιση, ενώ παράλληλα η προσθήκη νερού σε καθορισμένη αναλογία επιδρά θετικά.

Όσον αφορά την εκχύλιση των πρωτεϊνών με χρήση ευτηκτικών διαλυτών, οι πιο κοινοί δέκτες δεσμού HBA που χρησιμοποιούνται είναι τα φθηνά άλατα τεταρτοταγούς αμμωνίου (π.χ. χλωρίδιο της χολίνης), ενώ οι δότες δεσμού υδρογόνου HBD είναι πάντα ουρία, αιθυλενογλυκόλη, γλυκερόλη, αμινοξέα, καρβοξυλικά οξέα και σάκχαρα (Chen, et al., 2019).

3.3.6. Εκχύλιση με τη βοήθεια παλμικών ηλεκτρικών πεδίων (Pulsed Field Extraction - PEF)

Τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία (PEF) είναι μία αναδυόμενη μη θερμική τεχνολογία και η λειτουργία τους βασίζεται στο φαινόμενο της ηλεκτροδιάτρησης της κυτταρικής μεμβράνης, κατά το οποίο σχηματίζονται πόροι που επιτρέπουν την εξαγωγή ενδοκυτταρικών συστατικών μέσω διάχυσης. Αναλυτικότερα, η εφαρμογή του παλμικού ηλεκτρικού πεδίου δημιουργεί μία σειρά από υδρόφοβους πόρους εντός της κυτταρικής μεμβράνης που μετατρέπονται αργότερα σε υδρόφιλους πόρους, παρέχοντας τη δυνατότητα μεταφοράς βιομορίων σε όλο το κύτταρο. Αξίζει να σημειωθεί ότι όταν η μεμβράνη ανακτά την επιλεκτική διαπερατότητά της και το

κύτταρο επιβιώνει, η ηλεκτροδιάτρηση χαρακτηρίζεται ως αναστρέψιμη. Αντιθέτως αν παρατηρείται κυτταρικός θάνατος, η ηλεκτροδιάτρηση είναι μη αναστρέψιμη (Oliveira et al., 2021) (Kumar et al., 2021).

Στην τεχνολογία των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων, η ύλη τοποθετείται μεταξύ δύο ηλεκτροδίων μέσω των οποίων παλμοί υψηλής τάσης εφαρμόζονται σε σύντομες χρονικές περιόδους. Στην περίπτωση της φυτικής μήτρας εφαρμόζεται υψηλή ένταση ηλεκτρικού πεδίου που κυμαίνεται από 10 έως 80 kV/cm για μικρό χρονικό διάστημα διάρκειας από μερικά μικροδευτερόλεπτα έως χιλιοστά του δευτερολέπτου. Σημαντικές παράμετροι της διαδικασίας είναι η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου, ο χρόνος επεξεργασίας, η κυματομορφή των παλμών, η αγωγιμότητα, το pH και η ιοντική ισχύς του μέσου. Χαρακτηριστικά, η εκχύλιση με τη χρήση παλμικού ηλεκτρικού πεδίου σε χαμηλές θερμοκρασίες, με μεγαλύτερη διάρκεια παλμών και με υψηλότερη ισχύ ηλεκτρικού πεδίου αποδίδει μεγαλύτερη ανάκτηση πρωτεϊνών (Vorobiev et al., 2013) (Kumar et al., 2021).

Τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία ως μη θερμικές τεχνικές, παρουσιάζουν ορισμένα πλεονεκτήματα έναντι των συμβατικών τεχνικών εκχύλισης, όπως η ικανότητά τους να συντηρούν θερμοευαίσθητα συστατικά τροφίμων και η αύξηση της ποιότητας των εκχυλισμάτων κατά την επεξεργασία και καθ' όλη την περίοδο αποθήκευσης. Η χαμηλή κατανάλωση ενέργειας την καθιστά σύμφωνη με τις αρχές της πράσινης εκχύλισης. Παρόλα αυτά, η μέθοδος είναι συγκριτικά αναποτελεσματική στην επίτευξη υψηλότερων αποδόσεων πρωτεΐνης σε σύγκριση με άλλες μη συμβατικές μεθόδους (Oliveira et al., 2021) (Kumar et al., 2021).

4. ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΕΛΑΙΟΚΡΑΜΒΗΣ

4.1. Ελαιοκράμβη

Η ελαιοκράμβη είναι ένα από τα πιο διαδεδομένα καλλιεργούμενα φυτά του γένους *Brassica* και εντάσσεται στην οικογένεια *Brassicaceae* (ή *Cruciferae*). Είναι ένα ποώδες και ετήσιο φυτό. Ο βλαστός του έχει όρθια κυλινδρική ανάπτυξη που κυμαίνεται από 1,5 έως 2m. Ο αριθμός των φύλλων του είναι χαρακτηριστικό του είδους, ποικίλλει όμως και με την εποχή σποράς. Τα άνθη της ελαιοκράμβης έχουν ανοιχτό έως σκούρο κίτρινο χρώμα. Οι καλλιέργειες αυτής της οικογένειας φυτών ήταν γνωστές για τη χρήση τους ως βότανα και λαχανικά λόγω της πικάντικης γεύσης τους.

Ο καρπός της ελαιοκράμβης είναι ένα επίμηκες διάρρηκτο κέρας που καταλήγει σε λεπτό και μυτερό άκρο. Το συγκεκριμένο φυτό του γένους *Brassica* παράγει μικρούς σπόρους που έχουν αρχικά πράσινο χρώμα και στη συνέχεια κατά την ωρίμανση αποκτούν γυαλιστερό μαύρο χρωματισμό. Υπάρχουν όμως και ποικιλίες με κίτρινους σπόρους. Οι σπόροι χρησιμοποιούνται ως πηγή φυτικού ελαίου, συμπλήρωμα πρωτεΐνης και λειτουργικό συστατικό καθώς και ως μπαχαρικό. Η συνολική εικόνα του φυτού της ελαιοκράμβης αποδίδεται παρακάτω (Παπαστυλιανού, Μπιλάλης, Τραυλός & Παπαθεοχάρη, 2015) (Daun, 2011) (Goyal et al., 2021).



Εικόνα 9: Φυτό Ελαιοκράμβης (Παπαστυλιανού, Μπιλάλης, Τραυλός & Παπαθεοχάρη, 2015)

Η ελαιοκράμβη προήλθε από τον υβριδισμό των ποικιλιών *B.Rapa* και *B. Oleraceae* και καλλιεργείται ευρέως σε πολλά μέρη παγκοσμίως. Η προέλευσή της δεν είναι σαφώς προσδιορισμένη ωστόσο πιστεύεται ότι προέρχεται από την Ινδία και επεκτάθηκε στην Κίνα και την Ιαπωνία, προτού εισαχθεί στην Ευρώπη, στη Νέα Ζηλανδία και στην Αμερική όπου βρέθηκαν επίσης προγονικές μορφές αυτής της καλλιέργειας. Η ελαιοκράμβη αναπτύσσεται καλά κάτω από συνθήκες χαμηλής θερμοκρασίας και μέτριας υγρασίας. Μπορεί να αναπτυχθεί σε ένα ευρύ φάσμα τύπων εδάφους, με καταλληλότερα τα αργιλοπηλώδη εδάφη (Goyal et al., 2021) (Raboanatahiry et al., 2021).

Η φυσική (που δεν έχει υποστεί τροποποίηση) ελαιοκράμβη περιέχει υψηλή συγκέντρωση τοξικού ερουκικού οξέος (22–60%) και γλυκοσινολατών (80 $\mu\text{mol/g}$), τα οποία έχουν δυσμενή επίδραση στη βιοδιαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών της. Οι γλυκοσινολάτες, παρουσία μυροσινάσης (φυσικά παρούσα στους σπόρους), υδρολύονται και προκύπτουν γλυκοσινολικά παράγωγα συμπεριλαμβανομένων ισοθειοκυανικών και νιτριλίων. Τα ισοθειοκυανικά έχει αναφερθεί ότι έχουν μία χαρακτηριστική γεύση που δεν είναι αρεστή, παρεμβαίνουν στην πρόσληψη ιωδίου από τον θυροειδή αδένα και προκαλούν βρογχογόνες επιδράσεις στον άνθρωπο. Από την άλλη τα νιτρίλια είναι τοξικά και έχει αποδειχθεί ότι παρεμβαίνουν στις λειτουργίες του ήπατος και των νεφρών, ενώ το ερουκικό οξύ έχει πιθανές καρκινογόνες επιδράσεις.

Κατά συνέπεια, η προσπάθεια για τη βελτίωση της ποιότητας του ελαίου και της πίτας της φυσικής ελαιοκράμβης οδήγησε στην ανάπτυξη μίας υβριδικής ποικιλίας με την ονομασία *canola*. Ο όρος «*canola*» (εδώδιμη ελαιοκράμβη) αναφέρεται σε σπόρους ή προϊόντα σπόρων με λιγότερο από 2% ερουκικό οξύ σε έλαιο και λιγότερο από 30 $\mu\text{mol/g}$ αλειφατικών γλυκοσινολατών στην πρωτεϊνική πίτα (Goyal et al, 2021) (Kirkegaard et.al, 2022).

Στον παρακάτω πίνακα παρατίθεται η παγκόσμια παραγωγή (million metric tones), οι εισαγωγές (million metric tones) στην Ευρωπαϊκή Ένωση και οι εξαγωγές ελαιοκράμβης (million metric tones) από τον Καναδά και την Κίνα, σύμφωνα με το Υπουργείο Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής (USDA):

Πίνακας 2: Παγκόσμια προμήθεια και διανομή ελαιοκράμβης (USDA,2022)

Έτος	Παγκόσμια Παραγωγή	Εισαγωγές στην Ε.Ε.	Εξαγωγές από τον Καναδά, Κίνα	Αξιοποίηση ως τρόφιμο
2016	69,55	15,80	16,14	0,65
2017	75,28	15,72	16,53	0,15
2018	72,85	14,64	14,62	0,25
2019	69,60	15,71	15,92	0,65
2020	73,61	16,66	17,98	0,65
2021	71,18	13,91	13,75	0,65

4.1.1. Σπόροι ελαιοκράμβης

Οι ελαιούχοι σπόροι του γένους Brassica, συμπεριλαμβανομένης και της ελαιοκράμβης, έχουν ως επί το πλείστον διάμετρο της τάξης των 1,5 έως 2,5mm. Είναι επιμήκεις, σφαιρικοί ή ελαφρώς πεπλατυσμένοι πλευρικά. Οι μεγαλύτεροι και πιο μαύροι σπόροι, με διάμετρο άνω των 2mm, εμφανίζουν αυξημένη μηχανική αντοχή που καθορίζει την περιεκτικότητά τους σε έλαιο στην περίπτωση μηχανικής καταπόνησης σε μεταγενέστερα στάδια πλήρωσης του σπόρου (seed filling) (Barthet & Daun, 2011) (Παπαστυλιανού, Μπιλάλης, Τραυλός & Παπαθεοχάρη, 2015) (Kirkegaard et.al, 2022).

Οι σπόροι ελαιοκράμβης αποτελούνται από τρία κύρια δομικά μέρη, καθένα από τα οποία έχει διακριτούς βιολογικούς ρόλους: (α) το έμβρυο, το οποίο διαθέτει τα κοτυληδονικά κύτταρα, τον άξονα του εμβρύου και το ριζίδιο, (β) το ενδοσπέρμιο και (γ) το περίβλημα του σπόρου. Τα κοτυληδονικά κύτταρα είναι το κύριο μέρος του σπόρου και είναι διατεταγμένα κατά τέτοιο τρόπο, ώστε να αναδιπλώνονται κατά μήκος του εαυτού τους. Τα συγκεκριμένα περιέχουν την υψηλότερη συγκέντρωση πρωτεΐνης και ελαίου, σε σύγκριση με ολόκληρο τον σπόρο και το περίβλημα του σπόρου και καθορίζουν τη θρέψη του εμβρύου κατά τα πρώτα στάδια διαμόρφωσης του σπόρου. Το ενδοσπέρμιο αποτελείται από ένα ενιαίο στρώμα κυττάρων αλευρόνης και παρέχει τροφή στο αναπτυσσόμενο έμβρυο. Το περίβλημα του σπόρου περιβάλλει το έμβρυο και το ενδοσπέρμιο, διαθέτει συστατικά πρωτεϊνικής και μη πρωτεϊνικής φύσης και χρησιμεύει ως μηχανικό προστατευτικό φράγμα. Το βάρος του περιβλήματος είναι αντιστρόφως ανάλογο της ποιότητας του σπόρου. Στους ώριμους

σπόρους ελαιοκράμβης, το ενδοσπέρμιο εκφυλίζεται και το περίβλημα του σπόρου τυλίγει το έμβρυο σφικτά (Barthet & Daun, 2011) (Hu et al., 2013) (Yonsel, 2018).

Η τομή του σπόρου της ελαιοκράμβης αποδίδεται στην παρακάτω εικόνα:



Εικόνα 10: Τρισδιάστατο μοντέλο ελαιοκράμβης σε αποκοπή (Yonsel, 2018)

Ο σπόρος ελαιοκράμβης περιέχει περίπου 3-4,5% υγρασία, 40-45% έλαιο, 19-28% ακατέργαστη πρωτεΐνη, 8-10% διαλυτά σάκχαρα και 14-15% ακατέργαστες ίνες. Η περιεκτικότητα του σπόρου στα επιμέρους συστατικά εξαρτάται από την ποικιλία, τη θερμοκρασία και τις καιρικές αλλαγές κατά την περίοδο ωρίμανσης και την ποσότητα θείου μέσα στον σπόρο. Η περιεκτικότητα σε έλαιο μειώνεται καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία κατά την πλήρωση των σπόρων (Yonsel, 2018) (Goyal et al., 2021) (Kirkegaard et al., 2022).

4.1.1.1. Επεξεργασία σπόρων ελαιοκράμβης

Οι σπόροι της ελαιοκράμβης διαχωρίζονται από πέτρες, στάχτες, ζιζάνια, μίσχους, λοβούς και οποιεσδήποτε άλλες προσμίξεις κατά το στάδιο της συγκομιδής ενώ παράλληλα διαχωρίζονται οι φλοιοί των σπόρων ελαιοκράμβης από τους πυρήνες τους. Προτού αξιοποιηθούν από τη βιομηχανία ως πρώτη ύλη για την παραγωγή ωφέλιμων προϊόντων, υποβάλλονται σε ποιοτικό έλεγχο προκειμένου να εξασφαλιστεί η ωριμότητά τους και η βέλτιστη κατάστασή τους (Gaber & Tujillo & Mansour & Juliano, 2018) (Unger, 2011).

Ένας παράγοντας που μπορεί να έχει σημαντική επίδραση στις παραπάνω παραμέτρους είναι τα υψηλά ποσοστά υγρασίας. Η ελαιοκράμβη που συλλέγεται με υψηλά επίπεδα υγρασίας (μεγαλύτερη του 10%) διατρέχει πολύ υψηλό κίνδυνο αλλοίωσης. Η υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία επηρεάζει σημαντικά την αποτελεσματικότητα των διαδικασιών φολιδοποίησης, συμπίεσης και εκχύλισης που ακολουθούν και κατ' επέκταση την ποιότητα των πρωτεϊνικών προϊόντων. Ακολουθεί

μία θερμική προκατεργασία του σπόρου ελαιοκράμβης για τη ρύθμιση της θερμοκρασίας των σπόρων στους 50-70°C και της περιεκτικότητάς τους σε υγρασία σε ποσοστό λιγότερο από 8%, προκειμένου να αποφευχθεί η θραύση των σπόρων κατά το στάδιο της φολιδοποίησης. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται σε δοχείο με θερμαινόμενο μανδύα με έγχυση ατμού υπό πίεση στους 150 έως 180°C, προκειμένου να μην στεγνώσει ο σπόρος και να διατηρηθούν τα επίπεδα επιθυμητής περιεκτικότητας σε υγρασία. Αυτό το στάδιο της προθέρμανσης αποσκοπεί στο μαλάκωμα των σπόρων, και πρέπει να αποφεύγονται οι έντονες συνθήκες (για χρονικό διάστημα 30-45 min) που μπορεί να οδηγήσουν σε κάψιμο του σπόρου επηρεάζοντας την ποιότητα του τελικού προϊόντος (Unger, 2011) (Gaber & Tujillo & Mansour & Juliano, 2018).

Τη θερμική προκατεργασία των σπόρων ελαιοκράμβης ακολουθεί το στάδιο της φολιδοποίησης. Οι σπόροι που έχουν μαλακώσει τροφοδοτούνται μεταξύ κυλίνδρων φολιδοποίησης με διάκενο που κυμαίνεται από 0,25 έως 0,4mm και πραγματοποιείται ρήξη του περιβλήματος του σπόρου και των κυτταρικών τοιχωμάτων, προκειμένου να απελευθερωθεί ποσότητα ελαίου από τη δομή του κυττάρου. Τα πιο συνηθισμένα μεγέθη κυλίνδρων φολιδοποίησης είναι 600–800 mm σε διάμετρο και 1300–2100 mm σε μήκος. Το πάχος των φολιδών, που συνήθως κυμαίνεται από 0,15 έως 0,25mm, είναι μία σημαντική παράμετρος που μπορεί να βελτιστοποιηθεί προκειμένου να αυξηθεί η απόδοση ελαίου κατά το στάδιο της συμπίεσης. Οι μερικώς φολιδοποιημένοι σπόροι ελαιοκράμβης έχουν ως αποτέλεσμα τμήματα της δομής των κυττάρων του σπόρου να παραμένουν ανέπαφα και το έλαιο να μην απελευθερώνεται από τα κύτταρα στα επόμενα στάδια επεξεργασίας. Για να εξασφαλιστεί η πλήρης φολιδοποίηση των σπόρων, το σύστημα κυλίνδρων είναι συνήθως εξοπλισμένο με σύστημα ανακύκλωσης που επιτρέπει στους μερικώς φολιδοποιημένους σπόρους να επανέρχονται στην τροφοδοσία των κυλίνδρων (Unger, 2011) (Gaber & Tujillo & Mansour & Juliano, 2018).

Η διαδικασία της φολιδοποίησης πραγματοποιείται μέσω φούρνων που διαθέτουν μία σειρά 2 ή 3 θερμαινόμενων τυμπάνων με έγχυση ατμού, ρυθμίζοντας την υγρασία στο 4,5–6,0%. Οι φολιδοποιημένοι σπόροι θερμαίνονται στους 85–95°C για 30–40 min κυρίως για την αδρανοποίηση του ενζύμου της μυροσινάσης που υδρολύει τις γλυκοσινολάτες σε μη επιθυμητές θειούχες ενώσεις και οδηγεί στη συσσωμάτωση των ελαιούχων και πρωτεϊνικών σωματιδίων. Με την αύξηση του μεγέθους των ελαιούχων

και των πρωτεϊνικών σωματιδίων και την αύξηση της θερμοκρασίας, μειώνεται σημαντικά το ιξώδες του ελαίου, καθιστώντας ευκολότερο τον διαχωρισμό των ελαιούχων σωματιδίων από τον στερεό σπόρο και τα πρωτεϊνικά σωματίδια.

Σε ορισμένες περιπτώσεις, η θερμοκρασία μαγειρέματος αυξάνεται στους 120°C, προκειμένου να απομακρυνθούν ορισμένες θειούχες ενώσεις που παράγουν ανεπιθύμητες οσμές στο έλαιο. Η υψηλή θερμοκρασία μπορεί να έχει αρνητικές επιπτώσεις στην πρωτεϊνική πίτα ελαιοκράμβης, επηρεάζοντας την πεπτικότητα της (Unger, 2011) (Gaber & Tujillo & Mansour & Juliano, 2018) (Fetzer & Müller & Schmid & Eisner, 2020).

Οι επεξεργασμένες σε φούρνους φολίδες προωθούνται σε κοχλιωτές πρέσες (screw-pressers) ή εκτοξευτήρες (expellers), όπου πραγματοποιείται ήπια μηχανική συμπίεση. Μέσω της διαδικασίας αυτής, επιτυγχάνεται η εξαγωγή του ελαίου με απόδοση 70-80%. Το εναπομένον στερεό υλικό των σπόρων απομακρύνεται από τον κύριο όγκο του ελαίου σε φυγοκεντρικές διατάξεις. Στη συνέχεια το στερεό υλικό εκχυλίζεται με διαλύτη εξανίου προκειμένου να εξαχθεί σχεδόν όλο το υπολειμματικό έλαιο (15 έως 20% w/w έλαιο) από την πίτα ελαιοκράμβης. Η περιεκτικότητα σε εξάνιο που παραμένει στο έλαιο είναι λιγότερο από 100 ppm μετά τη διαδικασία απομάκρυνσης του διαλύτη, ενώ τον προκύπτον τελικό προϊόν περιέχει λιγότερο από 2% έλαιο (Unger, 2011) (Gaber & Tujillo & Mansour & Juliano, 2018).

Η ποιότητα των πρωτεϊνών στο υπόλειμμα ελαιοκράμβης που προκύπτει από τη συμβατική επεξεργασία των σπόρων μπορεί να μειωθεί σημαντικά λόγω των ισχυρών διατμητικών δυνάμεων που αναπτύσσονται και των θερμοκρασιών που προσεγγίζουν τους 140°C. Η ψυχρή συμπίεση της ελαιοκράμβης είναι μία εναλλακτική λύση που χρησιμοποιείται για να αποτρέψει τη μετουσίωση των πρωτεϊνών. Οι θερμοκρασίες κατά τη ψυχρή συμπίεση είναι χαμηλές (περίπου 40°C), οι οποίες μπορεί να επιτευχθούν μέσω της εξωτερικής ψύξης της πρέσας. Η απελαίωση της πίτας ελαιοκράμβης και η απομάκρυνση του διαλύτη πραγματοποιείται σε μέγιστη θερμοκρασία προϊόντος 60°C (Fetzer & Müller & Schmid & Eisner, 2020).

4.1.2. Έλαιο ελαιοκράμβης

Το έλαιο, το οποίο λαμβάνεται από την επεξεργασία των σπόρων ελαιοκράμβης, εξευγενίζεται προκειμένου να απομακρυνθούν ανεπιθύμητα συστατικά καθιστώντας το κατάλληλο για την ανθρώπινη κατανάλωση. Αυτό επιτυγχάνεται σε τέσσερα στάδια

όπως είναι η αποκομιμώση, η εξουδετέρωση, ο αποχρωματισμός και η απόσμηση. Η εξουδετέρωση είναι η απομάκρυνση των ελευθέρων λιπαρών οξέων. Η αποκομιμώση είναι μία χημική διαδικασία εξευγενισμού για την απομάκρυνση ανεπιθύμητων ουσιών που φέρουν κομμιάδη υφή, όπως τα φωσφολιπίδια. Ο αποχρωματισμός είναι μία διαδικασία χημικής απορρόφησης όπου το έλαιο φιλτράρεται προκειμένου να αφαιρεθούν χρωστικές ουσίες (οξειδωμένες ή μη οξειδωμένες), συμπεριλαμβανομένης και της χλωροφύλλης. Εάν η χλωροφύλλη δεν απομακρυνθεί, θα οδηγήσει σε ένα τελικό προϊόν ελαίου με μειωμένη διάρκεια ζωής, με θαμπό χρώμα και με ανεπιθύμητες γεύσεις και οσμές στο έλαιο ή στα τρόφιμα που παράγονται. Το τελευταίο βήμα στη επεξεργασία του ελαίου είναι η απόσμηση όπου πραγματοποιείται η απόσταξη οσμηρών συστατικών με απόσταξη σε υψηλή θερμοκρασία με τη βοήθεια ατμού σε συνθήκες υψηλού κενού (Unger, 2011) (Gaber & Tujillo & Mansour & Juliano, 2018).

Το έλαιο ελαιοκράμβης χαρακτηρίζεται από χαμηλή περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα (4-7%), υψηλή ποσότητα μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (ελαϊκό οξύ: ~60%), και μία ισορροπημένη αναλογία ωμέγα-6 και ωμέγα-3 λιπαρών οξέων (λινελαϊκό και α-λινολενικό οξύ). Η σύνθεση των λιπαρών οξέων του ελαίου ποικίλλει κατά την ανάπτυξη της ελαιοκράμβης, με τις κύριες αλλαγές να πραγματοποιούνται κατά το στάδιο της πλήρωσης των σπόρων.

Αξίζει να αναφερθεί ότι η πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών οξέων έχει συνδεθεί με αυξημένους κινδύνους αθηροσκλήρωσης και οξείδωσης της χοληστερόλης. Δεδομένου ότι το έλαιο ελαιοκράμβης περιέχει μικρότερη ποσότητα κορεσμένων λιπαρών οξέων σε αντίθεση με τα υπόλοιπα έλαια, ενδείκνυται για την ανθρώπινη κατανάλωση και επιφέρει οφέλη στην υγεία που σχετίζονται με την αντιμετώπιση καρδιαγγειακών παθήσεων και την καταπολέμηση του διαβήτη (Goyal et al., 2021) (Kirkegaard et al., 2022).

4.1.3. Πρωτεΐνες ελαιοκράμβης

Η κατανάλωση πρωτεϊνών από εναλλακτικές πηγές και η ταχεία ανάπτυξη αγοράς φυτικών παραγώγων τροφίμων είναι μία σύγχρονη διατροφική τάση. Η ελαιοκράμβη αποτελεί μία πολλά υποσχόμενη πηγή καινοτόμου πρωτεΐνης, λόγω της σημαντικής θρεπτικής αξίας που οφείλεται στο καλό ισορροπημένο προφίλ αμινοξέων της. Το επίπεδο των απαραίτητων αμινοξέων στις πρωτεΐνες ελαιοκράμβης και στα αντίστοιχα προϊόντα είναι μεγαλύτερο των 400mg/g πρωτεΐνης, καλύπτοντας ένα σημαντικό

ποσοστό ανθρώπινων αναγκών όπως αποδίδεται και στους πίνακα 2 και 3. Οι πρωτεΐνες ελαιοκράμβης χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα αμινοξέων που περιέχουν θείο, η οποία υπερβαίνει τις απαιτήσεις που καθορίζονται από τις νομοθεσίες WHO/FAO/UNU και τις διακρίνει από άλλες διαθέσιμες φυτικές πρωτεΐνες (Chmielewska et al., 2020) (Tan et al., 2021).

Πίνακας 3: : Συνήθης περιεκτικότητα απαραίτητων αμινοξέων των πρωτεϊνών στους σπόρους ελαιοκράμβης (Tan et al., 2021)

Απαραίτητα Αμινοξέα	Περιεκτικότητα % στην πρωτεΐνη
Ιστιδίνη	3,4
Ισολευκίνη	4,3
Λευκίνη	7,1
Λυσίνη	5,6
Μεθειονίνη	2,1
Φαινυλαλανίνη	3,8
Θρεονίνη	1,3
Τρυπτοφάνη	4,4
Βαλίνη	5,5

Πίνακας 4: Συνήθης περιεκτικότητα μη απαραίτητων αμινοξέων των πρωτεϊνών στους σπόρους ελαιοκράμβης (Tan et al., 2021)

Μη Απαραίτητα Αμινοξέα	Περιεκτικότητα % στην πρωτεΐνη
Αργινίνη	5,8
Αλανίνη	4,4
Ασπαραγινικό οξύ	7,3
Γλουταμινικό οξύ	18,2
Κυστεΐνη	2,4
Γλυκίνη	4,9
Προλίνη	6,0
Σερίνη	4,0
Τυροσίνη	3,2

Περίπου το 90% των πρωτεϊνών που υπάρχουν στην ελαιοκράμβη είναι αποθηκευτικής φύσης. Είναι εναποθεθειμένες σε κρυσταλλικές δομές που βρίσκονται σε κενοτόπια αποθήκευσης πρωτεϊνών. Οι πρωτεΐνες αποθηκευτικής φύσης παίζουν βασικό ρόλο στην αγορά των φυτικών πρωτεϊνών, καθώς αποδίδουν τα απαραίτητα αμινοξέα στα διάφορα προϊόντα διατροφής και παρέχουν τις απαραίτητες λειτουργικές ιδιότητες. Εκτός από τις πρωτεΐνες αποθηκευτικής φύσης, παρατηρούνται δομικές πρωτεΐνες ελαιούχου σώματος (structural oil body proteins) και μεταβολικές πρωτεΐνες που μπορούν να ανακτηθούν από τον σπόρο ή την πίτα ελαιοκράμβης μέσω τεχνολογικών διεργασιών. Διαθέτουν μία εκτεταμένη υδρόφοβη περιοχή που μπορεί να συσχετιστεί με τη λιπιδική φάση του σταγονιδίου και μία υδρόφιλη περιοχή που βρίσκεται στην επιφάνεια του ελαιούχου σώματος και συμβάλλουν στην σταθεροποίηση των ελαιωσωμάτων, τα οποία είναι υποκυτταρικά οργανίδια που αποθηκεύουν έλαια (ουδέτερα λιπίδια) των σπόρων ελαιοκράμβης. Επιπρόσθετα υπάρχουν μη αποθηκευτικής φύσης πρωτεΐνες που βοηθούν στον αμυντικό μηχανισμό του σπόρου (Withana-Gamage, et al., 2020) (Wanasundara et al., 2016) (Arrutia, et al., 2020).

4.1.3.1. Τύποι πρωτεϊνών ελαιοκράμβης

Οι δύο κύριοι τύποι πρωτεϊνών αποθηκευτικής φύσης είναι η κρουσιφερίνη που είναι μία 12S γλοβουλίνη και η ναπίνη που είναι μία 2S αλβουμίνη, αντιστοιχώντας στο 60% και στο 20% της συνολικής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη στους ώριμους σπόρους, αντίστοιχα. Ενώ η συσσώρευση της ναπίνης αρχίζει αμέσως μετά την επικονίαση του φυτού της ελαιοκράμβης, η σύνθεση της κρουσιφερίνης καθυστερεί έως περίπου 4 εβδομάδες μετά την άνθηση του φυτού (Kotecka-Majchrzak et al., 2020) (Kirkegaard et al., 2022).

Η κρουσιφερίνη είναι η κύρια πρωτεΐνη αποθηκευτικής φύσης στους σπόρους της οικογένειας Brassicaceae/Cruciferae. Ανήκει στην υπεροικογένεια της κουπίνης, με μοριακό βάρος 300–310 kDa. Είναι μία διαλυτή σε άλατα πρωτεΐνη γλοβουλίνης, όπου στη φυσική της διαμόρφωση υπάρχει ως ένα εξαμερές, παρόμοιο με εκείνο της γλυκίνης σόγιας. Αναλυτικότερα, η κρουσιφερίνη περιέχει έξι πρωτομερή που χωρίζονται σε δύο τριμερείς μονάδες και κάθε πρωτομερές αποτελείται από δύο πολυπεπίδια: α-πολυπεπίδιο (μοριακού βάρους περίπου 40 kDa) το οποίο αποτελείται από 254–296 αμινοξέα και β-πολυπεπίδιο (μοριακού βάρους περίπου 20

kDa) αποτελείται από 189–191 αμινοξέα. Οι δεσμοί που σχετίζονται με την ένωση των δύο τριμερών μονάδων κυρίως μη ομοιοπολικοί δεσμοί όπως υδρόφοβοι και ηλεκτροστατικοί δεσμοί, δεσμοί υδρογόνου και van der Waals. Η δευτεροταγής δομή της κρουσιφερίνης αποτελείται από δύο β-πτυχωμένα φύλλα και δύο εκτεταμένες έλικες (Fetzer & Müller & Schmid & Eisner, 2020) (Withana-Gamage, et al., 2020) (Chmielewska et al., 2020) (Wanasundara et al., 2016).

Η κρουσιφερίνη μπορεί να δράσει ως παράγοντας ζελοποίησης στην εγγενής της μορφή, ενώ τα αμινοξέα της κρουσιφερίνης παίζουν σημαντικό ρόλο στη γαστρεντερική πέψη. Έχει ισοηλεκτρικό σημείο σε $pH=7,2$ και η θερμοκρασία που προκαλεί τη μετουσίωσή της είναι $80^{\circ}C$ για $pH=6$ και $81,3^{\circ}C$ για $pH=10$ (Chmielewska et al., 2020) (Yonsel, 2018).

Η ναπίνη είναι μία υδατοδιαλυτή αλβουμίνη μοριακού βάρους 12.5–14.5 kDa που ανήκει στην υπεροικογένεια των πρωτεϊνών της προλαμίνης και υπάρχει ως η επόμενη άφθονη πρωτεΐνη αποθηκευτικής φύσης του γένους *B. napus*. Η πρωτοταγής δομή της ναπίνης αποτελείται από 110–180 αμινοξέα, ενώ η δευτεροταγής δομή είναι κυρίως ελικοειδής και αποτελείται από τέσσερις έλικες. Συγκεκριμένα, η πρωτοταγής δομή της ναπίνης αποτελείται από μία μικρή (βραχεία, 4kDa) και μία μεγάλη (μακριά, 9kDa) πολυπεπτιδική αλυσίδα που συνδέονται μεταξύ τους μέσω δύο δισουλφιδικών δεσμών. Η δευτεροταγής δομή της ναπίνης έχει σύσταση 38% β-πτυχωμένων φύλλων και 25% α-έλικας (Wanasundara et al., 2017) (Chmielewska et al., 2020).

Η ναπίνη εμφανίζει υψηλή θερμική σταθερότητα (παραμένει σταθερή μέχρι τους $75^{\circ}C$) και δομική σταθερότητα σε μεγάλες περιοχές pH , ενώ έχει ισοηλεκτρικό σημείο ανώτερο του $pH = 10$ παρόλο που μπορεί να είναι διαλυτή σε ένα εύρος $pH = 2-4$. Η ναπίνη είναι γνωστή για την παροχή αζώτου και θείου στον ελαιούχο σπόρο και έχει αντιμυκητιακή δράση στην ελαιοκράμβη (Chmielewska et al., 2020) (Yonsel, 2018).

Οι δομικές πρωτεΐνες ελαιούχου σώματος είναι οι ελαιοσίνες, οι καλαιοσίνες και οι στερολαιοσίνες, οι οποίες αποτρέπουν τη συνένωση ελαιωσωμάτων στην κυτταρική δομή του σπόρου. Οι ελαιοσίνες αντιπροσωπεύουν έως και το 90% της επιφάνειας των ελαιωσωμάτων, ενώ οι άλλες δύο δομικές πρωτεΐνες ελαιούχου σώματος δεν μπορούν να διακριθούν λόγω της παρουσίας άλλων πρωτεϊνών (Chmielewska et al., 2020) (Wanasundara et al., 2017) (Yonsel, 2018).

Οι ελαιοσίνες έχουν μοριακό βάρος που κυμαίνεται από 18 έως 25kDa. Διαθέτουν χαρακτηριστική τριμερή δομή με δύο τερματικές αμφίφιλες περιοχές και μία κεντρική

υδρόφοβη περιοχή και εμφανίζουν υψηλή διεπιφανειακή δραστικότητα και γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες, που μπορεί να αξιοποιηθούν σε διάφορα γαλακτώματα τροφίμων. Οι καλαιοσίνες έχουν μοριακό βάρος 27kDa και είναι γνωστό ότι διαθέτουν την ικανότητα να συνδέονται με ιόντα ασβεστίου μέσα στον σπόρο. Παρόμοια με τις ελαιοσίνες, οι καλαιοσίνες παίζουν επίσης ένα σημαντικό ρόλο στη σταθεροποίηση των ελαιοσωμάτων. Οι στερολαιοσίνες (steroleosins) είναι συγκριτικά μεγαλύτερες πρωτεΐνες με μοριακό βάρος που κυμαίνεται από 39 έως 41 kDa. Ενώ οι στερολαιοσίνες (steroleosins) καθορίζουν τη σταθεροποίηση των ελαιοσωμάτων, δεν λαμβάνονται υπόψη όταν πραγματοποιείται απομόνωση πρωτεϊνών από τις καλλιέργειες ελαιοκράμβης (Wanasundara et al., 2016) (Chmielewska et al., 2020) (Yada, 2018).

4.1.4. Πρωτεϊνικά προϊόντα ελαιοκράμβης

Το υπόλειμμα ελαιοκράμβης που λαμβάνεται από τη βιομηχανία ως παραπροϊόν της διαδικασίας παραγωγής ελαίου και της επεξεργασίας των σπόρων ελαιοκράμβης μπορεί να αξιοποιηθεί σε μία ποικιλία προϊόντων διατροφής. Ωστόσο οι εφαρμογές περιορίζονται λόγω της παρουσίας μη πρωτεϊνικών συστατικών, τα οποία εκτός από τοξικά, μειώνουν την πεπτικότητα και τη βιοδιαθεσιμότητα των μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών συστατικών στο ανθρώπινο έντερο. Για το λόγο αυτό, η περαιτέρω επεξεργασία του προς την παραλαβή πρωτεϊνικών προϊόντων, που εμφανίζουν αυξημένη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και ενισχυμένες λειτουργικές ιδιότητες, είναι απαραίτητη (Goyal et al., 2021).

Χαρακτηριστικά, η σύσταση του παραπροϊόντος της επεξεργασίας των σπόρων ελαιοκράμβης αποδίδεται στον παρακάτω πίνακα (Arrutia et al., 2020).

Πίνακας 5: Χημική σύσταση παραπροϊόντος της επεξεργασίας των σπόρων ελαιοκράμβης (Arrutia et al., 2020)

Συστατικά	Περιεκτικότητα %
Πρωτεΐνη	35,0–39,8
Υγρασία	7,2–10,1
Ακατέργαστες ίνες	9,7–13,9
Ακετέργαστο έλαιο	1,7–3,8
Ανόργανη ύλη	5–6,3

4.1.4.1. Πρωτεϊνικά άλευρα ελαιοκράμβης

Τα πρωτεϊνικά άλευρα ελαιοκράμβης λαμβάνονται μέσω άλεσης, ξηρής επεξεργασίας και κλασμάτωσης του υπολείμματος του συγκεκριμένου ελαιούχου σπόρου, ρυθμίζοντας τη συγκέντρωση των πρωτεϊνών στο προϊόν σε ένα εύρος από 45% έως 55%. Αυτή είναι μία χαμηλότερου κόστους προσέγγιση σε αντίθεση με την υγρή επεξεργασία (wet processing). Αρχικά, η άλεση χρησιμοποιείται για τη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων των κόκκων του υπολείμματος και την αύξηση της επιφάνειας των σωματιδίων ανά όγκο, εκθέτοντας τα κυτταρικά συστατικά όπως είναι και οι πρωτεΐνες. Οι μέθοδοι ξηρής κλασμάτωσης που έχουν αναπτυχθεί ως τώρα σχετίζονται με την παραγωγή εμπλουτισμένων προϊόντων σε πρωτεΐνες χωρίς τη χρήση διαλύτη. Η αρχή αυτών των μεθόδων στηρίζεται στη χρήση αέρα που προκαλεί φυγόκεντρες και βαρυτικές δυνάμεις σε θάλαμο που περιέχει το εξεταζόμενο δείγμα, διαχωρίζοντας το σε σωματίδια που διαφέρουν σε μέγεθος και πυκνότητα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η χρήση ταξινομητή αέρα (air classification). Εναλλακτικά, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη στο άλευρο ελαιοκράμβης μπορεί να αυξηθεί διαχωρίζοντας το πλούσιο σε πρωτεΐνες κλάσμα λεπτόκοκκων σωματιδίων από το πλούσιο σε αντιοξειδωτικά κλάσμα χονδροειδών σωματιδίων μέσω κοσκίνισης. Το μέγεθος των σωματιδίων του αλεύρου ελαιοκράμβης ποικίλλει και συνήθως έχει τιμές μικρότερες του 1mm.

Η επιβολή θέρμανσης συμβάλλει στην αφαίρεση της υγρασίας, και κατ' επέκταση στην ασφαλέστερη αποθήκευση με ελάχιστη απώλεια θρεπτικών ιδιοτήτων. Ανάλογα με την ένταση της θερμικής επεξεργασίας, διαφοροποιείται και η ενζυμική δράση ιδίως της μυροσινάσης στο άλευρο ελαιοκράμβης (Campbell et al., 2016) (Assatory, et al, 2019) (Bárta et al., 2021).

Το άλευρο ελαιοκράμβης μεταξύ άλλων περιέχει βιολογικά δραστικές ουσίες, συμπεριλαμβανομένων των ινδολών, που διαθέτουν αντιοξειδωτική και αντικαρκινική δράση. Είναι πολύτιμη πηγή πρωτεϊνών χωρίς γλουτένη. Αυτά καθιστούν το άλευρο κατάλληλο να χρησιμοποιηθεί κυρίως ως μέρος των προϊόντων διατροφής. Σε εφαρμογές αρτοποιίας, παρατηρείται μερική αντικατάσταση του αλεύρου σίτου με το αντίστοιχο άλευρο ελαιοκράμβης επιδρώντας θετικά στην μικροδομή του ζυμαριού, στις ρεολογικές ιδιότητες και στην τελική ποιότητα του ψωμιού. Το άλευρο ελαιοκράμβης χρησιμοποιείται για τη παραγωγή μπισκότων ζάχαρης, με αποτέλεσμα το ζυμάρι των μπισκότων να αποκτά πλαστικές ιδιότητες. Το συγκεκριμένο πρωτεϊνικό

προϊόν μπορεί να αξιοποιηθεί για την παραγωγή σαλτσών όσο και εναλλακτικών ειδών τυριών (Dabija, 2017) (Renzyaeva et al., 2020) (Bárta et al., 2021) (Akharume et al., 2021).

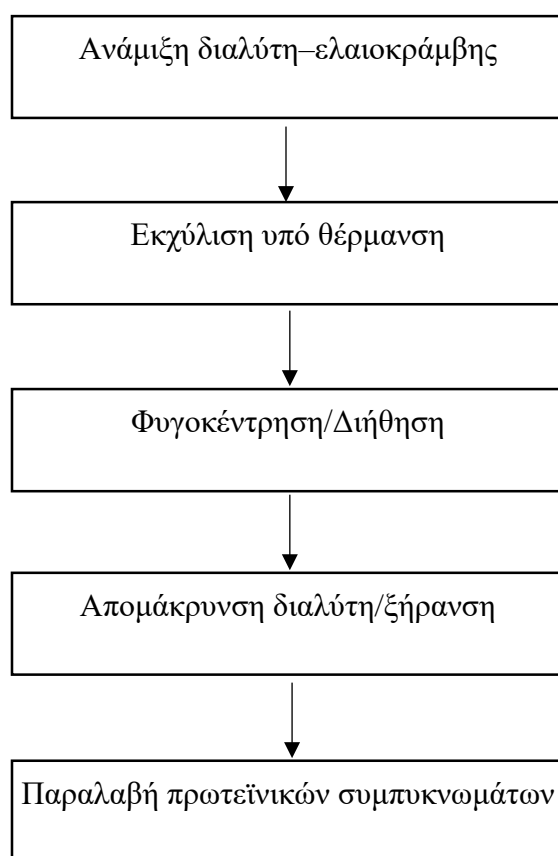
Είναι γνωστό ότι η ελαιοκράμβη περιέχει φαινολικές ενώσεις, γλυκοσινολάτες και φυτικές ίνες σε υπολογίσιμες ποσότητες που θεωρούνται ως αντιθρεπτικά συστατικά. Το άλευρο ελαιοκράμβης περιέχει την υψηλότερη ποσότητα φαινολικών οξέων (639,9 mg/100 g) μεταξύ των αλεύρων άλλων ελαιούχων σπόρων, που αποδίδουν πικρή γεύση σε διάφορα συστήματα τροφίμων. Τα μειονεκτήματα που υπάρχουν στις μεθόδους ξηρής επεξεργασίας σχετίζονται με τη μειωμένη απόδοση απομάκρυνσης των αντιθρεπτικών συστατικών, με αποτέλεσμα να παράγονται πρωτεϊνικά εμπλουτισμένα κλάσματα χαμηλότερης ποιότητας γεύσης με υψηλότερο μικροβιακό φορτίο και χαμηλότερη απόδοση πρωτεΐνης από την υγρή επεξεργασία. Συνεπώς γίνονται προσπάθειες για την περαιτέρω επεξεργασία και μεταποίηση του βιομηχανικού υπολείμματος ελαιοκράμβης σε ωφέλιμα πρωτεϊνικά προϊόντα (Campbell et al., 2016) (Goyal et al., 2021) (Wanasundara et al., 2016).

4.1.4.2. Πρωτεϊνικά συμπυκνώματα ελαιοκράμβης

Τα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα ελαιοκράμβης λαμβάνονται μέσω υδατικής – αιθανολικής διαδικασίας έκπλυσης, η οποία είναι μία αποτελεσματική μέθοδος για να απομακρυνθούν διαλυτά σάκχαρα, εναπομείναντα έλαια, φαινολικές ενώσεις και άλλα αντιθρεπτικά συστατικά από τους ελαιούχους σπόρους. Το μίγμα αιθανόλης – νερού είναι ο προτεινόμενος πράσινος διαλύτης λόγω χαμηλής τοξικότητάς του. Η διαδικασία της έκπλυσης έχει ως αποτέλεσμα να εμπλουτίζει το πρωτεϊνικό περιεχόμενο του κλάσματος ως και περίπου 70%, ενώ και η χημική σύσταση των πρωτεϊνικών συμπυκνωμάτων στα δευτερεύοντα συστατικά τους κατά μέσο όρο είναι 0,81% σε λιπαρά οξέα, 0,20% σε συνολικές φαινολικές ενώσεις και 30,21% σε συνολικούς υδατάνθρακες. Τα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα ελαιοκράμβης είναι καταλληλότερα έναντι των αντίστοιχων αλεύρων όσον αφορά τον εμπλουτισμό των προϊόντων διατροφής, ωστόσο η υγρή επεξεργασία (wet processing) είναι τεχνικά και οικονομικά πιο απαιτητική διαδικασία (Wanasundara et al., 2016) (Jia et al., 2021) (Bárta et al., 2021).

Το γενικό πλαίσιο παραλαβής των πρωτεϊνικών συμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης στηρίζεται στην ανάμιξη της πρώτης ύλης με μίγμα διαλύτη αιθανόλης–νερού με

συγκέντρωση αιθανόλης 70% στους 75°C και αναλογία στερεού–υγρού 1:10 και στην ανάδευση του ολικού μίγματος. Αποτέλεσμα της διαδικασίας αυτής είναι η παραλαβή των πρωτεϊνών σε διασπορά και το συνολικό μείγμα υποβάλλεται σε διαδικασία διαχωρισμού (είτε φυγοκέντρωση ή διήθηση) και απομάκρυνσης του διαλύτη. Τέλος, συλλέγεται το στερεό υπόλειμμα, που φέρει τις αδιάλυτες σε υγρή βάση πρωτεΐνες και προωθείται προς ξήρανση για την παραλαβή πρωτεϊνικών συμπυκνωμάτων σε ξηρή βάση (Yada, 2018) (Jia et al., 2021).



Διάγραμμα 1: Υδατική-Αλκαλική Έκπλυση Ελαιοκράμβης (Yada, 2018) (Jia et al., 2021)

Τα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα ελαιοκράμβης έχουν ικανότητα απορρόφησης - δέσμευσης ελαίων και νερού και χαρακτηρίζονται ως γαλακτωματοποιητές με εξαιρετική σταθερότητα για γαλακτώματα τροφίμων στην περιοχή pH 3–6, γεγονός που τα καθιστά χρήσιμα συστατικά με συγκεκριμένες εφαρμογές για τη βιομηχανία κρεάτων. Ενδεικτικά, μία ποσότητα του πρωτεϊνικού συμπυκνώματος ελαιοκράμβης κατά την παρασκευή λουκάνικων στη θέση της καζεΐνης αποδίδει ένα πρωτεϊνικά εμπλουτισμένο προϊόν με βελτιωμένη γεύση, καλή υφή και χαρακτηριστικό άρωμα. (Galves et al., 2019) (Östbring et al, 2021) (Chmielewska et al., 2020) (Yada, 2018).

Τα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα ελαιοκράμβης διαθέτουν τη δυνατότητα διαμόρφωσης αφρού με ικανοποιητική σταθερότητα, που δεν επηρεάζεται από την παρουσία μη πρωτεϊνικών συστατικών. Επομένως, τα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα ελαιοκράμβης χρησιμοποιούνται ως υποκατάστατα γαλακτοκομικών προϊόντων και του λευκώματος του αυγού για το σχηματισμό μαρέγκας, ενισχύοντας τις ιδιότητές της (Wanasundara et al., 2016) (Yang et al., 2020).

Τα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα επιπρόσθετα χρησιμοποιούνται σε προϊόντα αρτοποιίας, όπου μπορούν να προστεθούν σε αναλογία 18% του ζυμαριού ψωμιού ως υποκατάστατο πρωτεϊνών αλεύρου σίτου χωρίς να φέρει αρνητικές επιπτώσεις στις ιδιότητες του ζυμαριού. Ακόμα είναι δυνατή η αντικατάσταση του αυγού κατά την παραγωγή ζυμαριού για παντεσπάνι από συμπυκνώματα ελαιοκράμβης, όπως και η χρήση τους ως υποκατάστατο ρυζάλευρου σε μπισκότα χωρίς γλουτένη (Wanasundara et al., 2016) (Chmielewska et al., 2020).

Η διαδικασία έκπλυσης των πρωτεϊνικών συμπυκνωμάτων με μίγμα νερού - αιθανόλης σε συνδυασμό με υψηλή θερμοκρασία βρέθηκε να επηρεάζει τις πρωτεΐνες, προκαλώντας φαινόμενα συσσωμάτωσης, μετουσίωσης και μειωμένης διαλυτότητας των πρωτεϊνών που επηρεάζουν την καθαρότητά τους. Ένα βασικό μειονέκτημα της μεθόδου είναι η παραλαβή πρωτεϊνικών συμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης που η ενσωμάτωσή τους στα συστήματα τροφίμων αποδίδει πικρή γεύση και σκούρο χρώμα. Λόγω των συνθηκών αυτών, προτείνεται εναλλακτικά η πρόσδοση ηλεκτρικής ενέργειας σε μίγμα νερού – άλατος (electro – activated solutions) που παρέχει βελτιωμένες ιδιότητες στα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα (Jia et al., 2021) (Östbring et al., 2021).

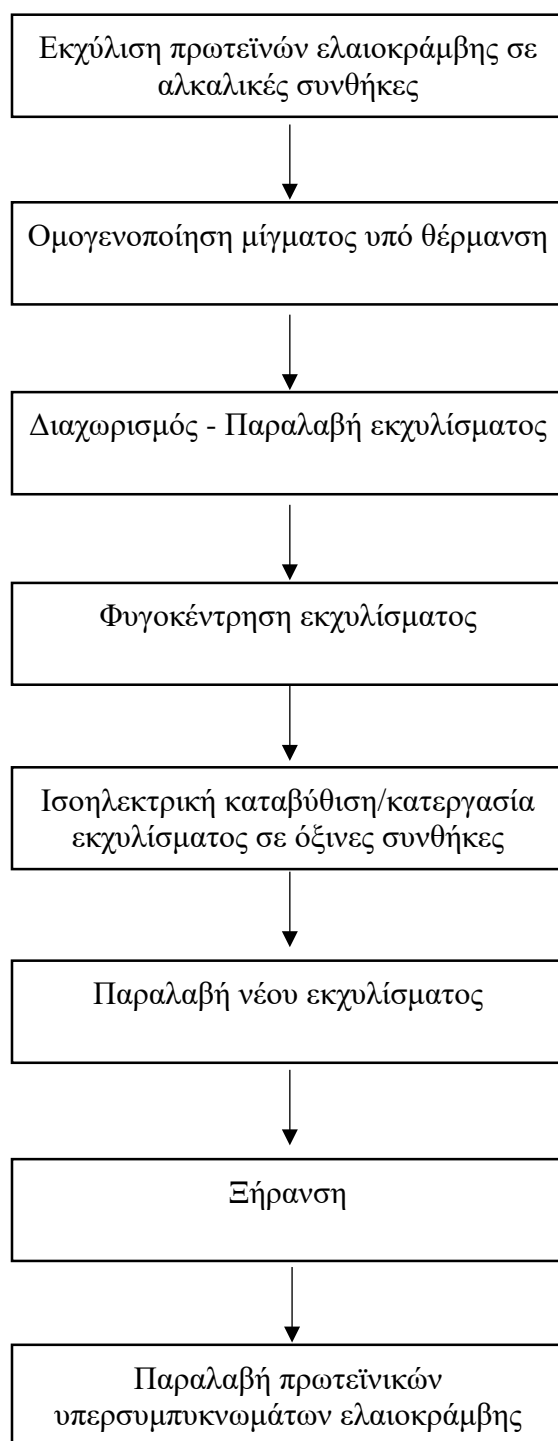
4.1.4.3. Πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα ελαιοκράμβης

Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα ελαιοκράμβης λαμβάνονται μέσω εκχύλισης και ισοηλεκτρικής καταβύθισης σε ένα pH όπου η διαλυτότητα των πρωτεϊνών είναι η χαμηλότερη. Τα τελικά προϊόντα χαρακτηρίζονται από την υψηλή καθαρότητά τους, καθώς έχουν απομακρυνθεί οι συνολικοί υδατάνθρακες και τα λοιπά αντιθρεπτικά συστατικά σε μεγάλο βαθμό, και από το υψηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενό τους που κυμαίνεται από 80 έως 90% (Hald & Dawid & Tressel & Hofmann, 2018) (Kalaydzhiev et al., 2020).

Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα ελαιοκράμβης είναι καινοτόμα τρόφιμα που έχουν εισαχθεί στην ανθρώπινη διατροφή. Διαθέτουν επιθυμητά θρεπτικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά που εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τα χαρακτηριστικά της πρώτης ύλης, την επεξεργασία των σπόρων και τον τρόπο απομόνωσης των πρωτεϊνών. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων επηρεάζονται και από τη διαλυτότητα των πρωτεϊνών τους, η οποία εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τα κύρια και δευτερεύοντα πρωτεϊνικά συστατικά, τις δομές τους και τον βαθμό συσχέτισής τους. Η χαμηλή διαλυτότητα περιορίζει τη λειτουργικότητα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης και την επακόλουθη εφαρμογή τους. Σε πολλές περιπτώσεις, χημικές, φυσικές ή ενζυμικές τροποποιήσεις εφαρμόζονται για την ενίσχυση της διαλυτότητας και του εύρους λειτουργικότητάς τους. Οι πρωτεΐνες του υπολείμματος επεξεργασίας των σπόρων ελαιοκράμβης συχνά εκχυλίζονται σε υδατικές–αλκαλικές ή και σε αλατούχες συνθήκες (saline conditions) για βελτίωση της διαλυτότητας των πρωτεϊνών. Έχει παρατηρηθεί ότι η εκχύλιση των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης μπορεί να γίνει σε όζινες συνθήκες χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη πίτα ελαιοκράμβης (Georgiev et al., 2022) (Kalaydzhiev et al., 2020) (Yonsel, 2018) (Singh et al., 2022).

Η εκχύλιση σε αλατούχες συνθήκες πραγματοποιείται μέσω της διαδικασίας BURCON. Παρουσία NaCl προκύπτει ένα τελικό προϊόν με υψηλότερες τιμές διαλυτότητας, με αυξημένη λειτουργικότητα και με ελαχιστοποιημένες αλλαγές στη διαμόρφωση και τη διάταξη των πρωτεϊνών, σε αντίθεση με τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα που λαμβάνονται μέσω αλκαλικής εκχύλισης. Άλλο ένα πλεονέκτημα της συγκεκριμένης διαδικασίας είναι ότι λιγότερες ανεπιθύμητες φαινολικές ενώσεις συνεκχυλίζονται κατά την εκχύλιση με αλατούχο διάλυμα NaCl. Ωστόσο αποδίδει χαμηλότερη απόδοση εκχύλισης σε αντίθεση με την αλκαλική εκχύλιση που πραγματοποιείται συνήθως παρουσία NaOH (Jia et al., 2021) (Yonsel, 2018) (Kalaydzhiev et al., 2020).

Παρακάτω αποδίδεται διαγραμματικά η συνολική διαδικασία για την παραγωγή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε αλκαλικές συνθήκες παρουσία: (Singh et al., 2022)



Διάγραμμα 2: Διάγραμμα ροής παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης (Singh et al., 2022)

Τα αντιθρεπτικά συστατικά, οι αδιάλυτες ίνες και οι υπολειμματικοί φλοιοί της πρώτης ύλης εκχύλισης απομακρύνονται μέσω ενός βήματος φυγοκέντρησης που ακολουθεί την αλκαλική κατεργασία. Οι καταβυθιζόμενες πρωτεΐνες του εκχυλίσματος διαχωρίζονται περαιτέρω μέσω δεύτερης φυγοκέντρησης και λαμβάνονται υπό τη μορφή πήγματος που προωθείται προς ξήρανση (Jia et al., 2021).

Πέραν της διαλυτότητας των πρωτεϊνών, η συνολική διαδικασία παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης επηρεάζεται και από άλλες παραμέτρους επεξεργασίας, όπως το pH, η θερμοκρασία και η ανάδευση.

Η εκχύλιση των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης πραγματοποιείται σε αλκαλικές τιμές pH (pH 8,0–13,0). Μετά την κατεργασία του εκχυλίσματος συνήθως με HCl (pH 3,0–5,5), λαμβάνονται πρωτεΐνες που παραμένουν στο διάλυμα. Σε υψηλές τιμές pH στο εκχυλιστικό μέσο μπορεί να ανιχνευθεί μεγαλύτερη ποσότητα πρωτεϊνών στην υγρή φάση συγκριτικά με τις χαμηλότερες τιμές pH και παρατηρείται κατ' επέκταση υψηλότερη απόδοση εκχύλισης. Παρά τα υψηλά επίπεδα εκχύλισης (έως 60–80%), υπερβολικά αλκαλικές συνθήκες συνήθως οδηγούν σε μετουσίωση των πρωτεϊνών, μείωση του επιπέδου των απαραίτητων αμινοξέων και χαμηλότερη ευπεπτότητα. Αυτές οι συνθήκες μπορεί επίσης να σχηματίσουν ένα τελικό προϊόν με σκούρο χρώμα και με πικρή γεύση. Ως εκ τούτου, η ρύθμιση της συγκέντρωσης και της ποσότητας αλκαλίου μπορεί να συμβάλει στην ανάκτηση πρωτεϊνών υψηλής ποιότητας χωρίς να επηρεαστούν τα λειτουργικά τους χαρακτηριστικά (Östbring et al, 2020) (Chmielewska et al., 2020) (Kumar et al., 2021).

Η θερμοκρασία εκχύλισης πρέπει να κυμαίνεται σε λογικά πλαίσια, προκειμένου να αποφευχθεί η μετουσίωση των πρωτεϊνών της ελαιοκράμβης και να μην υπερβούν τα ενεργειακά και οικονομικά όρια. Η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών βελτιώνεται σε ένα θερμοκρασιακό εύρος 30–70°C σε σύγκριση με θερμοκρασία δωματίου. Η βέλτιστη τιμή απόδοσης εκχύλισης παρατηρείται στους 50–60°C (Fetzer et al., 2018).

Η ανάδευση του μίγματος κατά τη διάρκεια της εκχύλισης ευνοεί το φαινόμενο, αλλά πρέπει να αποφεύγονται οι έντονες συνθήκες που μπορεί να αλλοιώσουν την κοκκομετρία της πρώτης ύλης. Βέλτιστοι χρόνοι εκχύλισης για την ουσιαστική επίδραση της θερμοκρασίας και της ανάδευσης στο φαινόμενο της εκχύλισης είναι μεταξύ των 30 και 60min (Fetzer et al., 2018).

Η ικανότητα σχηματισμού πηκτής δεν είναι η σημαντικότερη πτυχή της λειτουργικότητας των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης, καθώς

επηρεάζεται ως ένα βαθμό από την υπολειμματική ποσότητα φαινολικών ενώσεων που υπάρχει στο πρωτεϊνικό προϊόν. Παρόλα αυτά, τα επιμέρους πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα των κλασμάτων κρουσιφερίνης και ναπίνης σχηματίζουν διακριτές πηκτές. Η ικανότητα μίας πρωτεΐνης να σχηματίζει πηκτής σχετίζεται με το μοριακό της βάρος, όπου οι μεγαλύτερες πρωτεΐνες παρουσιάζουν υψηλότερη ικανότητα σταθεροποίησης του τρισδιάστατου δικτύου, δικαιολογώντας έτσι την υπεροχή της κρουσιφερίνης έναντι της ναπίνης. Σε σύγκριση με την κρουσιφερίνη, η ναπίνη απαιτεί υψηλότερη θερμοκρασία για να σχηματίσει πηκτή (72°C έναντι 95°C σε pH=7) που είναι μη ισχυρή με έντονα φαινόμενα συναίρεσης.

Γενικά, τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα των κλασμάτων κρουσιφερίνης και ναπίνης δημιουργούν ελαστικές πηκτές σε υψηλές θερμοκρασίες και βασικές συνθήκες. Οι πιο ισχυρές πηκτές διαμορφώνονται υπό βασικές συνθήκες και η βέλτιστη τιμή της διαδικασίας είναι για pH=9, που είναι η μέγιστη τιμή για εφαρμογές τροφίμων (Wanasundara et al., 2017) (Campbell et al., 2016) (Chmielewska et al., 2020) (Fetzer & Müller & Schmid & Eisner, 2020).

Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα ελαιοκράμβης που λαμβάνονται μέσω αλκαλικής εκχύλισης και όξινης καταβύθισης διαθέτουν γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες που είναι συγκρίσιμες με άλλους ελαιούχους σπόρους και βελτιώνονται όταν λαμβάνονται σε χαμηλό pH καταβύθισης καθώς παρατηρείται ξετύλιγμα της αλυσίδας των πρωτεϊνών, έκθεση των επιφανειακών υδρόφοβων ομάδων και αυξημένη διεπιφανειακή δραστηριότητα. Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα ελαιοκράμβης που είναι πλούσια σε κρουσιφερίνη έχουν υψηλότερη ικανότητα γαλακτωματοποίησης από τα αντίστοιχα που είναι πλούσια σε ναπίνη, καθώς η υδρόφιλη φύση και η χαμηλότερη ευελιξία λόγω των εσωτερικών δεσμών S-S συμβάλλουν αναποτελεσματικότητα της ναπίνης όσον αφορά το σχηματισμό σταθερών και ισχυρών γαλακτωμάτων (Wanasundara et al., 2017) (Zhang et al., 2020).

Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα ελαιοκράμβης έχουν μικρότερη ικανότητα συγκράτησης νερού σε σύγκριση με άλλους ελαιούχους σπόρους, που οφείλεται στη μικρότερη αναλογία υδρόφιλων αμινοξέων έναντι των υδρόφοβων αμινοξέων. Μεταξύ των πρωτεϊνικών προϊόντων του ίδιου ελαιούχου σπόρου, τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα ελαιοκράμβης εμφανίζουν μικρότερη ικανότητα, διότι η παρουσία υδατανθράκων και διαλυτών ινών στα υπόλοιπα προϊόντα οδηγεί σε μεγαλύτερες τιμές.

Οι λειτουργικές ιδιότητες που σχετίζονται με την υδροφοβικότητα των πρωτεϊνών, όπως είναι η ικανότητα δέσμευσης ελαίου, εμφανίζουν συγκρίσιμες τιμές.

Σε κάθε περίπτωση, οι πρωτεΐνες ελαιοκράμβης που καταβυθίζονται σε χαμηλές τιμές pH διαθέτουν υψηλότερες τιμές ικανότητας απορρόφησης νερού και δέσμευσης ελαίου. Με την αύξηση του pH καταβύθισης οι τιμές μειώνονται (Nosenko et al, 2014) (Zhang et al., 2020).

Η ικανότητα αφρισμού των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης ξεπερνά εκείνη άλλων ελαιούχων σπόρων. Μεταξύ των δύο βασικών πρωτεϊνών αποθηκευτικής φύσης, τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα των πρωτεϊνών 2S έχουν εξαιρετική ικανότητα να σταθεροποιούν τις διεπιφάνειες αέρα–νερού (Wanasundara et al., 2017) (Fetzer & Müller & Schmid & Eisner, 2020) (Jia et al., 2021).

Πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα ελαιοκράμβης πλούσια σε κρουσιφερίνη και ναπίνη προστίθενται σε διάφορες αναλογίες σε γαλακτοκομικά προϊόντα και σε διαιτητικές μπάρες. Ειδικότερα, εφαρμογές που σχετίζονται με την παρασκευή λουκάνικων και μαγιονέζας δεν απέδωσαν καμία αδυναμία σε υφή, χρώμα και γεύση στην υποκατάσταση της καζεΐνης και των αυγών από τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα. Τα πρωτεϊνικά προϊόντα απομόνωσης της ελαιοκράμβης εμφανίζονται σε προϊόντα αρτοποιίας και χρησιμοποιούνται ως συστατικό χυμών που προέρχονται από φρούτα και λαχανικά (Chmielewska et al., 2020) (Goyal et al., 2021).

4.1.5. Νέες μέθοδοι παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης

Οι συμβατικές τεχνολογίες για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης έχουν υψηλές οικονομικές και ενεργειακές απαιτήσεις σε συνδυασμό με τον αρνητικό περιβαλλοντικό αντίκτυπο λόγω των παραγόμενων υπολειμμάτων. Οι αναδυόμενες πράσινες τεχνολογίες αποσκοπούν στην αντιμετώπιση των παραπάνω προβλημάτων, συμβάλλοντας παράλληλα στη βελτίωση της απόδοσης εκχύλισης και των λειτουργικών ιδιοτήτων των πρωτεϊνικών προϊόντων.

4.1.5.1. Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης με υπέρηχους

Η εκχύλιση των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης με υπέρηχους στηρίζεται στα φαινόμενα σπηλαίωσης που αποδομούν τα κυτταρικά τοιχώματα της μήτρας του υλικού, απελευθερώνουν ευκολότερα το πρωτεϊνικό περιεχόμενο της μήτρας στο εκχυλιστικό μέσο και επιτρέπουν την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σε χαμηλή θερμοκρασία με μειωμένη πιθανότητα θερμικής καταστροφής των κυττάρων. Η επεξεργασία του υπολείμματος ελαιοκράμβης με υπέρηχους οδηγεί στη μεταβολή της δευτεροταγούς και της τριτοταγούς δομής των πρωτεϊνών των παραγόμενων υπερσυμπυκνωμάτων, βελτιώνοντας τη διαλυτότητά τους από 8,92% σε 11,40% (Sicaire et al., 2019) (Chmielewska et al., 2020) (Momen et al., 2020).

Η συγκεκριμένη εκχύλιση πραγματοποιείται σε ισχύ υπερήχων 5,6 W/cm² και θερμοκρασία 45°C με απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών 4,24g πρωτεΐνης/100g ελαιοκράμβης. Ενώ σε συνδυασμό της με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης η απόδοση κυμαίνεται στα 9,81g πρωτεΐνης/100 g ελαιοκράμβης.

Κατά την εφαρμογή των υπερήχων παρατηρείται μία μικρή εντατικοποίηση του φαινομένου της εκχύλισης σε συντομότερο χρόνο σε αντίθεση με τη συμβατική μέθοδο (5 min για την υποβοηθούμενη από υπέρηχους εκχύλιση έναντι 30 min για τη συμβατική εκχύλιση) αποδίδοντας παρόμοια θρεπτική αξία πρωτεϊνών με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης. Η μεγαλύτερη τιμή απόδοσης εκχύλισης λαμβάνεται από το συνδυασμό ενός σταδίου εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων και δύο σταδίων συμβατικής εκχύλισης (Boukroufa et al., 2017) (Singh et al., 2022).

Στα πλαίσια της βελτιστοποίησης των λειτουργικών ιδιοτήτων των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης μπορεί να γίνει και εφαρμογή ισχύος 450W, με αναλογία δείγματος προς διαλύτη νερού 1:20 για 80min. Τότε η απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών αυξάνεται σημαντικά (κατά 8,31% συγκριτικά με τη συμβατική μέθοδο) με αύξηση της θερμοκρασίας του λουτρού υπερήχων από 25 έως 35°C, ενώ παραμένει σχεδόν αμετάβλητη στους 35 έως 55°C και μειώνεται δραστικά στους 55–65°C (Kumar et al., 2021).

Η εφαρμογή υπερήχων στην υβριδική ποικιλία ελαιοκράμβης (canola) αυξάνει την ικανότητα δέσμευσης ελαίου σε σύγκριση με το δείγμα που δεν έχει υποστεί επεξεργασία. Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα ελαιοκράμβης που λαμβάνονται σε λουτρό υπερήχων συχνότητας 40kHz για 15 και 30min αντίστοιχα, έχουν τιμές 3,06g

ελαίου/g ελαιοκράμβης και 3,26g ελαίου/g ελαιοκράμβης. Η τιμή της ικανότητας δέσμευσης ελαίου μέσω της συμβατικής μεθόδου εκχύλισης είναι 2,84g ελαίου/g ελαιοκράμβης (Bernardi et al., 2020).

Οι υπέρηχοι χρησιμοποιούνται και για την εκχύλιση των πρωτεϊνών από διπλά απελαιωμένο υπόλειμμα ελαιοκράμβης (double-low defatted rapeseed meal). Σε σχέση με τη συμβατική αλκαλική μέθοδο, η επεξεργασία του δείγματος με συχνότητα 28kHz και με ισχύ 875W αυξάνει το ρυθμό εκχύλισης και την απόδοση των πρωτεϊνών κατά 38% και 95% αντίστοιχα, ενώ μειώνει το χρόνο εκχύλισης κατά 15% (Ma et al., 2019).

Πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα ελαιοκράμβης λαμβάνονται με όξινη καταβύθιση σε ένα εύρος pH 3,6–5,8 με τη χρήση HCl. Οι συνθήκες της εκχύλισης των πρωτεϊνών υποβοηθούμενης με υπέρηχους είναι: α) ισχύς 0,228 W/cm², β) αναλογία στερεού προς διαλύτη νερού 1:25, γ) pH=11,71 και δ) χρόνος t =41,48 min. Η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης σε λουτρό υπερήχων αυξάνεται κατά 43,3% έναντι της συμβατικής μεθόδου (Yagoub et al., 2017).

Το σχήμα του δοχείου του λουτρού υπερήχων είναι ένας σημαντικός παράγοντας στην εκχύλιση των πρωτεϊνών. Η πιο ορθή επιλογή είναι δοχεία με επίπεδο πυθμένα, προκειμένου να επιτυγχάνει την ελάχιστη ανάκλαση του κύματος υπερήχων. Το πάχος του δοχείου πρέπει να είναι ελάχιστο για να ελαττώνεται το φαινόμενο της εξασθένησης του σήματος ενός κύματος (Pingret et al., 2013).

Συμπερασματικά, η αποδοτικότητα της εκχύλισης των πρωτεϊνών με τη βοήθεια υπερήχων μπορεί να αυξηθεί με την αύξηση της ισχύος των υπερήχων, με τη μείωση της υγρασία της μήτρας της ελαιοκράμβης και με τη βελτιστοποίηση τη θερμοκρασίας του λουτρού υπερήχων αποδίδοντας χαμηλότερους χρόνους εκχύλισης (Kumar et al., 2021) (Pingret et al., 2013).

4.1.5.2. Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης με τη βοήθεια μικροκυμάτων

Η εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων, όπως και στη μέθοδο των υπερήχων, στηρίζεται στη διάρρηξη του κυτταρικού τοιχώματος που προκαλεί την απελευθέρωση των πρωτεϊνών. Η κινητήρια δύναμη του φαινομένου είναι η ισχύς των ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων που προκαλεί ομοιόμορφη διηλεκτρική θέρμανση πολικών μορίων και δημιουργεί έντονη πίεση στο κυτταρικό τοίχωμα (Sicaire et al., 2019).

Η παραλαβή πρωτεϊνικά εμπλουτισμένων προϊόντων από υπόλειμμα ελαιοκράμβης με τη βοήθεια μικροκυμάτων, σε ανοιχτό σύστημα δοχείων, με συχνότητα 2,45 GHz έχει ως αποτέλεσμα σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις διαλυτής πρωτεΐνης σε σχέση με τη συμβατική επεξεργασία. Η απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών μειώνεται από 6g πρωτεΐνης/100g ελαιοκράμβης σε 4g πρωτεΐνης/100 g ελαιοκράμβης με αύξηση της θερμοκρασίας εκχύλισης από 30 έως 70°C. Όσον αφορά τα ανοιχτά συστήματα δοχείων, η εκχύλιση γίνεται σε ατμοσφαιρική πίεση. Η μέγιστη δυνατή θερμοκρασία εκχύλισης εξαρτάται από το σημείο βρασμού του διαλύτη σε αυτή την πίεση (Destandau et al., 2013) (Boukroufa et al., 2017).

Η εκχύλιση των πρωτεϊνών από υπόλειμμα ελαιοκράμβης μπορεί να γίνει και με τη βοήθεια μικροκυμάτων ισχύος 73W, σε θερμοκρασία 35°C, με αναλογία δείγματος προς διαλύτη νερού/NaOH 1:28 για 24min σε pH=11,5. Η απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών είναι 38,76%, με την ευπεπτότητα των εκχυλιζόμενων πρωτεϊνών να βελτιώνεται δραστικά. Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα που λαμβάνονται από την επεξεργασία με μικροκύματα εμφανίζουν διαφορές στην κατανομή του μοριακού βάρους, στη διαμόρφωση και στις μορφολογικές ιδιότητες των πρωτεϊνών τους. Η δευτεροταγής δομή και οι κρυσταλλικές ιδιότητες των πρωτεϊνών δεν επηρεάζονται από τη συγκεκριμένη μέθοδο (Can Karaca et al., 2022) (Sicaire et al., 2019).

4.1.5.3. Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης με τη βοήθεια παλμικών ηλεκτρικών πεδίων

Η εφαρμογή παλμικών ηλεκτρικών πεδίων σε υπόλειμμα ελαιοκράμβης οδηγεί σε προσωρινή ή πλήρη ηλεκτροδιάτρηση των κυτταρικών μεμβρανών του φυτικού υλικού αυξάνοντας τη διαπερατότητα της μεμβράνης και διευκολύνοντας τη διέλευση των πρωτεϊνών στο περιβάλλον διάλυμα. Η διαδικασία πραγματοποιείται σε εκχυλιστικό διάλυμα νερού/NaOH και σε σταθερή θερμοκρασία 20°C. Η ενέργεια επεξεργασίας ποικίλλει από 8 kV/cm έως 240kJ/kg, για χρόνο από t=2ms έως t=120min και αναλογία στερεού-υγρού από 1:2 έως 1:20w/v. Σε σύγκριση με τη συμβατική μέθοδο, οι βέλτιστες συνθήκες των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων (E=8kV/cm, t=2ms, P=10bar) αποδίδουν σημαντική αύξηση στη συνολική περιεκτικότητα του τελικού προϊόντος σε πρωτεΐνη (0,14 έναντι 0,07g/100 g υπολείμματος ελαιοκράμβης). Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα που λαμβάνονται έχουν αυξημένη διαλυτότητα, ενισχυμένη

ικανότητα γαλακτωματοποίησης και ενισχυμένες ιδιότητες αφρισμού (Sicaire et al., 2019) (Barba et al., 2015).

Η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης μπορεί να γίνει και με κατεργασία αιωρημάτων νερού–ελαιοκράμβης με τη βοήθεια παλμικών ηλεκτρικών πεδίων σε αναλογία στερεού–υγρού 1:5–1:20w/v και εισροής ενέργειας επεξεργασίας 5kV/cm–400kJ/kg. Η βέλτιστη εισροή ενέργειας επεξεργασίας για την ανάκτηση πρωτεϊνών ελαιοκράμβης είναι 240kJ/kg, πέραν της οποίας το πρωτεϊνικό περιεχόμενο μειώνεται. Όσον αφορά τη δομή των πρωτεϊνών των τελικών προϊόντων, η αυξημένη εισροή ενέργειας επεξεργασίας και ο αυξημένος χρόνος κατεργασίας του αιωρήματος πέραν των βέλτιστων συνθηκών οδηγεί σε μειωμένη διαμόρφωση β–πτυχωτών φύλλων και α–έλικας, καθώς και σε αυξημένες ελεύθερες σουλφυδρυλικές ομάδες που επηρεάζουν θετικά τη υδροφοβικότητα της επιφάνειας των πρωτεϊνών (Barba et al., 2015) (Oliveira et al., 2021).

Η εφαρμογή παλμικών ηλεκτρικών πεδίων στην υβριδική ποικιλία ελαιοκράμβης γίνεται με εισροή ενέργειας επεξεργασίας που κυμαίνεται από 10 έως 35kV/cm, με πλάτος παλμού 8μs και χρόνο παραμονής του δείγματος εντός του θαλάμου επεξεργασίας 180s και βελτιώνει τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών προϊόντων συγκριτικά με τη συμβατική μέθοδο (Zhang et al., 2017).

4.1.5.4. Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης με τη βοήθεια ενζύμων

Η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης με τη βοήθεια ενζύμων είναι μία εναλλακτική προσέγγιση στη συμβατική μέθοδο. Τα ένζυμα υδρολύουν τις πρωτεΐνες σε πεπτίδια, αυξάνοντας τη διαλυτότητά τους και την εκχυλισιμότητά τους, που δεν παρατηρείται στις προαναφερόμενες τεχνολογίες (Sicaire et al., 2019).

Η χρήση τους ενζύμου της σερίνης συμβάλλει στην αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης των πρωτεϊνών από το υπόλειμμα ελαιοκράμβης κατά 1,7 φορές σε σχέση με εκείνη χωρίς την προσθήκη ενζύμου. Η κατεργασία με υδρολάσες υδατανθράκων (κυτταρινάση, πηκτινάση, β–γλυκανάση) με αναλογία δείγματος ελαιοκράμβης–ενζύμων 4w/w, σε θερμοκρασία 48°C, pH=9 για 4h βελτιώνει την ανάκτηση πρωτεϊνών. Η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών είναι 80–83% (Rommi, 2016) (Oliveira et al., 2021) (Nadar et al., 2018).

Η υδατική–ενζυμική εκχύλιση πρωτεϊνών ελαιοκράμβης γίνεται με τη χρήση ενζύμου Alcalase 2,4L συγκέντρωσης 1,5%, σε θερμοκρασία 60°C, pH=10 με αναλογία στερεού–υγρού 1:5w/v για 180min, προκειμένου να επιτευχθεί απόδοση εκχύλισης 83,3%. Οι εκχυλιζόμενες πρωτεΐνες είναι σταθερές έναντι των οξειδωτικών και παρουσιάζουν χαμηλό ιξώδες, γεγονός που υποδεικνύει την καταλληλότητά τους σε εφαρμογές τροφίμων (Rommi, 2016) (Oliveira et al., 2021) (Sicaire et al., 2019) (Kumar et al., 2021).

Όταν υπόλειμμα ελαιοκράμβης επεξεργάζεται με μίγμα τριών ενζύμων πρωτεάσης 5% (Protex 40XL, Protex P, Protex 5L) σε θερμοκρασία 40°C, pH=12 για 24h, τότε η απόδοση εκχύλισης κυμαίνεται από 15 έως 30% (Nadar et al., 2018).

Η εκχύλιση πρωτεϊνών ελαιοκράμβης για ανθρώπινη κατανάλωση μπορεί να γίνει και με ένζυμα Viscozyme–Alcalase συγκέντρωσης 1% σε αναλογία νερού–υπολείμματος ελαιοκράμβης 6:1 για 80min, επιτυγχάνοντας απόδοση εκχύλισης 82,10% (Pojić et al., 2018)

Η εκχύλιση των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης με τη βοήθεια ενζύμων έχει εμπορικούς και τεχνικούς περιορισμούς, οι οποίοι χρειάζεται να αντιμετωπισθούν, ώστε να αξιοποιηθεί πλήρως η δυνητική αξία των ενζύμων στην απομόνωση και αξιοποίηση φυσικών προϊόντων (Oliveira et al., 2021) (Rommi, 2016).

4.1.5.5. Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης με βαθέως ευτηκτικούς διαλύτες

Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (DES) είναι γνωστοί ως μία νέα κατηγορία ιοντικών υγρών, όπου το σημείο τήξης τους είναι μικρότερο από εκείνο των επιμέρους συστατικών τους. Έχουν περιβαλλοντικά οφέλη σε συνδυασμό με μοναδικές φυσικοχημικές ιδιότητές τους, όπως η χαμηλή τάση ατμών και ιδιότητες μη αναφλεξιμότητας.

Παρόλο που η βιβλιογραφία είναι περιορισμένη για την εκχύλιση των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης με τη χρήση βαθέως ευτηκτικών διαλυτών, οι παραπάνω παράγοντες τους καθιστούν κατάλληλους για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων (Sicaire et al., 2019) (Gençdağ et al., 2019).

Η επεξεργασία του υπολείμματος ελαιοκράμβης με βαθέως ευτηκτικό διαλύτη γλυκερόλης–χλωρίδιο της χολίνης αποδίδει μεγαλύτερη ποσότητα πρωτεΐνης στα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα, σε αντίθεση με την κατεργασία με τους συμβατικούς

οργανικούς διαλύτες. Τα πρωτεϊνικά προϊόντα ελαιοκράμβης λαμβάνονται με εκχύλιση σε θερμοκρασίες 60°C και 100°C, με αναλογία στερεού–υγρού 1:9w/v και περιέχουν 4% και 9% περισσότερη ποσότητα πρωτεΐνης αντίστοιχα, συγκριτικά με τη μη επεξεργασμένη ύλη ελαιοκράμβης. Η αυξανόμενη θερμοκρασία αυξάνει την απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης που προσεγγίζει το 20% για 2h στους 140°C. Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα που προκύπτουν έχουν απαλό χρώμα που μπορεί να είναι πιο αρεστό από τους καταναλωτές (Grudniewska et al., 2018) (Gençdağ et al., 2019) (Singh et al., 2022).

Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες μπορούν να συνδυαστούν με την εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων και υπερήχων για τη βελτίωση της διαλυτότητας των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης και κατ' επέκταση την απόδοση εκχύλισής τους (Gençdağ et al., 2019).

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5.1. Σκοπός

Στα πλαίσια της απομόνωσης των φυτικών πρωτεϊνών από διάφορα παραπροϊόντα τροφίμων, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει και η απομόνωση των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης. Η συμβατική μέθοδος παραλαβής πρωτεϊνικών προϊόντων από ελαιούχους σπόρους περιλαμβάνει τα στάδια της υδατικής εκχύλισης και ισοηλεκτρικής καταβύθισης των πρωτεϊνών καθώς και το τελικό στάδιο ξήρανσης των λαμβανόμενων πρωτεϊνούχων υλικών. Στα πλαίσια της διπλωματικής εργασίας εξετάζεται η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης με την εφαρμογή νέων τεχνολογιών εκχύλισης, με απώτερο σκοπό την εύρεση των βέλτιστων συνθηκών που οδηγούν στις καλύτερες αποδόσεις των πρωτεϊνών και στις καλύτερες λειτουργικές ιδιότητες των λαμβανόμενων πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.

Αρχικά μελετάται η εκχύλιση των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης με τη βοήθεια των υπερήχων χρησιμοποιώντας απιονισμένο νερό και ελέγχεται η επίδραση του χρόνου εκχύλισης, της αναλογίας στερεού-υγρού καθώς και του pH εκχύλισης στην αποτελεσματικότητα της διεργασίας. Ακολουθεί η ισοηλεκτρική καταβύθιση των πρωτεϊνών και η λυοφιλίωση των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης. Επιπλέον, μελετάται η εκχύλιση των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης με τη βοήθεια των υπερήχων χρησιμοποιώντας ευτηκτικό διαλύτη (κιτρικό οξύ: γλυκερόλη με αναλογία mol 1:1). Υπολογίζονται οι αποδόσεις των επιμέρους σταδίων της μεθόδου (απόδοση εκχύλισης, απόδοση καταβύθισης) και η ολική απόδοση και τα αποτελέσματα συγκρίνονται με εκείνα μέσω της συμβατικής εκχύλισης. Τέλος, προσδιορίζονται και αξιολογούνται οι λειτουργικές ιδιότητες της ικανότητας συγκράτησης νερού και της απορρόφησης ελαίου των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων που λαμβάνονται μέσω εκχύλισης με τη βοήθεια υπερήχων.

5.2. Α΄ ύλες–Αντιδραστήρια

Η πρώτη ύλη των πειραμάτων είναι υπόλειμμα (πίτα) ελαιοκράμβης από τη βιομηχανία «ΣΟΓΙΑ ΕΛΛΑΣ Α.Ε.» που εδρεύει στα Ψαχνά Ευβοίας.

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται είναι τα κάτωθι:

- Απιονισμένο νερό
- Θεϊκό οξύ H_2SO_4 0,25mol/L (0,5N) της εταιρείας Carlo Erba Reagents S.A.S, Italy
- Διάλυμα HCl 2M, το οποίο παρασκευάζεται εργαστηριακά
- Καυστικό νάτριο NaOH 0.5mol/L (0,5N) της εταιρείας Carlo Erba Reagents S.A.S, Italy
- Πετρελαϊκός αιθέρας 40–60°C της εταιρείας Carl Roth, Germany
- Πυρήνες βρασμού της εταιρείας Merck Millipore, USA
- Θεϊκό κάλιο $\text{K}_2\text{SO}_4 \geq 99\%$ της εταιρείας Carl Roth, Germany
- Ένυδρος θεϊκός χαλκός $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ της εταιρείας Panreac Quimica S.A, Spain
- Πυκνό διάλυμα θεϊκού οξέος S.G 1,83 $\text{H}_2\text{SO}_4 \geq 95\%$ της εταιρείας Fisher, USA
- Υδατικό διάλυμα NaOH 32% w/w, το οποίο προκύπτει από την διάλυση στερεών σφαιριδίων NaOH
- Δείκτης ερυθρό μεθυλίου-μπλε μεθυλενίου, το οποίο παρασκευάζεται εργαστηριακά
- Μονοένυδρο κιτρικό οξύ $\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_8$ της εταιρείας Carlo Erba Reagents S.A.S, Italy
- Άνυδρη γλυκερόλη $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$ της εταιρείας Lach-Ner, Ltd., Czech Republic
- Αραβοσιτέλαιο Vita D'or της εταιρείας Lidl Stiftung & Co. KG, Germany

5.3. Εξοπλισμός

Οι συσκευές και τα όργανα της πειραματικής διαδικασίας είναι τα εξής:

- Αναλυτικός ζυγός Precisa XT 220A (4 δεκαδικών ψηφίων) της εταιρείας Precisa Gravimetrics AG, Switzerland
- Αναλυτικός ζυγός Precisa 620C (2 δεκαδικών ψηφίων) της εταιρείας Precisa Gravimetrics AG, Switzerland

- Συσκευή Soxhlet και περιστροφικός εξατμιστήρας Heidolph της εταιρείας Heidolph Instruments, Germany
- Λουτρό εκχύλισης HAAKE G με αναδευτήρα και θερμοστάτη HAAKE D3 της εταιρείας Haake Technik GmbH, Germany
- Λουτρό υπερήχων Elmasonic S 30 H της εταιρείας Elma Schmidbauer GmbH, Germany
- Φορητό πεχάμετρο WTW pH 315i συνδυασμένο με ηλεκτρόδιο SENTIX 41 της εταιρείας WTW GmbH, Germany
- Ψηφιακό θερμομέτρο με ακίδα TP3001, το οποίο είναι μια συσκευή από OEM
- Φυγόκεντρος MLW T 54 της εταιρείας VEB MLW, Germany
- Φυγόκεντρος HERAEUS MEGAFUGE 16R με πλαστικούς σωλήνες φυγόκεντρου της εταιρείας Thermo Fisher Scientific, USA
- Φυγόκεντρος Hettich Universal II με γυάλινους σωλήνες φυγόκεντρου από τον κατασκευαστή Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Germany
- Συσκευή λυοφιλίωσης Christ Alpha 1-4 LDplus της εταιρείας Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Germany
- Συσκευή καύσης Kjeldahl BUCHI 425 Digestor με γυάλινες φιάλες Kjeldahl της εταιρείας BÜCHI Labortechnik AG, Germany
- Συσκευή απόσταξης Kjeldahl BUCHI K-350 της εταιρείας BÜCHI Labortechnik AG, Germany
- Φούρνος BINDER ED-240 της εταιρείας Binder GmbH, Germany
- Μαγνητικοί αναδευτήρες της εταιρείας VELP SCIENTIFICA, Italy
- Αναδευτήρας VORTEX της εταιρείας VELP SCIENTIFICA, Italy
- Γυάλινα σκεύη (ποτήρια ζέσεως, κωνικές φιάλες, σφαιρικές φιάλες, ογκομετρικοί κύλινδροι, προχοϊδες, σιφώνια)
 - Πλαστικά τρυβλία
 - Πουάρ 3 βαλβίδων
 - Μεταλλική σπαθίδα

5.4. Πειραματική Διαδικασία

5.4.1. Προετοιμασία στερεού πρωτεϊνούχου υλικού

5.4.1.1. Άλεση και κοσκίνιση πρώτης ύλης

Η πρώτη ύλη των πειραμάτων είναι το υπόλειμμα μετά την απελαίωση των σπόρων ελαιοκράμβης σε βιομηχανική κλίμακα. Οι απελαιωμένες φολίδες του ελαιούχου σπόρου δεν μπορούν να αξιοποιηθούν άμεσα, συνεπώς απαιτείται περαιτέρω επεξεργασία τους. Ποσότητα της πρώτης ύλης αλέθεται σε μύλο και προωθείται σε κόσκινο των 0,5mm προκειμένου να επιτευχθεί η επιθυμητή κοκκομετρία. Η επιλογή της κατάλληλης κοκκομετρίας και η επίτευξη της ομοιομορφίας στο σύνολο της ύλης αποσκοπούν στη βελτίωση της επιφάνειας επαφής ύλης-διαλύτη και στην καλύτερη εκχυλισσιμότητα των ευδιάλυτων ουσιών, όπως του ελαίου σε οργανικό διαλύτη κατά την απελαίωση και στη συνέχεια των πρωτεϊνών στο νερό.

5.4.1.2. Θερμική κατεργασία-Απελαίωση πρώτης ύλης

Πριν την απελαίωση της πρώτης ύλης ελαιοκράμβης, πραγματοποιείται θερμική κατεργασία της σε φούρνο BINDER για 2h στους 70°C για την απενεργοποίηση ενδεχομένως περιεχόμενων αντιθρεπτικών παραγόντων.

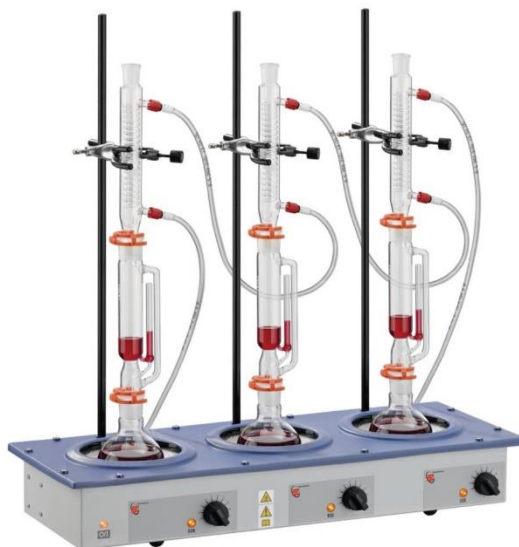
Για την απομάκρυνση των υπολειμματικών ποσοτήτων ελαίου από το πρωτεϊνικό προϊόν ελαιοκράμβης, εφαρμόζεται η μέθοδος Soxhlet. Προζυγισμένη καρτούσα πληρώνεται με ποσότητα αλεσμένης ελαιοκράμβης, ζυγισμένη με ακρίβεια 4 δεκαδικών ψηφίων, και καλύπτεται με βαμβάκι. Κατά αυτόν τον τρόπο αποτρέπεται η απώλεια στερεού στα τοιχώματα της διάταξης. Η καρτούσα με το στερεό υλικό τοποθετείται στο εσωτερικό του υποδοχέα της διάταξης Soxhlet, ο οποίος συνδέεται με ένα γυάλινο ψυκτήρα.

Ποσότητα πετρελαϊκού αιθέρα εισάγεται σε σφαιρική φιάλη, η οποία προσαρμόζεται σε θερμαινόμενο μανδύα. Ο υποδοχέας εφαρμόζεται στην κορυφή της σφαιρικής φιάλης και η συσκευή Soxhlet ρυθμίζεται σε τέτοια επίπεδα θέρμανσης προκειμένου να επιτευχθεί ήπιος βρασμός του διαλύματος. Η παροχή νερού ρυθμίζεται κατάλληλα έτσι ώστε να παρέχει ικανοποιητική ψύξη.

Ο διαλύτης εισέρχεται στο κύκλωμα του συμπυκνωτή και επιστρέφει στην φιάλη εμπλουτισμένος με έλαιο. Με την ολοκλήρωση της διαδικασίας (διαρκεί περίπου 2-2,5h), ο διαλύτης έχει αποχρωματιστεί και δεν μπορεί πλέον να εκχυλίσει περαιτέρω

έλαιο. Η συσκευή κλείνεται και το εμπλουτισμένο διάλυμα αφήνεται να κρυώσει για 1h εντός της διάταξης και εκτός διάταξης για 15min.

Η καρτούσα αφαιρείται και το πρωτεϊνούχο υλικό ελαιοκράμβης τοποθετείται σε φούρνο για 1h στους 60°C. Το διάλυμα εισάγεται σε προζυγισμένα γυάλινα τρυβλία μέχρι εξάτμισης του διαλύτη σε θερμοκρασία δωματίου.



Εικόνα 11: Συσκευή εκχύλισης Soxhlet, θερμαινόμενου μανδύα (3 θέσεων)

5.4.2. Διαδικασία Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων

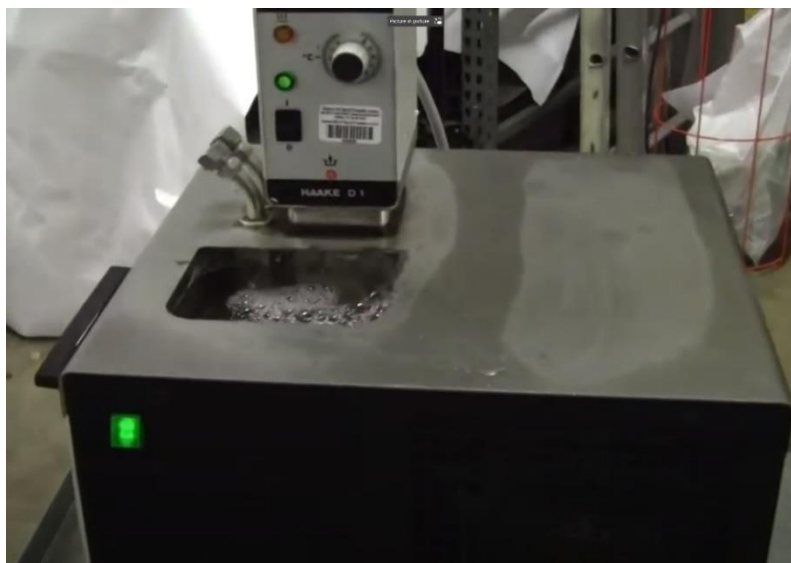
5.4.2.1. Υδατική εκχύλιση πρωτεϊνών

Κατά την υδατική συμβατική εκχύλιση, λαμβάνονται 20g επεξεργασμένης απελαιωμένης ελαιοκράμβης (ζυγισμένη με ακρίβεια 4 δεκαδικών ψηφίων) και ορισμένος όγκος απιονισμένου νερού. Η αναλογία στερεού–υγρού ορίζεται από το σχεδιασμό πειραμάτων, ο οποίος αναφέρεται παρακάτω.

Το ποτήρι ζέσεως με το διαλυτικό μέσο τοποθετείται στο εσωτερικό του λουτρού εκχύλισης HAAKE G με αναδευτήρα, η θερμοκρασία του οποίου έχει ρυθμιστεί στη θερμοκρασία εκχύλισης. Η εκχύλιση είναι μία δυναμική διεργασία που ξεκινά άμεσα με τη διοχέτευση του στερεού στον όγκο του υγρού και ενισχύεται με το ρυθμό ανάδευσης. Όταν επιτευχθεί η θερμοκρασιακή ισορροπία μεταξύ του λουτρού εκχύλισης και του όγκου του διαλύματος εκχύλισης, προστίθεται η προζυγισμένη ποσότητα ελαιοκράμβης.

Με την εισαγωγή του ελαιούχου σπόρου στο διαλυτικό μέσο, ξεκινά η διαδικασία της εκχύλισης και διαρκεί για 30min. Καθώς το απιονισμένο νερό εμπλουτίζεται με τις εκχυλιζόμενες ουσίες, μεταβάλλεται το pH του διαλυτικού μέσου. Διαλύματα θειϊκού

οξέος H_2SO_4 και καυστικού νατρίου $NaOH$ 0,5N εισάγονται στάγδην για τη ρύθμιση του $pH=8$. Η ρύθμιση του pH ελέγχεται με τη βοήθεια φορητού πεχάμετρου και υποβοηθάται από τη δράση του μηχανικού αναδευτήρα.



Εικόνα 12: Λουτρό συμβατικής εκχύλισης HAAKE G

Με την ολοκλήρωση της συμβατικής εκχύλισης, το εκχύλισμα μοιράζεται ισομερώς σε φυγοκεντρικούς κυλίνδρους, προκειμένου να απομονωθεί το διάλυμα των πρωτεϊνών από το στερεό υπόλειμμα που αιωρείται. Η φυγοκέντρωση πραγματοποιείται για 20min στις 4000rpm στη συσκευή HERAEUS MEGAFUGE 16R. Το συνολικό υπερκείμενο υγρό που λαμβάνεται από τη φυγοκέντρωση, διαχωρίζεται από το στερεό υπόλειμμα, το οποίο έχει καθιζάνει, με απλή απόχυση. Το στερεό υπόλειμμα με τη σειρά του συλλέγεται και υποβάλλεται σε ξήρανση σε φούρνο BINDER για 24h στους $60^{\circ}C$.



Εικόνα 13: Φυγόκεντρος HERAEUS MEGAFUGE 16R

5.4.2.2. Εκχύλιση πρωτεϊνών με τη βοήθεια υπερήχων

Κατά την εκχύλιση των πρωτεϊνών με τη βοήθεια υπερήχων, λαμβάνονται 20g επεξεργασμένης απειλωμένης ελαιοκράμβης (ζυγισμένη με ακρίβεια 4 δεκαδικών ψηφίων) και όγκος απιονισμένου νερού. Η αναλογία στερεού–υγρού ορίζεται από το σχεδιασμό πειραμάτων, ο οποίος αναφέρεται παρακάτω.

Το ποτήρι ζέσεως με το διαλυτικό μέσο τοποθετείται εντός του λουτρού υπερήχων Elmasonic S 30H. Ρυθμίζεται η θερμοκρασία αναφοράς της εκχύλισης και ο χρόνος στον οποίο το σύστημα λουτρού–διαλυτικού μέσου έρχεται σε θερμοκρασιακή ισορροπία, ελέγχοντας τυχόν μεταβολές με τη βοήθεια ψηφιακού θερμομέτρου.

Με την επίτευξη της ισορροπίας, ρυθμίζεται εκ νέου ο χρόνος διεργασίας και το λουτρό εκχύλισης τίθεται σε λειτουργία και εισάγεται το στερεό εντός του ποτηριού ζέσεως για να πραγματοποιηθεί η εκχύλιση των πρωτεϊνών. Δίνεται προσοχή ώστε το ποτήρι ζέσεως να βρίσκεται στο κέντρο του λουτρού υπερήχων. Τα επόμενα στάδια της εκχύλισης ταυτίζονται με εκείνα της συμβατικής μεθόδου.



Εικόνα 14: Λουτρό υπερήχων Elmasonic S 30 H

5.4.2.3. Ισοηλεκτρική καταβύθιση

Τόσο στην υδατική συμβατική εκχύλιση όσο και στην εκχύλιση με τη βοήθεια υπερήχων, οι οποίες αναλύονται παραπάνω, στο ογκομετρούμενο υπερκείμενο υγρό γίνεται ρύθμιση του pH στο ισοηλεκτρικό σημείο pI των πρωτεϊνών της ελαιοκράμβης (το οποίο προσδιορίζεται όπως φαίνεται παρακάτω), χρησιμοποιώντας πυκνό διάλυμα HCl 2M με τη βοήθεια φορητού πεχάμετρου υπό συνεχή ανάδευση. Σταδιακά παρατηρείται διαχωρισμός των καταβυθισμένων πρωτεϊνών από τις μη καταβυθισμένες στο πρωτεϊνικό εκχύλισμα. Στη συνέχεια, ο συνολικός όγκος μοιράζεται εκ νέου ισομερώς στους φυγόκεντρικούς κυλίνδρους και προωθούνται στη διάταξη της φυγόκεντρου για 20min στις 4500rpm. Το προκύπτον υπερκείμενο υγρό

απορρίπτεται και λαμβάνεται το πρωτεϊνικό υπερσυμπύκνωμα ελαιοκράμβης ως ένυδρο ίζημα. Το ίζημα μοιράζεται σε προζυγισμένα τρυβλία με όσο το δυνατόν ελάχιστη ποσότητα νερού, τα οποία προωθούνται στην κατάψυξη και στη συσκευή λυοφιλίωσης για 48h στο καθένα, προτού αξιοποιηθούν για προσδιορισμό της περιεκτικότητας των πρωτεϊνών.

5.4.2.4. Παρασκευή ευτηκτικού διαλύτη

Για την παρασκευή 500mL του ευτηκτικού διαλύτη στερεού κιτρικού οξέος–υγρής γλυκερόλης με αναλογία mol 1:1, λαμβάνονται υπόψιν τα μοριακά τους βάρη προκειμένου να υπολογιστούν οι ποσότητες που απαιτούνται. Το υγρό αποτέλεσμα της ανάμειξης των συστατικών υπό συνεχή ανάδευση και θέρμανση στους 80°C πρέπει να αποτελεί το 55% του συνολικού όγκου του ευτηκτικού διαλύτη.

Η ανάδευση του μείγματος γίνεται υπό θέρμανση η οποία διακόπτεται όταν προκύψει ένα ομοιογενές και διαυγές υγρό, στο οποίο εν τέλει προστίθεται 45% νερό προκειμένου να μειωθεί το ιζώδες του και αυτό αποθηκεύεται σε ξηραντήρα σε θερμοκρασία δωματίου για περαιτέρω αξιοποίησή του ως διαλυτικό μέσο στις εκχυλίσεις με τη βοήθεια υπερήχων.

5.4.2.5. Προσδιορισμός ισοηλεκτρικού σημείου

Για τον προσδιορισμό του ισοηλεκτρικού σημείου λαμβάνονται 20g επεξεργασμένης απελαιωμένης ελαιοκράμβης και 500mL απιονισμένου νερού και υποβάλλονται σε συμβατική υδατική εκχύλιση. Με την ολοκλήρωση της εκχύλισης, διαχωρίζεται το πρωτεϊνικό αιώρημα από το στερεό υπόλειμμα μέσω της φυγοκέντρωσης και το προκύπτον υπερκείμενο υγρό ογκομετρείται και μοιράζεται ισομερώς σε ποτήρια ζέσεως των 100mL. Ακολουθεί η ρύθμιση του pH των δειγμάτων σε εύρος 3–6, όπου στο υποδιάστημα pH=4–4,5 λαμβάνονται περισσότερες τιμές, όπου αναμένεται να βρίσκεται το ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών της ελαιοκράμβης σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Chmielewska et al., 2020). Το περιεχόμενο κάθε ποτηριού εισάγεται εκ νέου στους φυγοκεντρικούς κυλίνδρους προκειμένου να απομονωθούν οι καταβυθισμένες πρωτεΐνες υπό τη μορφή ιζήματος, οι οποίες μοιράζονται σε τρυβλία και τοποθετούνται σε κλίβανο ξήρανσης για 24h.

Ο προσδιορισμός του ισοηλεκτρικού σημείου γίνεται άμεσα με ζύγιση του βάρους των καταβυθισμένων πρωτεϊνών έπειτα από τη ξήρανση μέσω του διαγράμματος %βάρους ιζήματος-pH. Η τιμή του ισοηλεκτρικού σημείου pI αντιστοιχεί στη μέγιστη τιμή της μεταβλητής %βάρους ιζήματος.

5.5. Ισοζύγια πρωτεϊνών στο σύνολο της πειραματικής διαδικασίας

Αν Μ η μάζα της πρωτεϊνικής πρώτης ύλης με α% περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, m' η μάζα του στερεού υπολείμματος που λαμβάνεται από το στάδιο της εκχύλισης με β% περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και μ η αντίστοιχη μάζα του πρωτεϊνικού υπερσυμπυκνώματος ελαιοκράμβης με γ% περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, τότε τα ισοζύγια πρωτεϊνών στο σύνολο της πειραματικής διαδικασίας είναι:

- Αρχικές πρωτεΐνες πρώτης ύλης = $\alpha * \frac{M}{100}$
- Εκχυλισμένες πρωτεΐνες = $\alpha * \frac{M}{100} - \beta * \frac{m'}{100}$
- Μη εκχυλισμένες πρωτεΐνες = $\beta * \frac{m'}{100}$
- Περιεκτικότητα υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη(%) = $\gamma * \frac{\mu}{100}$
- $A_{\text{εκχύλισης}}(\%) = \frac{\alpha * \frac{M}{100} - \beta * \frac{m'}{100}}{\alpha * \frac{M}{100}} \cdot 100$
- $A_{\text{καταβύθισης}}(\%) = \frac{\gamma * \frac{\mu}{100}}{\alpha * \frac{M}{100} - \beta * \frac{m'}{100}} \cdot 100$
- Ολική απόδοση(%) = $\frac{\gamma * \frac{\mu}{100}}{\alpha * \frac{M}{100}} \cdot 100$

5.6. Προσδιορισμοί–Μετρήσεις

5.6.1. Μέθοδος Kjeldahl–Προσδιορισμός περιεκτικότητας αζώτου

Σε αναλυτικό ζυγό 4 δεκαδικών ψηφίων ζυγίζονται 10g θειϊκού καλίου K₂SO₄ και 1g ένυδρου θειϊκού χαλκού CuSO₄·5H₂O, οι οποίες εισάγονται στις ειδικές φιάλες καύσης Kjeldahl μαζί με ποσότητα ελαιοκράμβης. Για την επεξεργασμένη πρώτη ύλη ελαιοκράμβης χρησιμοποιούνται 1 ή 1,5g με ακρίβεια 4 δεκαδικών ψηφίων, για το στερεό υπόλειμμα της εκχύλισης 1,5g και για τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα 1g. Στην περίπτωση του τυφλού προσδιορισμού δεν χρησιμοποιείται ποσότητα πρωτεϊνούχου υλικού.

Στις γυάλινες φιάλες εισάγονται 25mL πυκνού διαλύματος θειϊκού οξέος H_2SO_4 0,5N $\geq 95\%$ με τη βοήθεια σιφωνίου καθώς και πυρήνες βρασμού που υποβοηθούν την ομοιόμορφη καύση. Οι φιάλες ανακινούνται προκειμένου οι στερεές ουσίες να διαποτιστούν ομοιόμορφα από το διάλυμα πυκνού θειϊκού οξέος H_2SO_4 και εισάγονται στις 4 θερμικές εστίες της συσκευής καύσης Kjeldahl BUCHI 425 Digestor. Ακολούθως οι φιάλες συνδέονται με σωλήνα κενού που απομακρύνει τα αέρια της καύσης με αντλία κενού-βρύσης. Ρυθμίζεται η ένταση της θέρμανσης σε χαμηλά επίπεδα καθώς και η παροχή νερού σε ικανοποιητική ροή.

Με την εφαρμογή ήπιας θέρμανσης για 20min, το δείγμα εντός της ειδικής φιάλης καύσης Kjeldahl ανέρχεται υπό τη μορφή ένυδρης καφέ μάζας και δίνεται προσοχή ώστε να μην ξεπεράσει μία συγκεκριμένη στάθμη της φιάλης και παρατηρηθεί απώλεια δείγματος. Όταν δημιουργούνται οι πρώτοι ατμοί εντός της φιάλης, οι οποίοι υποδηλώνουν την καύση των οργανικών ενώσεων και τη μετατροπή του αμμωνιακού αζώτου σε όξινο θειϊκό αμμώνιο (η αντίδραση μετατροπής υποβοηθάται από την παρουσία-θειϊκού καλίου K_2SO_4 και ένυδρου θειϊκού χαλκού $CuSO_4 \cdot 5H_2O$), η ένταση της θέρμανσης ρυθμίζεται σε μέγιστα επίπεδα.

Με την ολοκλήρωση της καύσης, επιτυγχάνεται η έκπλυση των τοιχωμάτων των φιαλών και η πλήρης διαύγαση των δειγμάτων, η οποία σηματοδοτείται μέσω του πράσινου χρωματισμού που αποκτούν τα δείγματα. Οι φιάλες αφήνονται να ψυχθούν για ικανό διάστημα με τη ροή νερού που παρέχει το σύστημα, καθώς ακόμα εκλύονται αέρια τα οποία μπορούν να προκαλέσουν σοβαρά αναπνευστικά προβλήματα.



Εικόνα 15: Επιμέρους στάδια στη συσκευή καύσης Kjeldahl

Εφόσον τα δείγματα έχουν ψυχθεί, τοποθετούνται ένα κάθε φορά στη συσκευή απόσταξης Kjeldahl BUCHI K-350. Η συσκευή αυτή συνδέεται με δύο δοχεία με απιονισμένο νερό και διάλυμα 32% NaOH (παρασκευάζεται από 320g NaOH υπό τη μορφή στερεών σφαιριδίων σε 1L νερού βρύσης με ανάδευση μέχρι πλήρους διάλυσης). Κατά την απόσταξη, το όξινο θειϊκό αμμώνιο μετατρέπεται σε αέρια

αμμωνία σε έντονες αλκαλικές συνθήκες με την παρουσία υδρατμών. Στη θέση εξόδου της συσκευής απόσταξης Kjeldahl BUCHI K-350, τοποθετείται κωνική φιάλη των 250mL με 50mL 0,5N θειϊκού οξέος, για την παραλαβή του αποστάγματος.



Εικόνα 16: Συσκευή απόσταξης Kjeldahl

Η κωνική φιάλη με το απόσταγμα, το οποίο έχει περίσσεια οξέος, τιτλοδοτείται με όγκο καυστικού νατρίου NaOH 0,5N με δείκτη ερυθρό μεθυλίου–μπλε μεθυλενίου. Κατά την τιτλοδότηση, παρατηρείται μεταβολή του χρώματος του δείγματος από μωβ σε πράσινο και προσδιορίζεται ο όγκος καυστικού νατρίου, ο οποίος απαιτείται για τη χρωματική αλλαγή. Η επί τοις εκατό περιεκτικότητα του δείγματος σε άζωτο υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{Περιεκτικότητα σε άζωτο N (\%)} = \frac{14,007 * |V_1 - V_2| * N}{\beta} \cdot 100$$

όπου,

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

V_2 : ο καταναλωθείς όγκος του πρότυπου διαλύματος καυστικού νατρίου κατά τον τυφλό προσδιορισμό (mL)

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

β : το βάρος του πρωτεϊνικού δείγματος (g)

Οι πρωτεΐνες που αντιστοιχούν στη συγκεκριμένη περιεκτικότητα αζώτου ορίζεται ως εξής:

$$\text{Πρωτεΐνες(\%)} = \text{N(\%)} \cdot 6,25$$

5.6.2. Μέτρηση λειτουργικών ιδιοτήτων

Οι λειτουργικές ιδιότητες που μελετώνται είναι η ικανότητα συγκράτησης νερού και η ικανότητα δέσμευσης ελαίου από τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα ελαιοκράμβης. Λαμβάνονται 0,5g πρωτεϊνικού υπερσυμπυκνώματος ελαιοκράμβης και τοποθετούνται σε κυλινδρικούς γυάλινους σωλήνες με 5mL απιονισμένου νερού ή αραβοσιτέλαιου, με αποτέλεσμα να σχηματίζονται διφασικά συστήματα. Οι γυάλινοι σωλήνες προωθούνται στον αναδευτήρα VORTEX μέχρι να επιτευχθεί μία ενιαία φάση και εισάγονται στη φυγόκεντρο Hettich Universal II για 15min. Μετά την ολοκλήρωση της φυγοκέντρωσης, καταγράφεται ο όγκος του υγρού που συγκρατείται.

Η ικανότητα δέσμευσης ελαίου και συγκράτησης νερού εκφράζονται ως τα mL της ουσίας ανά 100g δείγματος και υπολογίζονται από τη σχέση:

$$\text{WAC ή OAC (\%)} = \frac{V-V_v}{\beta} \cdot 100$$

όπου,

V: ο αρχικός όγκος του ελαίου ή του νερού ανάλογα με την περίπτωση που εξετάζεται (mL)

V_v: ο όγκος του υπερκείμενου ελαίου ή νερού (mL)

β: το βάρος του δείγματος (g)

5.6.3. Προσδιορισμός υγρασίας της πρώτης ύλης

Ποσότητα 5g πρώτης ύλης ελαιοκράμβης λαμβάνεται με ακρίβεια 4 δεκαδικών ψηφίων, τοποθετείται σε προζυγισμένο φορέα και ξηραίνεται σε κλίβανο στους 100°C για 24h. Με την ολοκλήρωση της ξήρανης, προσδιορίζεται η μεταβολή του μεικτού βάρους του δείγματος φορέα-πρώτης ύλης.

Η υγρασία της πρώτης ύλης υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\text{Υγρασία (\%)} = \frac{\text{Αρχικό βάρος δείγματος(g)} - \text{Τελικό βάρος δείγματος μετά τη ξήρανη(g)}}{\text{Αρχικό βάρος δείγματος(g)}} \cdot 100$$

5.6.4. Προσδιορισμός περιεκτικότητας πρώτης ύλης σε έλαιο

Ο εμπλουτισμένος με έλαιο διαλύτης μεταφέρεται σε προζυγισμένα γυάλινα τρυβλία και αφήνεται να εξατμιστεί. Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας της πρώτης ύλης ελαιοκράμβης σε έλαιο γίνεται μέσω της σχέσης:

$$\text{Περιεκτικότητα σε έλαιο (\%)} = \frac{\text{Βάρος ελαίου(g)}}{\text{Αρχικό βάρος πρώτης ύλης(g)}} \cdot 100$$

όπου, Βάρος ελαίου=Αρχικό βάρος δείγματος (g)-Τελικό βάρος δείγματος μετά την εξάτμιση του διαλύτη(g)

5.7. Σχεδιασμός πειραμάτων

Ο σχεδιασμός πειραμάτων της συμβατικής υδατικής εκχύλισης και της εκχύλισης με τη βοήθεια υπερήχων των πρωτεϊνών έχει απώτερο σκοπό τη βελτιστοποίηση των παραμέτρων εκχύλισης και τη μεγιστοποίηση της απόδοσης εκχύλισης των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης. Ορισμένες από τις παραμέτρους που μελετώνται πειραματικά στη διεργασία της εκχύλισης των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης είναι η θερμοκρασία, ο χρόνος, το pH και η αναλογία στερεού–υγρού.

5.7.1. Σχεδιασμός πειραμάτων για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με συμβατική υδατική εκχύλιση των πρωτεϊνών

Στην παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης με συμβατική υδατική εκχύλιση εξετάζεται η μεταβολή της απόδοσης εκχύλισης των πρωτεϊνών υπό σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας και pH, επιλέγοντας διαφορετικές αναλογίες στερεού–υγρού, όπως παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 6: : Σχεδιασμός πειραμάτων για συμβατική υδατική εκχύλιση πρωτεϊνών

Συμβατική υδατική εκχύλιση	
Θερμοκρασία T (°C)	50
pH	8
Χρόνος t (min)	30
Αναλογία στερεού–υγρού w/v (g/mL)	1/15, 1/20, 1/25

5.7.2. Σχεδιασμός πειραμάτων για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων μέσω εκχύλισης των πρωτεϊνών με τη βοήθεια υπερήχων

Υπό σταθερή ισχύ και συχνότητα υπερήχων, εξετάζονται οι παράμετροι που μεταβάλλονται για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης, οι οποίες είναι οι εξής:

Πίνακας 7: Σχεδιασμός πειραμάτων για εκχύλιση πρωτεϊνών υποβοηθούμενη με υπέρηχους

Εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους				
Ισχύς υπερήχων (W)	320	320	320	320
Συχνότητα υπερήχων (kHz)	37	37	37	37
Θερμοκρασία T (°C)	50	40	40	40
pH	8	8	8	9
Χρόνος t (min)	15,20,30	10,15	10,15,20	10,15
Αναλογία στερεού–υγρού w/v (g/mL)	1/20,1/25	1/15,1/20,1/25	1/20,1/25	1/20,1/25

5.7.3. Σχεδιασμός πειραμάτων για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με ευτηκτικό διαλύτη

Η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση των πρωτεϊνών με ευτηκτικό διαλύτη πραγματοποιείται υπό τις εξής συνθήκες:

Πίνακας 8: Σχεδιασμός πειραμάτων για εκχύλιση πρωτεϊνών με ευτηκτικό διαλύτη

Εκχύλιση με ευτηκτικό διαλύτη	
Θερμοκρασία T (°C)	50
pH	8
Χρόνος t (min)	30
Αναλογία στερεού–υγρού w/v (g/mL)	1/25

6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

6.1. Προσδιορισμός ισοηλεκτρικού σημείου

Στο προσδιορισμό του ισοηλεκτρικού σημείου pI των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης, λαμβάνονται οι τιμές της ξηρής μορφής των πρωτεϊνικών προϊόντων κάθε ποτηριού, όπως αποδίδονται στον παρακάτω πίνακα:

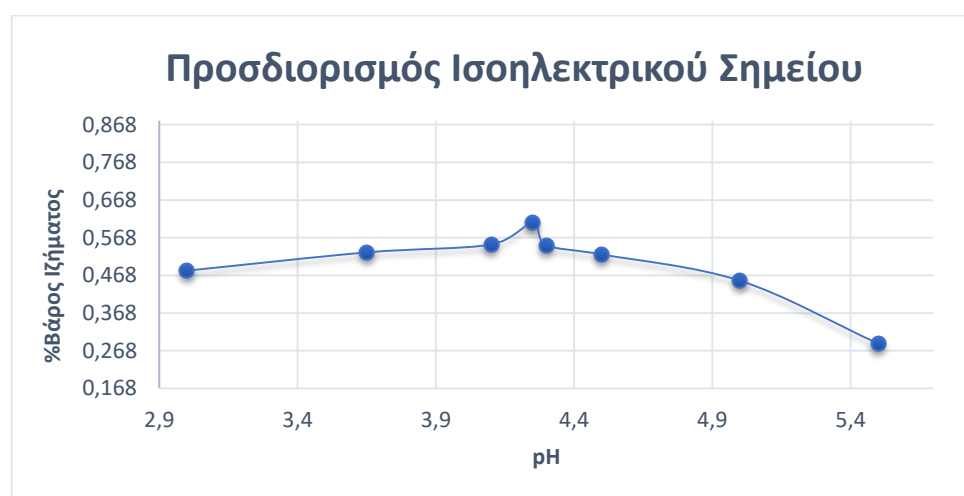
Πίνακας 9: Δεδομένα βάρους κατά τον προσδιορισμό του ισοηλεκτρικού σημείου

Τριβλύο	pH	Μεικτό βάρος (g)	Απόβαρο (g)	Βάρος ιζήματος (g)	%Βάρος ιζήματος
1	5,50	7,2096	7,1522	0,0574	0,2870
2	5,00	7,0796	6,9888	0,0908	0,4540
3	4,50	7,2731	7,1684	0,1047	0,5270
4	4,30	7,3127	7,2031	0,1096	0,5480
5	4,25	7,1089	6,9875	0,1214	0,6070
6	4,10	7,1454	7,0354	0,1100	0,5500
7	3,65	7,1376	7,0318	0,1058	0,5290
8	3,00	7,3338	7,2377	0,0961	0,4805

Με δεδομένο ότι χρησιμοποιούνται 20g πρώτης ύλης ελαιοκράμβης, ισχύει ότι:

$$(\%)\text{Βάρος ιζήματος} = \frac{\text{Βάρος ιζήματος(g)}}{\text{Αρχικό βάρος πρώτης ύλης(g)}} \cdot 100$$

Το ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης αντιστοιχεί στην τιμή pH, στην οποία παρατηρείται η μέγιστη τιμή (%Βάρος ιζήματος). Με βάση τον παραπάνω πίνακα, η τιμή του ισοηλεκτρικού σημείου είναι pI=4,25. Το συγκεκριμένο αποτέλεσμα αποδίδεται και γραφικά μέσω του διαγράμματος %Βάρος ιζήματος-pH:



Διάγραμμα 3: Καμπύλη προσδιορισμού ισοηλεκτρικού σημείου

6.2. Σύσταση πρώτης ύλης

Η πρώτη ύλη έχει υγρασία $(8,8664 \pm 0,0161)\%$, η περιεκτικότητά της σε υπολειμματικό έλαιο είναι $(3,37 \pm 0,06)\%$, ενώ τα επίπεδα πρωτεΐνης είναι $(39,5 \pm 0,0005)\%$. Οι τιμές επιβεβαιώνονται και από πίνακα που έχει προαναφερθεί στη βιβλιογραφία (Argutia et al., 2020).

6.3. Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων

6.3.1. Αποτελέσματα παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης πρωτεϊνών

Πίνακας 10: Αποδόσεις πειραμάτων με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης πρωτεϊνών

Συμβατική υδατική εκχύλιση $T=50^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$ και $t=30\text{min}$				
Αναλογία w/v	$A_{\text{εκχύλισης}}(\%)$	$A_{\text{καταβύθισης}}(\%)$	Ολική απόδοση(%)	Περιεκτικότητα υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη(%)
w/v = 1/25	24,6439	15,0673	3,9383	67,8433
w/v = 1/20	23,5026	15,0729	3,6571	70,8640
w/v = 1/15	24,0549	14,2873	3,4576	40,5528

Στον πίνακα 10, παρατηρείται ότι η απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών κυμαίνεται από 23,50% έως 24,65%, η απόδοση καταβύθισης πρωτεϊνών ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες από 14,28% έως 15,07% και η ολική απόδοση πρωτεϊνών από 3,45% έως 3,94%. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του υπερσυμπυκνώματος αυξάνεται με την αύξηση της αναλογίας w/v.

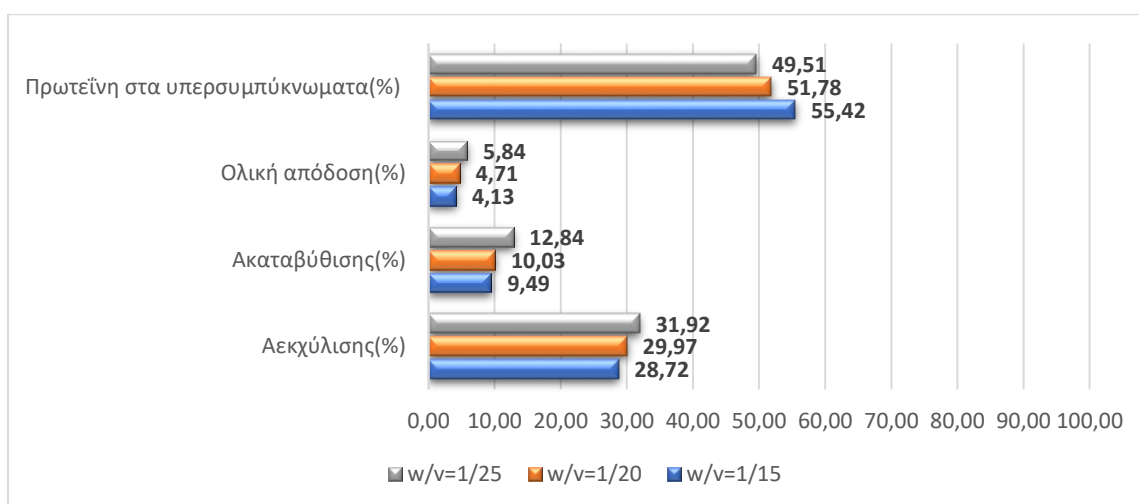
Γενικά, το εύρος περιεκτικότητας υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη(%) στη συμβατική υδατική μέθοδο εκχύλισης κυμαίνεται μεταξύ του 70% και 90%, με τις αντίστοιχες αυξομειώσεις. Η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης και στη βιβλιογραφία ανέρχεται και ως το 30% μέσω της συμβατικής υδατικής μεθόδου εκχύλισης, παρουσία αλκαλίων και ακολουθούμενη από όξινη καταβύθιση για την παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων (Yonsel, 2018) (Balandrán-Quintana et al., 2019).

6.3.2. Αποτελέσματα παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων μέσω εκχύλισης πρωτεϊνών υποβοηθούμενη με υπέρηχους

6.3.2.1. Εκχύλιση με υπέρηχους T=40°C, pH=8 και t=10min

Πίνακας 11: Αποδόσεις πειραμάτων εκχύλισης με τη χρήση υπέρηχων για T=40°C, pH=8, t=10min

Εκχύλιση με υπέρηχους T=40°C, pH=8 και t=10min				
Αναλογία w/v	Αεκχύλισης(%)	Ακαταβύθισης(%)	Ολική απόδοση(%)	Περιεκτικότητα υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη(%)
w/v = 1/25	31,9224	12,8373	5,8390	49,5128
w/v = 1/20	29,9705	10,0304	4,7069	51,7791
w/v = 1/15	28,7164	9,4881	4,1307	55,4216



Διάγραμμα 4: Μεταβολή αποδόσεων πρωτεϊνών για τα πειράματα με τη χρήση υπέρηχων σε συνθήκες T=40°C, pH=8, t=10min

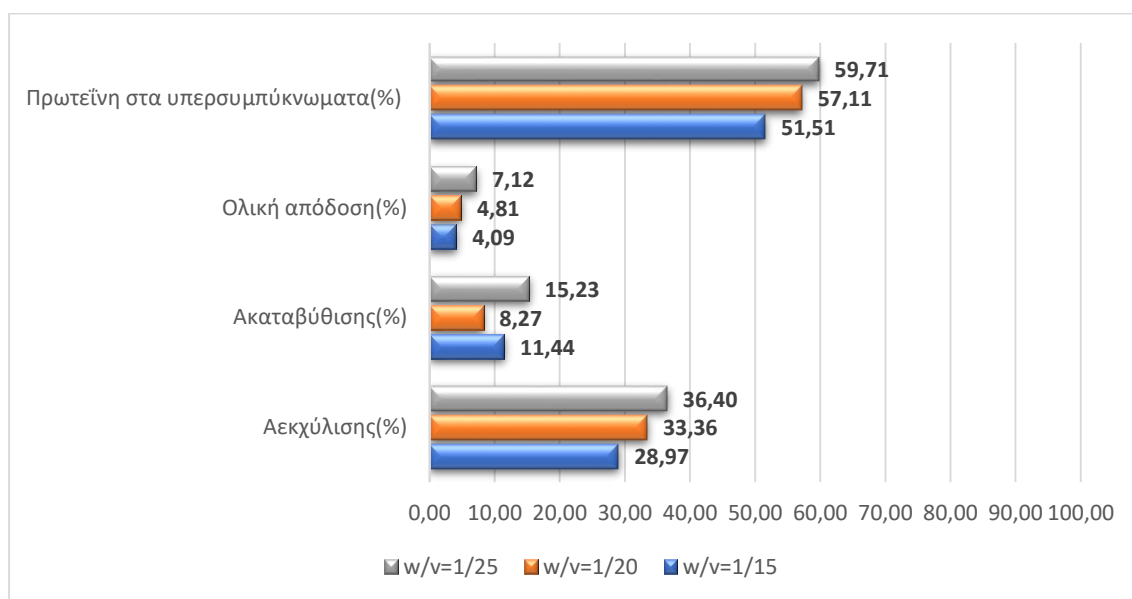
Στον πίνακα 11, παρατηρείται ότι σε θερμοκρασία 40°C, σε pH=8 και για 10min, η απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών κυμαίνεται από 28,71% έως 31,92% και αυξάνεται με την αντίστοιχη μεταβολή της αναλογίας w/v. Η απόδοση καταβύθισης πρωτεϊνών ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες αυξάνεται κατά 5,67%. Η μέγιστη τιμή της ολικής απόδοσης πρωτεϊνών της μεθόδου ανέρχεται στο 5,84%. Τέλος, η περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη μεταβάλλεται αντιστρόφως ανάλογα με την αύξηση της αναλογίας w/v.

Παρά τη βελτίωση της απόδοσης εκχύλισης πρωτεϊνών συγκριτικά με τη συμβατική μέθοδο, η περιεκτικότητα των τελικών προϊόντων σε πρωτεΐνη είναι χαμηλή και θεωρητικά δεν τα κατατάσσει στην κατηγορία των υπερσυμπυκνωμάτων (Hald & Dawid & Tressel & Hofmann, 2018).

6.3.2.2. Εκχύλιση με υπέρηχους T=40°C, pH=8 και t=15min

Πίνακας 12: Αποδόσεις πειραμάτων εκχύλισης με τη χρήση υπέρηχων για T=40°C, pH=8, t=15min

Εκχύλιση με υπέρηχους T=40°C, pH=8 και t=15min				
Αναλογία w/v	A _{εκχύλισης} (%)	A _{καταβύθισης} (%)	Ολική απόδοση(%)	Περιεκτικότητα υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη(%)
w/v = 1/25	36,4037	15,2271	7,1172	59,7143
w/v = 1/20	33,3606	8,2683	4,8070	57,1107
w/v = 1/15	28,9728	11,4360	4,0854	51,5080



Διάγραμμα 5: Μεταβολή αποδόσεων για τα πειράματα μέσω εκχύλισης με τη χρήση υπέρηχων σε συνθήκες T=40°C, pH=8, t=15min

Στον πίνακα 12 και το διάγραμμα 5, παρατηρείται ότι για την θερμοκρασία των 40°C, σε pH=8 και για τα 15min της μεθόδου, η απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών αυξάνεται κατά 25,64% με τη μεταβολή της αναλογίας στερεού–υγρού. Η απόδοση καταβύθισης πρωτεϊνών ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες κυμαίνεται από 8,43% έως 15,23%. Η

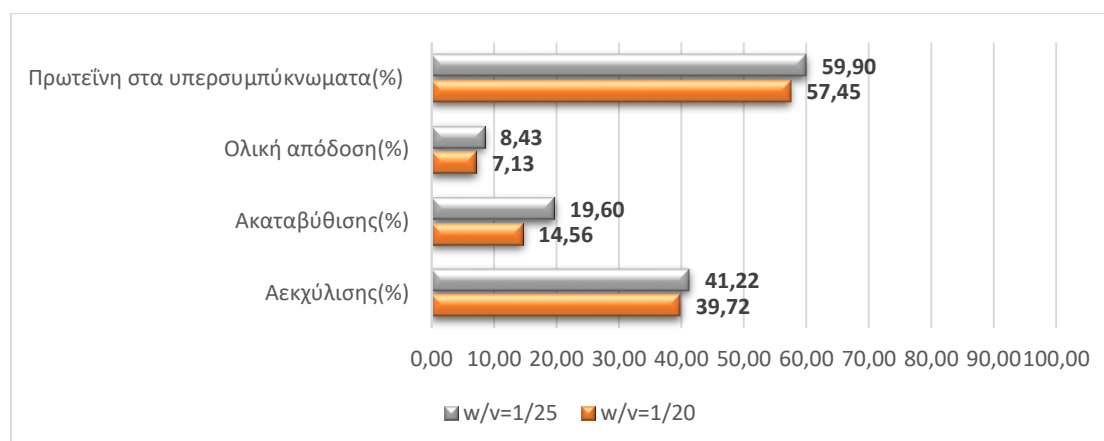
ολική απόδοση ανέρχεται έως και 7,11%. Η περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη μεταβάλλεται από 51,51% έως 59,71%.

Για τη συγκεκριμένη σειρά πειραμάτων, οι μέγιστες τιμές αποδόσεων παρατηρούνται σε αναλογία στερεού–υγρού $w/v=1/25$.

6.3.2.3. Εκχύλιση με υπέρηχους $T=40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$ και $t=20\text{min}$

Πίνακας 13: Αποδόσεις πειραμάτων εκχύλισης με τη χρήση υπέρηχων για $T=40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$ και $t=20\text{min}$

Εκχύλιση με υπέρηχους $T=40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$ και $t=20\text{min}$				
Αναλογία w/v	$A_{\text{εκχύλισης}}(\%)$	$A_{\text{καταβύθισης}}(\%)$	Ολική απόδοση(%)	Περιεκτικότητα υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη(%)
$w/v = 1/25$	41,2164	19,5960	8,4324	59,8953
$w/v = 1/20$	39,7184	14,5645	7,1284	57,4540



Διάγραμμα 6: Μεταβολή αποδόσεων πρωτεϊνών για τα πειράματα μέσω εκχύλισης με τη χρήση υπέρηχων σε συνθήκες $T=40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8$ και $t=20\text{min}$

Η απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών κυμαίνεται από 39,72% έως 41,22%, προσεγγίζοντας τις τιμές που παρατηρούνται στη βιβλιογραφία (Kamal et al., 2020).

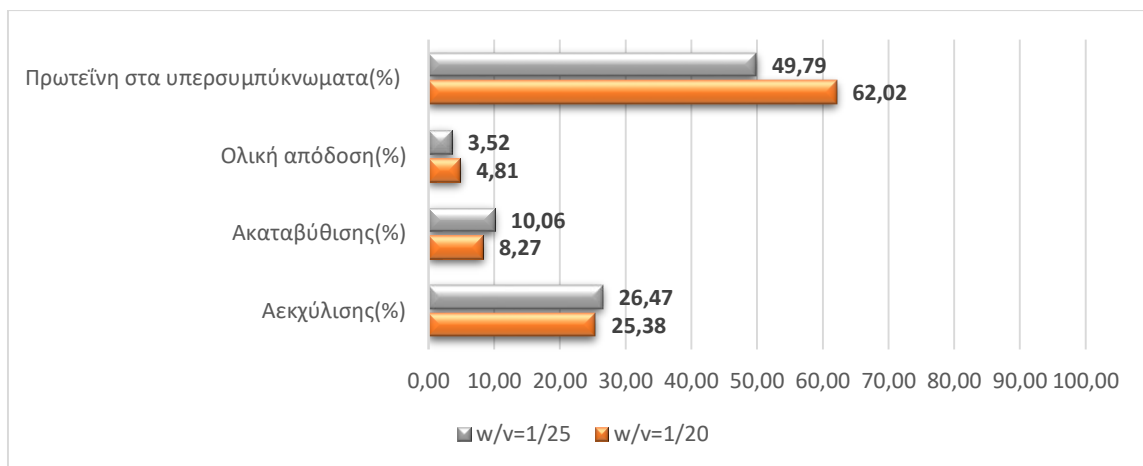
Η απόδοση καταβύθισης πρωτεϊνών μεταβάλλεται από 14,56% έως 19,59% με την αύξηση της αναλογίας στερεού–υγρού. Η ολική απόδοση πρωτεϊνών της μεθόδου είναι σε ένα εύρος από 7,13% έως 8,43%. Τέλος, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη των υπερσυμπυκνωμάτων αυξάνεται με την αναλογία w/v από 57,45% σε 59,90%.

Με τις δεδομένες συνθήκες πειραμάτων εκχύλισης πρωτεϊνών με τη βοήθεια υπέρηχων, οι επιμέρους αποδόσεις είναι βέλτιστες στην μεγαλύτερη αναλογία $w/v=1/25$.

6.3.2.4. Εκχύλιση με υπέρηχους T=40°C, pH=9 και t=10min

Πίνακας 14: Αποδόσεις πειραμάτων εκχύλισης με τη χρήση υπέρηχων για T=40°C, pH=9, t=10min

Εκχύλιση με υπέρηχους T=40°C, pH=9 και t=10min				
Αναλογία w/v	A _{εκχύλισης} (%)	A _{καταβύθισης} (%)	Ολική απόδοση(%)	Περιεκτικότητα υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη(%)
w/v = 1/25	26,4673	10,0573	3,5153	49,7939
w/v = 1/20	25,3778	8,2683	4,8070	62,0230



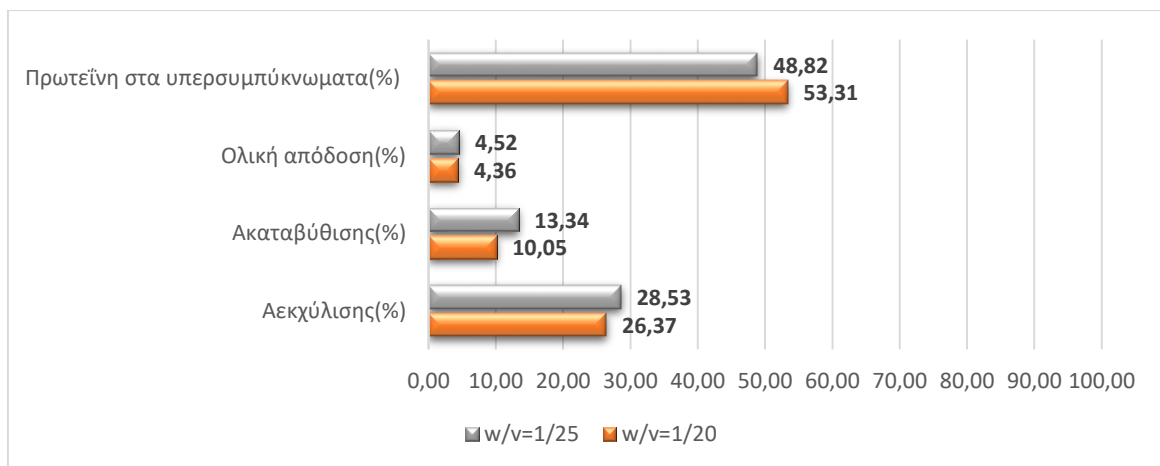
Διάγραμμα 7: Μεταβολή αποδόσεων πρωτεϊνών για τα πειράματα μέσω εκχύλισης με τη χρήση υπέρηχων σε συνθήκες T=40°C, pH=9, t=10min

Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων όπως αποδίδονται στο παραπάνω διάγραμμα, η μέγιστη απόδοση εκχύλισης και καταβύθισης πρωτεϊνών παρατηρείται σε αναλογία στερεού-υγρού υγρό w/v=1/25. Η ολική απόδοση πρωτεϊνών κυμαίνεται από 4,81% έως 3,52% και μειώνεται με την αύξηση της αναλογίας w/v. Η περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη μειώνεται με τη μεταβολή της αναλογίας w/v από 62,02% σε 49,79%.

6.3.2.5. Εκχύλιση με υπέρηχους T=40°C, pH=9 και t=15min

Πίνακας 15: Αποδόσεις πειραμάτων εκχύλισης με τη χρήση υπέρηχων για T=40°C, pH=9, t=15min

Εκχύλιση με υπέρηχους T=40°C, pH=9 και t=10min				
Αναλογία w/v	A _{εκχύλισης} (%)	A _{καταβύθισης} (%)	Ολική απόδοση(%)	Περιεκτικότητα υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη(%)
w/v = 1/25	28,5294	13,3366	4,5171	48,8246
w/v = 1/20	26,3674	10,0498	4,3575	53,3070



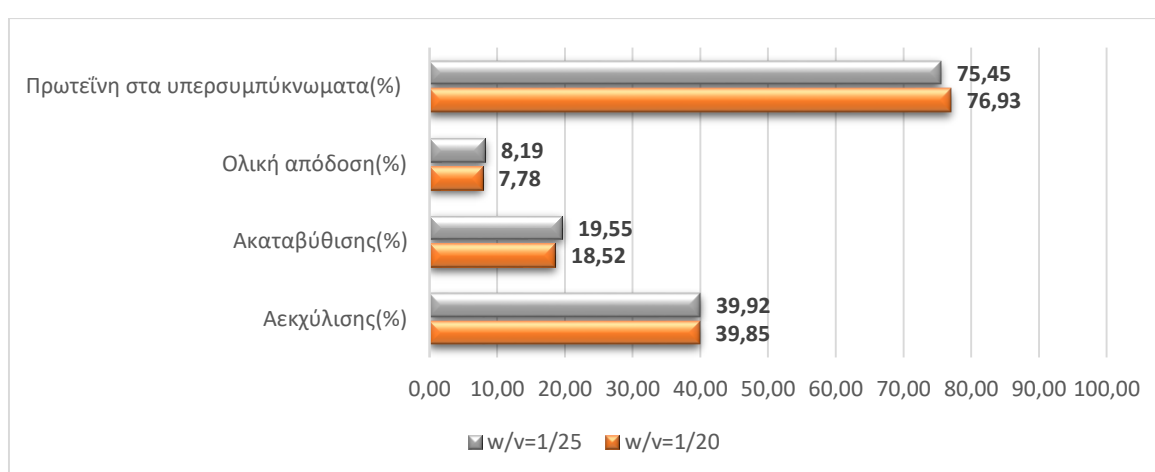
Διάγραμμα 8: Μεταβολή αποδόσεων πρωτεϊνών για τα πειράματα μέσω εκχύλισης με τη χρήση υπέρηχων σε συνθήκες T=40°C, pH=9, t=15min

Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων όπως αποδίδονται στο παραπάνω διάγραμμα, η μέγιστη απόδοση εκχύλισης και καταβύθισης πρωτεϊνών παρατηρείται για λόγο στερεού προς υγρό 1/25. Η ολική απόδοση πρωτεϊνών κυμαίνεται από 4,36% έως 4,52%. Η περιεκτικότητα των τελικών προϊόντων σε πρωτεΐνη είναι χαμηλή και θεωρητικά δεν τα κατατάσσει στην κατηγορία των υπερσυμπυκνωμάτων (Hald & Dawid & Tressel & Hofmann, 2018).

6.3.2.6. Εκχύλιση με υπέρηχους T=50°C, pH=8 και t=15min

Πίνακας 16: Αποδόσεις πειραμάτων εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων για T=50°C, pH=8 και t=15min

Εκχύλιση με υπέρηχους T=50°C, pH=8 και t=15min				
Αναλογία w/v	A _{εκχύλισης} (%)	A _{καταβύθισης} (%)	Ολική απόδοση(%)	Περιεκτικότητα υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη(%)
w/v = 1/25	39,9178	19,5524	8,1949	75,4505
w/v = 1/20	39,8471	18,5245	7,7766	76,9302



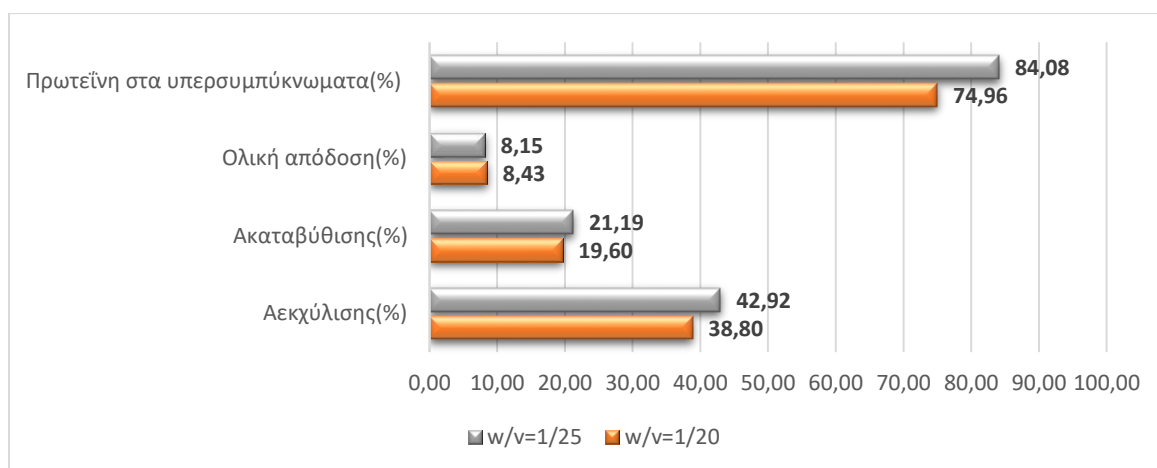
Διάγραμμα 9: Μεταβολή αποδόσεων πρωτεϊνών για τα πειράματα μέσω εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων σε συνθήκες T=50°C, pH=8 και t=15min

Στον πίνακα 16 και το διάγραμμα 9, για θερμοκρασία 50°C, pH=8 και για 15min, η απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών παραμένει σχεδόν σταθερή με την πάροδο του χρόνου και τη μεταβολή της αναλογίας w/v. Η απόδοση καταβύθισης πρωτεϊνών κυμαίνεται από 18,52% έως 19,55% και παρουσιάζει 5,56% αύξηση. Η ολική απόδοση πρωτεϊνών αυξάνεται κατά 5,20% με την αντίστοιχη αύξηση της αναλογίας στερεού-υγρού. Αντιθέτως, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη των υπερσυμπυκνωμάτων μειώνεται από 76,93% σε 75,45%.

6.3.2.7. Εκχύλιση με υπέρηχους T=50°C, pH=8 και t=20min

Πίνακας 17: Αποδόσεις πειραμάτων εκχύλισης με τη χρήση υπέρηχων για T=50°C, pH=8 και t=20min

Εκχύλιση με υπέρηχους T=50°C, pH=8 και t=20min				
Αναλογία w/v	A _{εκχύλισης} (%)	A _{καταβύθισης} (%)	Ολική απόδοση(%)	Περιεκτικότητα υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη(%)
w/v = 1/25	42,9188	21,1887	8,1476	84,0760
w/v = 1/20	38,8034	19,5979	8,4301	74,9563



Διάγραμμα 10: Μεταβολή αποδόσεων πρωτεϊνών για τα πειράματα μέσω εκχύλισης με τη χρήση υπέρηχων σε συνθήκες T=50°C, pH=8 και t=20min

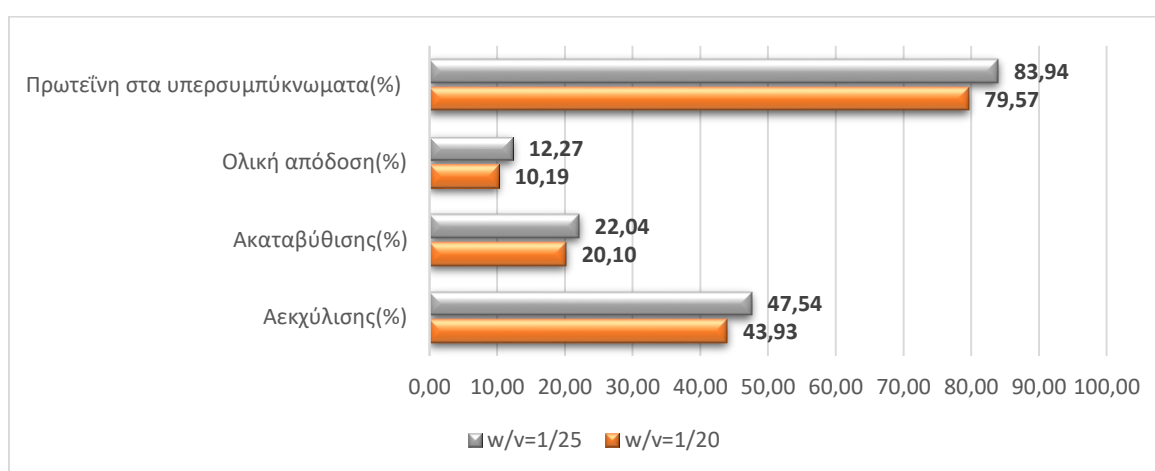
Στα πλαίσια της σειράς πειραμάτων για θερμοκρασία 50°C, pH=8 και χρόνο 20min, η απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών μεταβάλλεται κατά 10,6% με την αύξηση της αναλογίας w/v. Η απόδοση καταβύθισης πρωτεϊνών ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες κυμαίνεται από 19,60% έως 21,19%. Από το διάγραμμα 9, η μεταβολή της ολικής απόδοσης πρωτεϊνών είναι σχεδόν αμελητέα με τη μέγιστη τιμή να είναι 8,43% για την μικρότερη αναλογία στερεού-υγρού.

Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη των υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης διαφοροποιείται αισθητά μεταξύ των δύο αναλογιών w/v που εξετάζονται. Στην περίπτωση της αναλογίας w/v=1/25, η τιμή βρίσκεται ικανοποιητικά εντός του εύρους που παρατηρείται και στη βιβλιογραφία (Hald & Dawid & Tressel & Hofmann, 2018).

6.3.2.8. Εκχύλιση με υπέρηχους T=50°C, pH=8 και t=30min

Πίνακας 18: Αποδόσεις πειραμάτων εκχύλισης με τη χρήση υπέρηχων για T=50°C, pH=8 και t=30min

Εκχύλιση με υπέρηχους T=50°C, pH=8 και t=30min				
Αναλογία w/v	A _{εκχύλισης} (%)	A _{καταβύθισης} (%)	Ολική απόδοση(%)	Περιεκτικότητα υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη(%)
w/v = 1/25	47,5375	22,0351	12,2698	83,9391
w/v = 1/20	43,9293	20,0994	10,1937	79,5740



Διάγραμμα 11: Μεταβολή αποδόσεων πρωτεϊνών για τα πειράματα μέσω εκχύλισης με τη χρήση υπέρηχων σε συνθήκες T=50°C, pH=8 και t=30min

Όπως αποδίδονται στο παραπάνω διάγραμμα, οι επιμέρους αποδόσεις πρωτεϊνών αυξάνονται αυξανόμενης της αναλογίας στερεού-υγρού. Η απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών ξεπερνά το 43% σε κάθε περίπτωση και συμβαδίζει με τις ελάχιστες απαιτήσεις που παρατηρούνται στη βιβλιογραφία (Kamal et al., 2020).

Η απόδοση καταβύθισης πρωτεϊνών ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες κυμαίνεται από 20,10% έως 22,03% και παρουσιάζει 9,6% αύξηση με τη μεταβολή του λόγου w/v. Η ολική απόδοση εμφανίζει μέγιστη τιμή που προσεγγίζει το 12%

Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του υπερσυμπυκνώματος παρουσιάζει αύξηση με την αναλογία w/v από 79,57% σε 83,94%. Αξίζει να σημειωθεί ότι και τα δύο τελικά προϊόντα πληρούν τις προϋποθέσεις, ώστε να ανήκουν στην κατηγορία των

πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων (Yonsel, 2018) (Hald & Dawid & Tressel & Hofmann, 2018).

6.3.2.9. Στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της εκχύλισης πρωτεϊνών με τη βοήθεια υπερήχων

Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης) προκύπτει ότι ο χρόνος εκχύλισης επηρεάζει σημαντικά την απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών, όσον αφορά τις εκχυλίσσεις υποβοηθούμενες με υπέρηχους κάτι που δεν συμβαίνει για την αναλογία στερεού–υγρού. Από την post-hoc ανάλυση προκύπτει ότι για την απόδοση της εκχύλισης πρωτεϊνών οι χρόνοι των 10min και 30min διαφέρουν σημαντικά όπως αντίστοιχα και οι χρόνοι 15min και 20min, όπου σε κάθε περίπτωση η μεγαλύτερη τιμή της παραμέτρου αποδίδει καλύτερα αποτελέσματα.

Στην απόδοση καταβύθισης πρωτεϊνών, η επίδραση του χρόνου εκχύλισης είναι σημαντική στην διακύμανση των αποτελεσμάτων, σε αντίθεση με την αναλογία στερεού–υγρού. Από το κριτήριο διαφοράς Duncan προκύπτει ότι οι χρόνοι 15min και 20min δεν είναι στατιστικώς διαφορετικοί, όπως ισχύει αντίστοιχα και στην περίπτωση των 20min και 30min

Η ολική απόδοση πρωτεϊνών της μεθόδου είναι εξαρτώμενη από τον χρόνο της εκχύλισης και όχι από την αναλογία στερεού–υγρού. Από την post-hoc ανάλυση, οι χρόνοι των 10min και 30min διαφέρουν σημαντικά όπως αντίστοιχα και οι χρόνοι 15min και 20min. Σε κάθε περίπτωση η μεγαλύτερη τιμή της παραμέτρου αποδίδει καλύτερα αποτελέσματα ολικής απόδοσης.

Η αναλογία στερεού–υγρού όσο και ο χρόνος εκχύλισης δεν επηρεάζουν στατιστικά σημαντικά την περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη.

Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης ANOVA), η μεταβολή της θερμοκρασίας και της αναλογίας στερεού–υγρού δεν επηρεάζουν σημαντικά την απόδοση εκχύλισης, την απόδοση καταβύθισης και την ολική απόδοση πρωτεϊνών, και την περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη.

Η επίδραση του pH είναι σημαντική αποκλειστικά στην απόδοση εκχύλισης. Από την ανάλυση post–hoc προκύπτει ότι η τιμή pH=8 διαφέρει σημαντικά από την τιμή pH=9, βελτιώνοντας την απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών των πρωτεϊνών.

6.3.3. Αποτελέσματα παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με ευτηκτικό διαλύτη

Ευτηκτικός διαλύτης (κιτρικό οξύ–υγρή γλυκερόλη με αναλογία mol 1:1 + 45% w/w απιονισμένο νερό) χρησιμοποιείται έναντι απιονισμένου νερού για την εκχύλιση των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης με τη βοήθεια υπερήχων. Ωστόσο δεν επιτυγχάνεται η καταβύθιση των πρωτεϊνών του συγκεκριμένου ελαιούχου σπόρου, και συνεπώς καθίσταται μη εφικτή η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.

Παρακάτω παρατίθεται πίνακας σχετικά με την απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης με τη βοήθεια υπερήχων ανάλογα με το είδος του διαλυτικού μέσου:

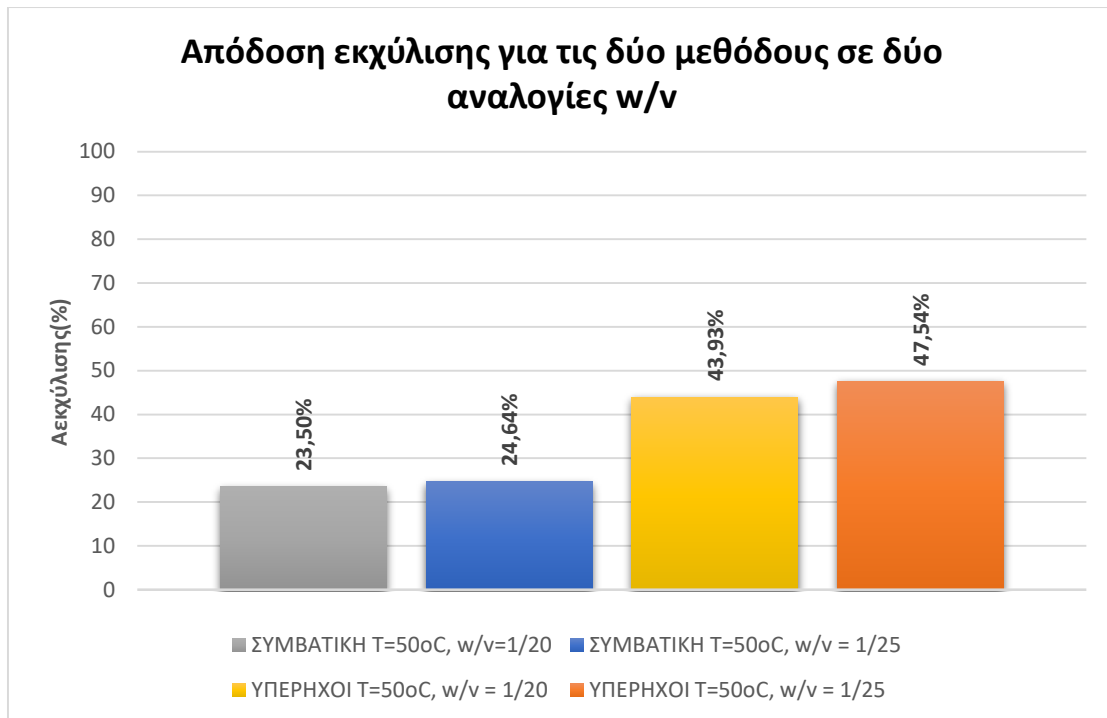
Πίνακας 19: Επίδραση του διαλυτικού μέσου στην απόδοση εκχύλισης με υπέρηχους για T=50°C, pH=8 και t=30min

Εκχύλιση με υπέρηχους T=50°C, pH=8 και t=30min	
Διαλυτικό μέσο	A _{εκχύλισης} (%)
Ευτηκτικός διαλύτης: κιτρικό οξύ – υγρή γλυκερόλη	50,0434
Απιονισμένο νερό	47,5375

6.4. Σύγκριση συμβατικής υδατικής εκχύλισης πρωτεϊνών και εκχύλισης με τη βοήθεια υπερήχων για t=30min

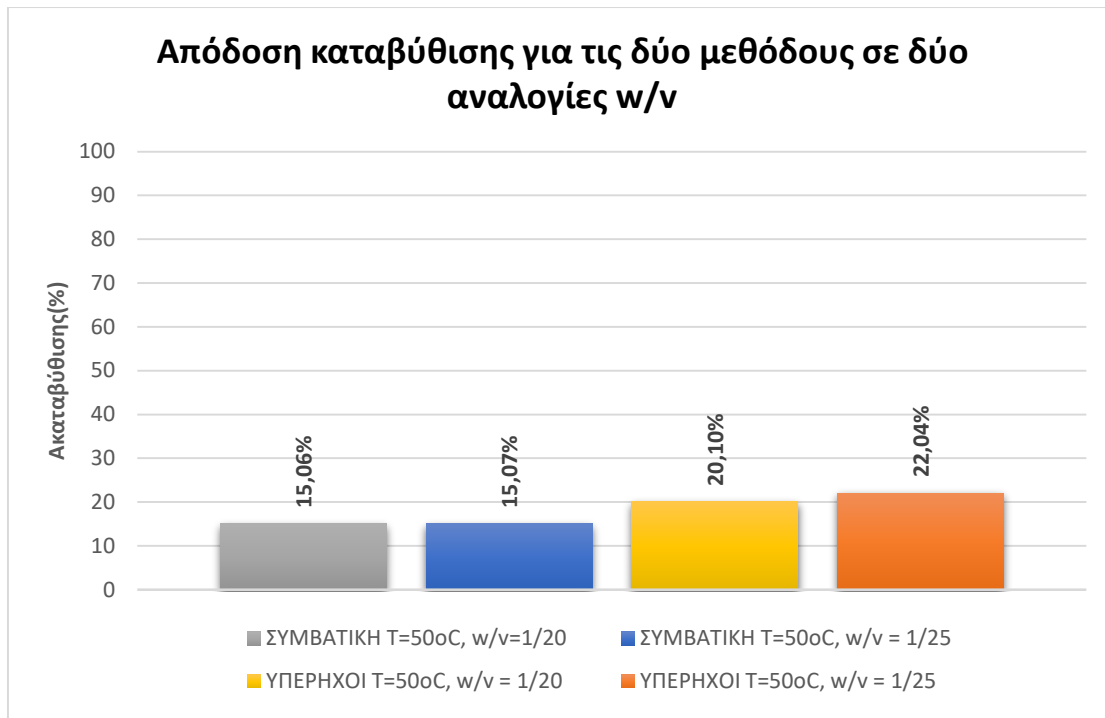
Πίνακας 20: Σύγκριση συμβατικής εκχύλισης πρωτεϊνών και εκχύλισης με υπέρηχους σε όλες τις παραμέτρους για t=30min

Μέθοδος	A _{εκχύλισης} (%)	A _{καταβύθισης} (%)	Ολική απόδοση(%)	Περιεκτικότητα υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη (%)
Συμβατική T=50°C, w/v = 1/25	24,6439	15,0672	3,9383	67,8433
Υπέρηχοι T=50°C, w/v = 1/25	47,5375	22,0351	12,2698	83,9391
Συμβατική T=50°C, w/v=1/20	23,5026	15,0729	3,6571	70,8640
Υπέρηχοι T=50°C, w/v = 1/20	43,9293	20,0994	10,1937	79,5740



Διάγραμμα 12: Σύγκριση συμβατικής εκχύλισης πρωτεϊνών και εκχύλισης με υπέρηχους ως προς την απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών

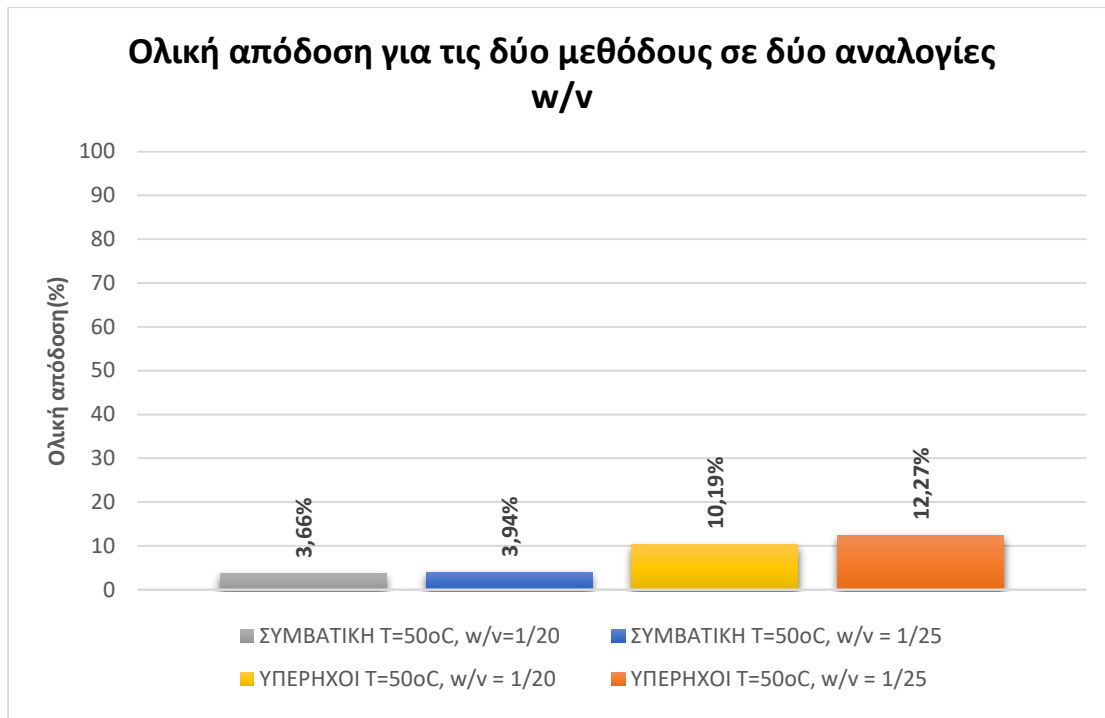
Στο διάγραμμα 12 παρατηρείται ότι οι αποδόσεις εκχύλισης πρωτεϊνών με υπέρηχους είναι σαφώς μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες με τη συμβατική εκχύλιση. Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) προκύπτει ότι η επίδραση της μεθόδου που εφαρμόζεται (συμβατική ή εκχύλιση με υπέρηχους) είναι σημαντική στην απόδοση της εκχύλισης των πρωτεϊνών, σε αντίθεση με την αναλογία στερεού-υγρού. Μέσω της ανάλυσης post-hoc και το κριτήριο διαφοράς Duncan, η εκχύλιση των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης με τη βοήθεια των υπερήχων διαφέρει σημαντικά από τη συμβατική εκχύλιση, βελτιώνοντας σημαντικά την απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών.



Διάγραμμα 13: Σύγκριση συμβατικής εκχύλισης πρωτεϊνών και εκχύλισης με υπέρηχους ως προς την απόδοση καταβύθισης πρωτεϊνών

Στο διάγραμμα 13 παρατηρείται ότι η εκχύλιση των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης με τη βοήθεια των υπέρηχων αποδίδει μεγαλύτερη τιμή στη μεταβλητή της απόδοσης καταβύθισης πρωτεϊνών, η οποία αυξάνεται με την αντίστοιχη μεταβολή της αναλογίας στερεού–υγρού. Η συμβατική εκχύλιση και στις δύο αναλογίες έχει παρόμοια αποτελέσματα.

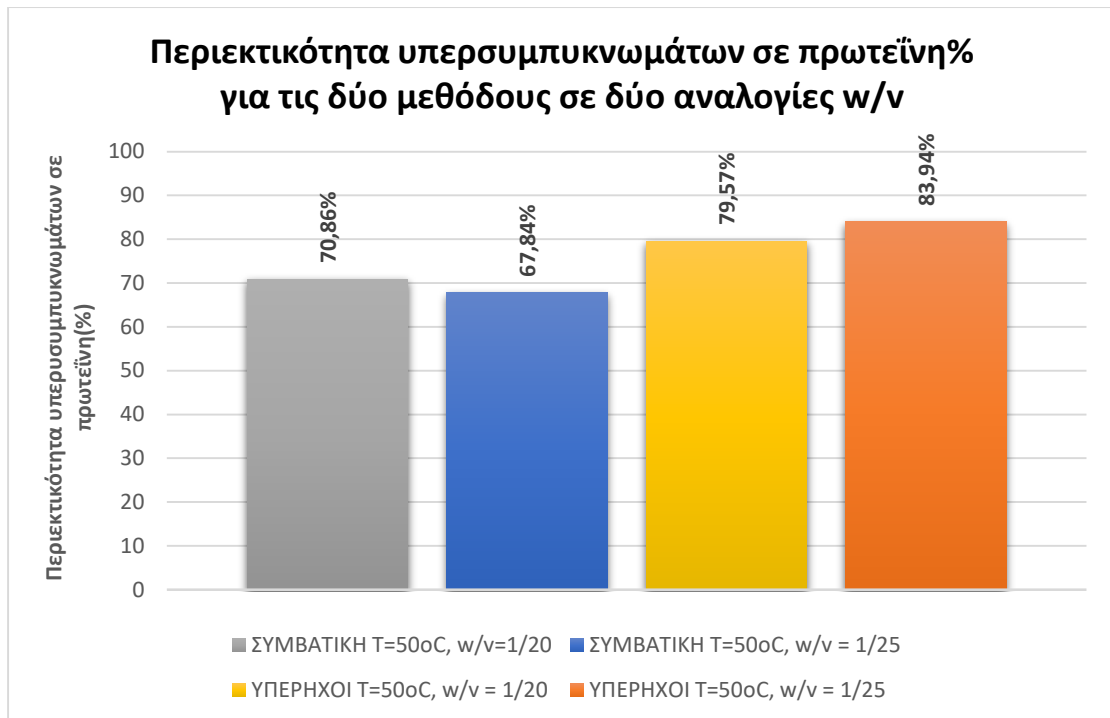
Από την ανάλυση διακύμανσης ANOVA, η επιλογή της μεθόδου εκχύλισης όσο και η αναλογία στερεού–υγρού δεν επηρεάζουν σημαντικά την απόδοση καταβύθισης των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης.



Διάγραμμα 14: Σύγκριση συμβατικής εκχύλισης πρωτεϊνών και εκχύλισης με υπέρηχους ως προς την απόδοση ολική απόδοση

Στο διάγραμμα 14 παρατηρείται ότι η ολική απόδοση πρωτεϊνών με τη βοήθεια των υπερήχων βελτιώνεται αισθητά σε αντίθεση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης πρωτεϊνών.

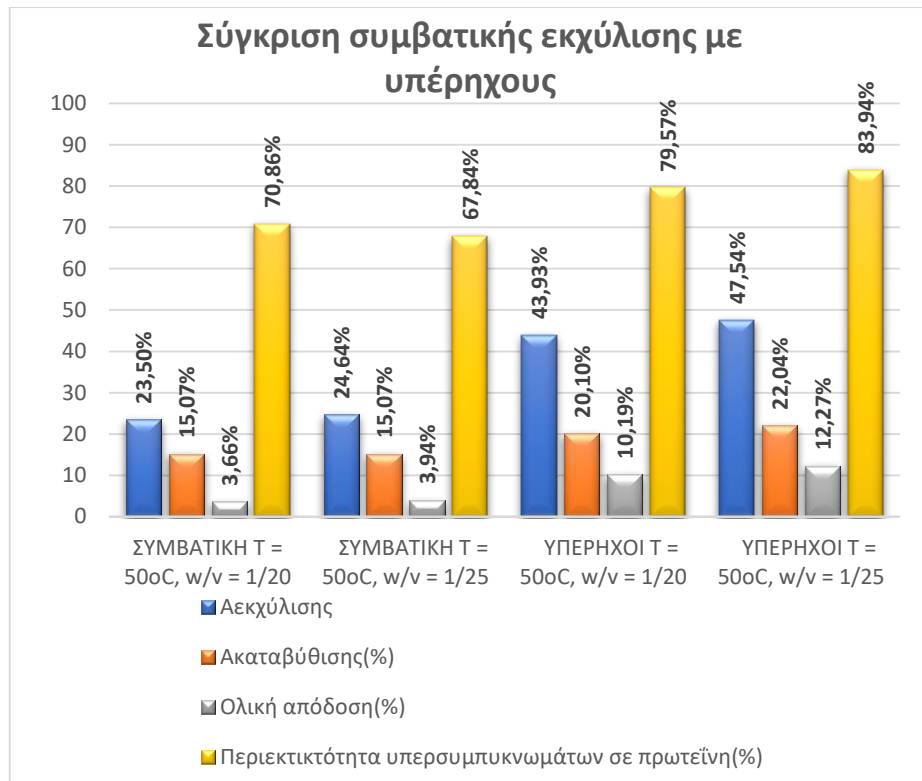
Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι μόνο η μέθοδος που εφαρμόζεται (συμβατική ή εκχύλιση με υπέρηχους) έχει άμεση επίδραση στην ολική απόδοση της εκχύλισης πρωτεϊνών. Από την ανάλυση post-hoc και το κριτήριο διαφοράς Duncan, η εκχύλιση πρωτεϊνών με τη βοήθεια των υπερήχων διαφέρει σημαντικά από τη συμβατική εκχύλιση, ευνοώντας την ολική απόδοση πρωτεϊνών.



Διάγραμμα 15: Σύγκριση συμβατικής εκχύλισης πρωτεϊνών και εκχύλισης με υπέρηχους ως προς την περιεκτικότητα υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη

Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική εκχύλιση πρωτεϊνών και με την εκχύλιση με τη βοήθεια υπερήχων προκύπτει ότι τόσο η μέθοδος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά τη περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη.

Όσα αναλυτικά αναφέρονται στη συγκεκριμένη παράγραφο, απεικονίζονται γραφικά στο διάγραμμα 16.



Διάγραμμα 16: Σύγκριση συμβατικής εκχύλισης και εκχύλισης με υπέρηχους για όλες τις επιμέρους αποδόσεις πρωτεϊνών

6.5. Αποτελέσματα μέτρησης λειτουργικών ιδιοτήτων παραλαμβανόμενων υπερσυμπυκνωμάτων μέσω εκχύλισης με τη βοήθεια υπερίχων

6.5.1. Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης (T=40°C, pH=8, w/v=1/15) για t=10min και για t=15min με τη βοήθεια υπερίχων

Πίνακας 21: Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης με υπέρηχους (T=40°C, pH=8, w/v=1/15) για t=10min και για t=15min

Εκχύλιση με υπέρηχους T=40°C, pH=8 και w/v=1/15		
Ιδιότητα	t=10min	t=15min
Ικανότητα συγκράτησης νερού (mL _{νερού} /100g _{δείγματος})	185,4	176,3
Ικανότητα δέσμευσης ελαίου(mL _{ελαίου} /100g _{δείγματος})	322,3	292,8

Στον πίνακα 21, παρατηρείται ότι στους 40°C με pH=8 και για λόγο στερεού–υγρού w/v =1/15 τόσο η ικανότητα συγκράτησης νερού όσο και η ικανότητα δέσμευσης ελαίου μειώνονται με την πάροδο του χρόνου εκχύλισης κατά 5 και 9% αντίστοιχα.

6.5.2. Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης (T=40°C, pH=8, w/v=1/20) για t=10min, t=15min και για t=20min με τη βοήθεια υπερήχων)

Πίνακας 22: Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης με υπέρηχους (T=40°C, pH=8, w/v=1/20) για t=10min, t=15min και για t=20min

Εκχύλιση με υπέρηχους T=40°C, pH=8 και w/v=1/20			
Ιδιότητα	t=10min	t=15min	t=20min
Ικανότητα συγκράτησης νερού (mL _{νερού} /100g _{δείγματος})	187,1	199,9	235,2
Ικανότητα δέσμευσης ελαίου (mL _{ελαίου} /100g _{δείγματος})	365,6	319,6	378,5

Στον πίνακα 22, παρατηρείται ότι η ικανότητα συγκράτησης νερού αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου εκχύλισης κατά 25,71%. Από την άλλη πλευρά η ικανότητα δέσμευσης ελαίου μειώνεται μέχρι τα 15min εκχύλισης και μετά αυξάνεται. Η συνολική αύξηση είναι της τάξης του 3,5%.

6.5.3. Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης (T=40°C, pH=8, w/v=1/25) για t=10min, t=15min και για t=20min με τη βοήθεια υπερήχων)

Πίνακας 23: Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης με υπέρηχους (T=40°C, pH=8, w/v=1/25) για t=10min, t=15min και για t=20min

Εκχύλιση με υπέρηχους T=40°C, pH=8 και w/v=1/25			
Ιδιότητα	t=10min	t=15min	t=20min
Ικανότητα συγκράτησης νερού (mL _{νερού} /100g _{δείγματος})	239,9	259,6	254,6
Ικανότητα δέσμευσης ελαίου(mL _{ελαίου} /100g _{δείγματος})	359,8	379,6	387,3

Η ικανότητα συγκράτησης νερού αυξάνεται μέχρι τα 15min εκχύλισης κατά 8,2%, ενώ στο τέλος των 20min, εμφανίζει μία συνολική αύξηση της τάξης του 6%. Η ικανότητα απορρόφησης ελαίου εμφανίζει αύξηση της τάξης του 7,6%.

6.5.4. Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης (T=50°C, pH=8, w/v=1/20) για t=15min, t=20min και για t=30min με τη βοήθεια υπερήχων)

Πίνακας 24: Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης με υπέρηχους (T=50°C, pH=8, w/v=1/20) για t=15min, t=20min και για t=30min

Εκχύλιση με υπέρηχους T=50°C, pH=8 και w/v=1/20			
Ιδιότητα	t=15min	t=20min	t=30min
Ικανότητα συγκράτησης νερού (mL _{νερού} /100g _{δείγματος})	179,7	199,9	235,2
Ικανότητα δέσμευσης ελαίου (mL _{ελαίου} /100g _{δείγματος})	339,6	319,6	378,5

Με την αύξηση της θερμοκρασίας κατά 10°C κατά την εκχύλιση, η ικανότητα συγκράτησης νερού αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου ενώ η ικανότητα δέσμευσης ελαίου παρουσιάζει μια αυξομείωση μεταξύ των χρονικών διαστημάτων t=20min και t=30min.

6.5.5. Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης (T=50°C, pH=8, w/v=1/25) για t=15min, t=20min και για t=30min με τη βοήθεια υπερήχων)

Πίνακας 25: Μεταβολή λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων ελαιοκράμβης σε σταθερές συνθήκες εκχύλισης με υπέρηχους (T=50°C, pH=8, w/v=1/25) για t=15min, t=20min και για t=30min

Εκχύλιση με υπέρηχους T=50°C, pH=8 και w/v=1/25			
Ιδιότητα	t=15min	t=20min	t=30min
Ικανότητα συγκράτησης νερού (mL _{νερού} /100g _{δείγματος})	239,9	259,6	254,6
Ικανότητα δέσμευσης ελαίου (mL _{ελαίου} /100g _{δείγματος})	359,8	379,6	387,3

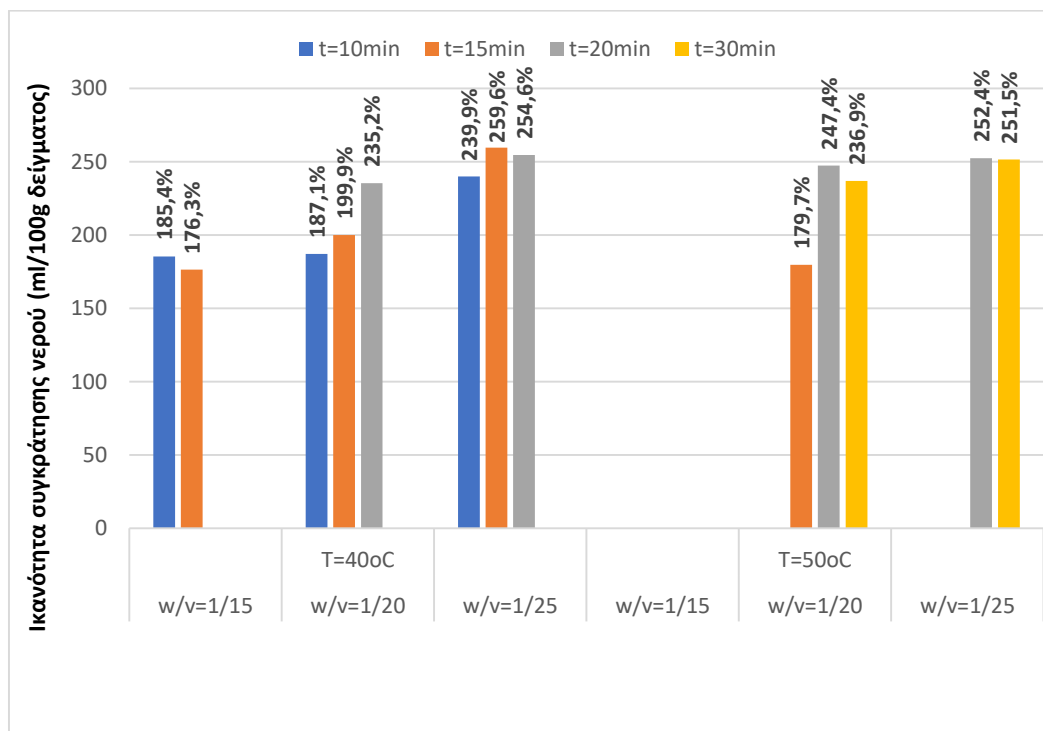
Για την αναλογία στερεού–υγρού w/v=1/25 κατά την εκχύλιση, η τιμή της ικανότητας συγκράτησης νερού αυξομειώνεται, εμφανίζοντας τη μέγιστη τιμή της για χρόνο εκχύλισης t=20min. Αντιθέτως η ικανότητα δέσμευσης ελαίου εμφανίζει ανοδική τάση με τη πάροδο του χρόνου εκχύλισης.

6.6. Μελέτη λειτουργικών ιδιοτήτων πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων μέσω εκχύλισης τη βοήθεια υπερήχων

Πίνακας 26: Σύγκριση ικανότητας συγκράτησης νερού στα πειράματα μέσω εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων

Χρόνος/ Αναλογία w/v	Ικανότητα συγκράτησης νερού (mL _{νερού} /100g _{δείγματος}) για T=40°C, pH=8			Ικανότητα συγκράτησης νερού (mL _{νερού} /100g _{δείγματος}) για T=50°C, pH=8		
	w/v=1/15	w/v=1/20	w/v=1/25	w/v=1/15	w/v=1/20	w/v=1/25
t=10min	185,4	187,1	239,9			
t=15min	176,3	199,9	259,6		179,7	
t=20min		235,2	254,6		247,4	252,4
t=30min					236,9	251,5

Στον πίνακα 26, με την αύξηση της αναλογίας στερεού–υγρού κατά την εκχύλιση παρατηρείται αύξηση και της ικανότητας συγκράτησης νερού για σταθερό χρόνο και θερμοκρασία εκχύλισης.

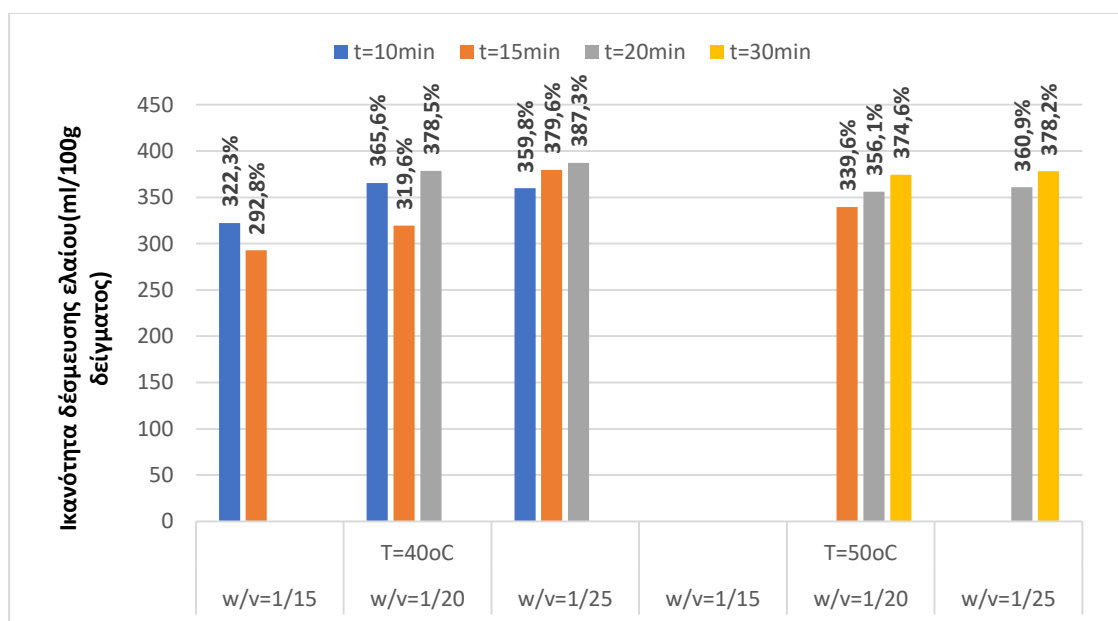


Διάγραμμα 17: Σύγκριση ικανότητας συγκράτησης νερού συναρτήσει της θερμοκρασίας, του χρόνου και της αναλογίας w/v κατά την εκχύλιση πρωτεϊνών

Πίνακας 27: Σύγκριση ικανότητας δέσμευσης ελαίου στα πειράματα μέσω εκχύλιση με τη χρήση υπερήχων

Χρόνος/ Αναλογία w/v	Ικανότητα δέσμευσης ελαίου(mLελαίου/100gδείγματος) για T=40°C, pH=8			Ικανότητα δέσμευσης ελαίου(mLελαίου/100gδείγματος) για T=50°C, pH=8		
	w/v=1/15	w/v=1/20	w/v=1/25	w/v=1/15	w/v=1/20	w/v=1/25
t=10min	322,3	365,6	359,8			
t=15min	292,8	319,6	379,6		339,6	
t=20min		378,5	387,3		356,1	360,9
t=30min					374,6	378,2

Στον πίνακα 27, με την αύξηση της αναλογίας στερεού–υγρού κατά την εκχύλιση παρατηρείται αύξηση της ικανότητας δέσμευσης ελαίου για σταθερό χρόνο εκχύλισης σε θερμοκρασία T=50°C. Αντιθέτως σε θερμοκρασία T=40°C, η ικανότητα δέσμευσης ελαίου αυξάνεται με την αύξηση της αναλογίας στερεού–υγρού για χρόνο εκχύλισης t=15min και t=20min, σε αντίθεση με το χρόνο t=10min, όπου εμφανίζει μια τάση να αυξομειώνεται με τη μεταβολή της αναλογίας στερεού–υγρού.



Διάγραμμα 18: Σύγκριση ικανότητας δέσμευσης ελαίου συναρτήσει της θερμοκρασίας, του χρόνου και της αναλογίας w/v κατά την εκχύλιση πρωτεϊνών

Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης) προκύπτει ότι ο χρόνος εκχύλισης δεν επηρεάζει σημαντικά την ικανότητα συγκράτησης του νερού των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τις εκχυλίσσεις υποβοηθούμενες με υπέρηχους κάτι που δεν ισχύει για την αναλογία στερεού–υγρού. Από το κριτήριο διαφοράς Duncan, προκύπτει ότι όλες οι αναλογίες στερεού–υγρού είναι στατιστικά διαφορετικές με την αναλογία $w/v=1/20$ να δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα.

Η ικανότητα δέσμευσης ελαίου των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων επηρεάζεται σημαντικά μόνο από την αναλογία στερεού–υγρού κατά την εκχύλιση. Από το κριτήριο Duncan προκύπτει ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των αναλογιών $w/v=1/20$ και $w/v=1/25$, παρά μόνο της αναλογίας $w/v=1/15$ με τις υπόλοιπες αναλογίες.

Η επίδραση της θερμοκρασίας και του χρόνου εκχύλισης στην ικανότητα συγκράτησης νερού και ικανότητα δέσμευσης ελαίου των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων δεν είναι σημαντική.

Γ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ–ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

7.1. Συμπεράσματα

Απο την επεξεργασία των αποτελεσμάτων της πειραματικής διαδικασίας και την στατιστική ανάλυσή τους προκύπτουν τα εξής συμπεράσματα:

- Το υπόλλειμα ελαιοκράμβης που χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη στα πειράματα εκχύλισης των πρωτεϊνών έχει ικανοποιητική περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (39,5% σε ξηρή βάση), γεγονός που το καθιστά καλή πηγή παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων εφόσον απομακρυνθεί η υπολλειματική ποσότητα ελαίου.

- Η βέλτιστη τιμή pH στην οποία εκχυλίζονται οι πρωτεΐνες ελαιοκράμβης είναι pH=8, όπου η επίδρασή του στην απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών είναι καθοριστική, συγκριτικά με την τιμή pH=9. Χαρακτηριστικά, η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών μειώνεται από 36,40% σε 28,52% με τη μεταβολή από pH=8 σε pH=9.

- Η μέθοδος παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη βοήθεια υπερήχων έχει υψηλότερες τιμές αποδόσεις εκχύλισης και ολικής απόδοσης πρωτεϊνών της διεργασίας και παρόμοιες αποδόσεις καταβύθισης πρωτεϊνών με τη συμβατική υδατική μέθοδο εκχύλισης. Η στατιστική διαφορά των παραπάνω παραμέτρων επιβεβαιώνει και την ανωτερότητα των υπερήχων έναντι της συμβατικής υδατικής εκχύλισης.

- Στο σύνολο των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη χρήση των υπερήχων, η μεταβολή του χρόνου εκχύλισης έχει μεγαλύτερη επίδραση στις επιμέρους αποδόσεις πρωτεϊνών.

- Η μεταβολή της θερμοκρασίας εκχύλισης δεν επηρεάζει σημαντικά τις επιμέρους αποδόσεις.

- Οι βέλτιστες συνθήκες για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη βοήθεια υπερήχων είναι: $T=50^{\circ}\text{C}$, $w/v=1/25$, $\text{pH}=8$ και $t=30\text{min}$. Η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών είναι 47,54%, η απόδοση καταβύθισης των πρωτεϊνών είναι 22,04%, η ολική απόδοση των πρωτεϊνών είναι 12,27% και η μέγιστη περιεκτικότητα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη είναι 83,94%.

- Οι βέλτιστες συνθήκες για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων μέσω της συμβατικής υδατικής εκχύλισης με τις μεγαλύτερες αποδόσεις πρωτεϊνών είναι: $T=50^{\circ}\text{C}$, $w/v=1/25$, $\text{pH}=8$ και $t=30\text{min}$. Η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών

είναι 24,64%, η απόδοση καταβύθισης των πρωτεϊνών είναι 15,07% και η ολική απόδοση των πρωτεϊνών είναι 3,94% αντίστοιχα. Αντιθέτως, η μέγιστη περιεκτικότητα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη παρατηρείται για αναλογία στερεού–υγρού 1/20 και ισούται με 70,87%.

- Η μέγιστη τιμή της ολικής απόδοσης πρωτεϊνών μέσω της εκχύλισης με τη βοήθεια υπερήχων προσεγγίζει το 12%, η οποία κρίνεται μικρή.

- Η περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη κυμαίνεται σε ένα εύρος 41%–85%. Ωστόσο δεν επηρεάζεται στατιστικά σημαντικά από καμία παράμετρο, όπως η θερμοκρασία, ο χρόνος εκχύλισης, το pH και η αναλογία στερεού–υγρού.

- Η χρήση ευτηκτικού διαλύτη κιτρικού οξέος–γλυκερόλης συμβάλλει στην αύξηση της απόδοσης εκχύλισης συγκριτικά με το υδατικό διαλυτικό μέσο που χρησιμοποιείται στην περίπτωση της συμβατικής μεθόδου εκχύλισης όσο και στην αντίστοιχη εκχύλιση με τη χρήση υπερήχων. Ωστόσο δεν παρατηρείται καταβύθιση των πρωτεϊνών.

- Με τη μεταβολή των λειτουργικών ιδιοτήτων, παρατηρείται μια σταθεροποίηση της τιμής τους για εκχύλιση σε χρόνο πάνω από τα 15min, σε θερμοκρασία 40°C με 50°C και σε αναλογίες στερεού–υγρού w/v= 1/20 και w/v=1/25. Οι μέσες τιμές για τις δύο λειτουργικές ιδιότητες είναι: Ικανότητα συγκράτησης νερού=(247,19±8,92)mL_{νερού}/100g_{δείγματος} και Ικανότητα απορρόφησης ελαίου=(371,86 ± 11,36)mL_{ελαίου}/100g_{δείγματος}

- Η ικανότητα δέσμευσης ελαίου όσο και η ικανότητα συγκράτησης νερού επηρεάζονται σημαντικά από τη μεταβολή της αναλογίας w/v κατά την εκχύλιση των πρωτεϊνών με τη βοήθεια υπερήχων. Αντιθέτως, η επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας εκχύλισης δεν είναι σημαντική.

7.2. Προτάσεις

Η ανάγκη για την κάλυψη των διατροφικών απαιτήσεων έχει οδηγήσει στην ανάδειξη των φυτικών πηγών ως εναλλακτική πηγή των ζωϊκών τροφών. Σε αυτές εντάσσονται και οι πρωτεΐνες ελαιοκράμβης. Το ιδιαίτερο ισορροπημένο προφίλ αμινοξέων που διαθέτουν οι πρωτεΐνες ελαιοκράμβης, όπως είναι η σταυροφερίνη και η ναπίνη, επιβάλλουν τη διερεύνηση των λειτουργικών ιδιοτήτων τους. Προς αυτήν την κατεύθυνση προτείνεται να διερευνηθεί πειραματικά η ικανότητα διαμόρφωσης αφρού, οι γαλακτωματοποιητικές ιδιότητές τους και η ικανότητα σχηματισμού πηκτής για πρακτικές εφαρμογές.

Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα ελαιοκράμβης έχουν υψηλή τιμή περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη, ωστόσο η ευπεπτότητά τους αξίζει περαιτέρω μελέτης, προκειμένου να γίνει πρωταρχική πηγή θρεπτικών συστατικών.

Η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών ελαιοκράμβης με τη βοήθεια υπερήχων μπορεί να βελτιωθεί, όταν η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιείται συνδυαστικά με τη συμβατική υδατική εκχύλιση. Στα χρονικά πλαίσια μίας νέας έρευνας, θα μπορούσε επίσης να μελετηθεί και η επίδραση νέων μεθόδων εκχύλισης πρωτεϊνών, όπως αυτή της υπερκρίσιμης φάσης ή της εκχύλισης παρουσία ενζύμων που έχουν δοκιμαστεί με ικανοποιητικά αποτελέσματα και σε άλλους ελαιούχους σπόρους.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, οι ευτηκτικοί διαλύτες μπορούν να αντικαταστήσουν το νερό στην εκχύλιση των πρωτεϊνών. Στην πλειοψηφία τους, όμως, οι ευτηκτικοί διαλύτες περιέχουν ενώσεις αζώτου που επηρεάζουν αρνητικά τους προσδιορισμούς της μεθόδου Kjeldahl. Προτείνεται η παρασκευή ευτηκτικών διαλυτών απουσία αζωτούχων ενώσεων και σε κατάλληλη αναλογία ευτηκτικού διαλύματος-νερού.

Η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων δεν είναι πάντοτε εφικτή με τα ευτηκτικά συστήματα μέσω ισοηλεκτρικής καταβύθισης. Μία λύση θα ήταν η αναζήτηση νέων μεθόδων καταβύθισης των πρωτεϊνών, όπως είναι η όπως η καταβύθιση με τη βοήθεια αλάτων.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- A Jia, W., Rodriguez-Alonso, E., Bianeis, M., Keppler, J. K., & van der Goot, A. J. (2021).** Assessing functional properties of rapeseed protein concentrate versus isolate for food applications, in *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(2766), 1-10
- Akharume, F. U., Aluko, R. E., & Adedeji, A. A. (2021).** Modification of plant proteins for improved functionality: A review, in *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Volume 20(1), 198-224
- Alfaro, M. J., Bélanger, J. M., Padilla, F. C., & Jocelyn Paré, J. (2003).** Influence of solvent, matrix dielectric properties, and applied power on the liquid-phase microwave-assisted processes (MAP™) extraction of ginger (*Zingiber officinale*), *Food Research International*, 36(5), 499–504
- Arrutia, F., Binner, E., Williams, P., & Waldron, K. W. (2020).** Oilseeds beyond oil: Press cakes and meals supplying global protein requirements, in *Trends in Food Science & Technology*, Volume 100, 88-102
- Assatory, A., Viteli, M., Rajabzadeh, A. R., & Legge, R. L. (2019).** Dry fractionation methods for plant protein, starch and fiber enrichment: A review, in *Trends in Food Science & Technology*, Volume 86, 340-351
- Balandrán-Quintana, R., Mendoza-Wilson, A. M., Ramos-Clamont Montfort, G., & Huerta-Ocampo, J. Á. (2019).** Plant-Based Proteins. Proteins: Sustainable Source, in *Processing and Applications*, Galanakis M. C, 97–130
- Barba, F. J., Boussetta, N., & Vorobiev, E. (2015).** Emerging technologies for the recovery of isothiocyanates, protein and phenolic compounds from rapeseed and rapeseed press-cake: Effect of high voltage electrical discharges, in *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Volume 31, 67-72
- Bárta, J., Bártová, V., Jarošová, M., Švajner, J., Smetana, P., Kadlec, J., Filip, V., Kyselka, J., Berčíková, M., Zdráhal, Z., et al. (2021).** Oilseed Cake Flour Composition, Functional Properties and Antioxidant Potential as Effects of Sieving and Species Differences, in *Foods*, 10(2766), 1-17
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2011).** Χημεία Τροφίμων, Αθήνα: Εκδόσεις Τζιόλα.
- Bernardi, S., Lupatini-Menegotto, A.L., Kalschne, D.L. et al., (2021).** Ultrasound: a suitable technology to improve the extraction and techno-functional properties of vegetable food proteins, in *Plant Foods for Human Nutrition*, 76, 1-11
- Bhandari, B. (2013).** Introduction to food powders, in *Handbook of Food Powders*, Bhandari, B., Bansal, N., Zhang, M., & Schuck, P., Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 1–25
- Boukroufa, M., Sicaire, A.-G., Fine, F., Larré, C., Goff, A.L., Jamault, V.S., Rakotomanomana, N., & Chemat, F. (2017).** Green Sonoextraction of Protein from Oleaginous Press Rapeseed Cake, in *Molecules*, 64(2), 22 (80), 1-14

Campbell, L., Rempel, C. B., & Wanasundara J. P. D. (2016). Canola/Rapeseed Protein: Future Opportunities and Directions-Workshop Proceedings of IRC 2015, in *Plants*, 17(5), 1-7

Chaudhary, S., Sagar, S., Kumar, M., Sengar, R.S. & Tomar, A. (2015). The use of enzymes in food processing: A review, *South Asian Journal of Food Technology and Environment*, 01, 190-210

Chen, J., Li, Y., Wang, X., & Liu, W. (2019). Application of Deep Eutectic Solvents in Food Analysis: A Review, *Molecules*, 24(24), 1-12

Chmielewska, A., Kozłowska, M., Rachwał, D., Wnukowski, P., Amarowicz, R., Nebesny, E., & Rosicka-Kaczmarek, J. (2020). Canola/rapeseed protein– nutritional value, functionality and food application: a review, in *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–21

Cruz Solorio, A., Garín Aguilar, M. & Valencia del Toro G. (2020). Nutritional and functional properties of protein concentrate and protein isolates of foods, in *Science within Food: Up-to-date Advances on Research and Educational Ideas*, Méndez-Vilas, A., Formatex Research Center, 176-184

Dabija, A. (2017). STUDIES REGARDING THE EFFECT OF DEFATTED RAPESEED FLOUR ADDITION ON WHEAT FLOUR DOUGH MICROSTRUCTURE, RHEOLOGICAL PROPERTIES AND BREAD QUALITY, in *Advances in Biotechnology*, 991-997

Damodaran, Sr., Parkin K. & Fennema, Ow. (2007). Fennema's Food Chemistry 4th edition, CRC Press

Daun, J. K. (2011). Origin, Distribution, and Production, in *Canola Chemistry, Production, Processing, and Utilization*, Daun, J. K., Eskin, M., & Hickling, D., AOCS Press, 1-27

Daun, J. K., Barthet V. J. (2011). Seed Morphology, Composition and Quality, in *Canola Chemistry, Production, Processing, and Utilization*, Daun, J. K., Eskin, M., & Hickling, D., AOCS Press, 1-27

Destandau, E., Michel, T., & Elfakir, C. (2013). CHAPTER 3 CHAPTER 4 Microwave-assisted Extraction, in *Natural Product Extraction: Principles and Applications*, Rostagno, M.A., Prado, J.M., Royal Society of Chemistry, 113–156

Echave, J., Pereira, A.G., Carpena, M., Prieto, M.A., & Simal-Gándara, J. (2020). Capsicum Seeds as a Source of Bioactive Compounds: Biological Properties, Extraction Systems, and Industrial Application, *In Capsium*, 1-36

Fetzer, A., Herfellner, T., Stäbler, A., Menner, M., & Eisner, P. (2018). Influence of process conditions during aqueous protein extraction upon yield from pre-pressed and cold-pressed rapeseed press cake, in *Industrial Crops and Products*, Volume 112, 236-246

- Fetzer, A., Müller, K., Schmid, M., & Eisner, P. (2020).** Rapeseed proteins for technical applications: Processing, isolation, modification and functional properties – A review, in *Industrial Crops and Products*, 158, 1-18
- Franca-Oliveira, G., Fornari, T., Hernández-Ledesma, B. A (2021).** Review on the Extraction and Processing of Natural Source-Derived Proteins through Eco-Innovative Approaches, *Processes*, 9/1626, 1-24
- Fukagawa, N., Yu, Y.-M. (2009).** Nutrition and Metabolism of Proteins and Amino Acids, in *Introduction to Human Nutrition Second Edition*, Gibney, J.-M., Lanham-New, S.-A., Cassidy, A., & Vorster, H.-H., John Wiley & Sons, Ltd, 49-73
- Gaber, M. A. F. M., Tujillo, F. J., Mansour, M. P., & Juliano P. (2018).** Improving Oil Extraction from Canola Seeds by Conventional and Advanced Methods, in *Food Engineering Reviews*, 10, 198–210
- Galves, C., Stone, A. K., Szarko, J., Liu, S., Shafer, K., Hargreaves, J., et al., (2019).** Effect of pH and defatting on the functional attributes of safflower, sunflower, canola, and hemp protein concentrates, in *Cereal Chemistry*, 1-12
- Garba, U., & Kaur, S. (2014).** PROTEIN ISOLATES: PRODUCTION, FUNCTIONAL PROPERTIES AND APPLICATION, *Int J Cur Res Rev Vol 06(03)*, 35-45
- Garcia-Vaquero, M., Rajauria, G., & Tiwari, B. (2020).** Conventional extraction techniques: Solvent extraction, in *Sustainable Seaweed Technologies: Cultivation, Biorefinery, and Applications*, Dolores Torres, M., Kraan, S., & Dominguez, H., Elsevier Inc, 171–189
- Gençdağ, E., Görgüç, A., & Yılmaz, F.M. (2020).** Recent Advances in the Recovery Techniques of Plant-Based Proteins from Agro-Industrial By-Products, *Food Reviews International*, Volume 37, 447-468
- Georgiev, R., Kalaydzhiev, H., Ivanova, P., Silva, C.L.M., & Chalova, V. I. (2022).** Multifunctionality of Rapeseed Meal Protein Isolates Prepared by Sequential Isoelectric Precipitation, in *Foods*, 11(541), 1-14
- Gibson, M., & Newsham, P. (2018a).** Meat: Food and Science of the Animal Kingdom, in *Food Science and the Culinary Arts*, Gibson, M., & Newsham, P., Academic Press, 169–223
- Gibson, M., & Newsham, P. (2018b).** Milk and Dairy, in *Food Science and the Culinary Arts*, Gibson, M., & Newsham, P., Academic Press, 137–167
- Goyal, A., Tanwar, B., Sihag M. K., Kumar V, Sharma, V. & Soni, S. (2021).** Chapter 2: Rapeseed/Canola (*Brassica napus*) Seed, in *Oilseeds: Health Attributes and Food Applications*, Goyal, A., Tanwar, B., Springer, 47–71
- Grudniewska, A., de Melo, E. M., Chan, A., Gnilka, R., Boratyński, F., & Matharu, A. S. (2018).** Enhanced Protein Extraction From Oilseed Cakes Using

Glycerol-Choline Chloride Deep Eutectic Solvents: A Biorefinery Approach, *in Sustainable Chemistry & Engineering*, 6(11), 15791–15800

Hald, C., Dawid, C., Tressel, R., & Hofmann, T. (2018). Kaempferol 3- O-(2^m- O-Sinapoyl-β-sophoroside) Causes the Undesired Bitter Taste of Canola/Rapeseed Protein Isolates, *in Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(1), 1-29

Hu, Z.-Y., Hua, W., Zhang, L., Deng, L.-B., Wang, X.-F., Liu, G.-H., & Wang, H.-Z. (2013). Seed Structure Characteristics to Form Ultrahigh Oil Content in Rapeseed, *PLoS ONE*, 8(4), 1-10

Kalaydzhiev, H., Georgiev, R., Ivanova, P., Stoyanova, M., Silva, C.L.M., & Chalova, V. I. (2020). Enhanced Solubility of Rapeseed Meal Protein Isolates Prepared by Sequential Isoelectric Precipitation, *in Foods*, 9(703), 1-13

Kamal, H., Foh Le, C., Salter, A.M., & Ali, A. (2020). Extraction of protein from food waste: An overview of current status and opportunities, *in Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Volume 20, Issue 3, 2455-2475

Karaca Can, A., Nickerson, M., Caggia, C., Randazzo, C.L., Balange K.A. et al., (2022). Nutritional and Functional Properties of Novel Protein Sources, *Food Reviews International*, 1–33

Kentish, S. & Feng, H. (2014). Applications of Power Ultrasound in Food Processing, *Annual Review of Food Science and Technology*, 5(1), 263–284

Kirkegaard, J. A., Lilley, J. M., Berry, P. M., & Rondanini D. P. (2022). Chapter 17: Canola, *in Crop Physiology Case Histories for Major Crops*, Sadras V. O., Calderini D. F, Academic Press, 519-549

Kotecka-Majchrzak, K., Sumara, A., Fornal, E., & Montowska, M. (2020). Oilseed proteins-Properties and application as a food ingredient, *in Trends in Food Science & Technology*, Volume 106, 160-170

Kumar, M., Tomar, M., Potkule, J., Verma, R., Punia, S., Mahapatra, A., et al., (2021). Advances in the plant protein extraction: Mechanism and recommendations, *Food Hydrocolloids*, 151/106595, 1-17

Lafarga, T., Bobo, G., & Aguiló-Aguayo, I. (2021). Oil and Oilseed Processing: Opportunities and Challenges, John Wiley & Sons, Ltd

Laganà, P., Avventuroso, E., Romano, G., Gioffré, M. E., Patanè, P., Parisi, S., et al., (2017). The Codex Alimentarius and the European Legislation on Food Additives, *in Chemistry and Hygiene of Food Additives*, Springer, 23-32

Langyan, S, Yadava, P., Khan, F.-N., Dar, Z.-A., Singh, R. & Kumar, A. (2022). Sustaining Protein Nutrition Through Plant-Based Foods, *in Sustaining Protein Nutrition through Plant-Based Foods: A Paradigm Shift*, 1-20

- Liu, D., Lebovka, N. I., & Vorobiev, E. (2013).** Impact of electric pulse treatment on selective extraction of intracellular compounds from *Saccharomyces cerevisiae* yeasts, *Food and Bioprocess Technology*, 6(2), 576–584
- Lu, Y., Zhang, Y., Yuan, F., Gao, Y., & Mao, L. (2021).** Emulsion gels with different proteins at the interface: Structures and delivery functionality, *Food Hydrocolloids*, 116, 1 – 10
- Lv, C., Xu, C., Gan, J., Jiang, Z., Wang, Y. & Cao, X. (2021).** Roles of Proteins/Enzymes from Animal Sources in Food Quality and Function, in *Foods*, 10(1988), 1-17
- Ma, H., Jia, J., Ge, Y., He, R. et al., (2019).** The Basic Concept and Research Progress of Food Physical Processing, in *Advances in Food Processing Technology*, Jia, J., Liu, D., & Ma, H, Springer, 33–72
- Malecki, J., Muszynski, S., & Sołowiej, B.-G. (2021).** Proteins in Food Systems—Bionanomaterials, Conventional and Unconventional Sources, Functional Properties, and Development Opportunities, *Polymers*, 13 (2506), 1-21
- Momen, S., Alavi, F., & Aider, M. (2021).** Alkali-mediated treatments for extraction and functional modification of proteins: Critical and application review, in *Trends in Food Science & Technology*, Volume 110, 778–797
- Moreira, M. M., Barroso, M. F., Boeykens, A., Withouck, H., Morais, S., & Delerue-Matos, C. (2017).** Valorization of apple tree wood residues by polyphenols extraction: Comparison between conventional and microwave-assisted extraction, *Industrial Crops and Products*, 104, 210–220
- Nadar, S.S., Rao, P., & Rathod, V.K. (2018).** Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review, in *Food Research International*, Volume 108, 309–330
- Nosenko, T., Kot, T., & Kichshenko, V. (2014).** Rape Seeds as a Source of Feed and Food Proteins, in *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 64(2), 109–114.
- Östbring, K., Matos, M., Marefati, A., Ahlström, C., & Gutiérrez, G. (2021).** The Effect of pH and Storage Temperature on the Stability of Emulsions Stabilized by Rapeseed Proteins, in *Foods*, 10(1657), 1-17
- Phillips, G.O., Williams, P.A. (2011).** Introduction to food proteins, in *Handbook of Food Proteins*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 1-12
- Picot-Allain, C., Mahomoodally, M.-F., Ak, G., & Zengin, G. (2021).** Conventional versus green extraction techniques — a comparative perspective, *Current Opinion in Food Science*, Volume 40, 144-156
- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A.S., & Chemat, F. (2013).** CHAPTER 3 Ultrasound-assisted Extraction, in *Natural Product Extraction: Principles and Applications*,

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

Raboanatahiry, N., Li, H., Yu, L., & Li, M. (2021). Rapeseed (*Brassica napus*): Processing, Utilization, and Genetic Improvement, *in Agronomy*, 10(1988), 1-17

Renzyaeva, T. V., Renzyaev, A. O., Reznichenko, I. U., Popov, A. M., Kravchenko, S. N., & Miller, E. S. (2021). Rapeseed processing products as a component of flour-based food for gerontological purpose, *in IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 640, 1-7

Ribarova, F. (2018). Amino Acids: Carriers of Nutritional and Biological Value Foods, *Food Processing for Increased Quality and Consumption*, Grumezescu, A.-M. & Holban, A.-M., Academic Press, 287-311

Rommi, K. (2016). Enzyme-aided recovery of protein and protein hydrolyzates from rapeseed cold-press cake, University of Helsinki

Rostagno, M.A., Prado, J.M., Royal Society of Chemistry, 89–112

Sarfarazi, M., Jafari, S. M., Rajabzadeh, G., & Galanakis, C. M. (2020). Evaluation of microwave-assisted extraction technology for separation of bioactive components of saffron (*Crocus sativus* L.), *Industrial Crops and Products*, 145/111978, 1-9

Sicaire, A.G., Fine, F., Quinsac, A., Boukroufa, M., Rakotomanomana, N., Chemat, F. (2019) Innovative Techniques and Alternative Solvents for Green Extraction of Proteins from Pulses and Oleaginous Meals as Industrial Sources for Food and Feed, *in Plant Based “Green Chemistry 2.0” Moving from Evolutionary to Revolutionary*, Chemat, F., Li, Y., Springer, 237–256

Singh, R., Langyan, S., Sangwan, S., Rohtagi, B., Khandelwal, A., & Shrivastava, M. (2022). Protein for Human Consumption From Oilseed Cakes: A Review, *in Sustaining Protein Nutrition through Plant-Based Foods: A Paradigm Shift*, 6(856401), 1-12

Srivastav, S., Kumar, K., & Sharanagat, S.-V. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review, *Ultrasonics Sonochemistry*, Volume 70, 1-11

Tan M., Nawaz M. A., & Buckow, R. (2021). Functional and food application of plant proteins -a review, *in Food Reviews International*, 10, 198–210

Tiwari, B. K. (2015). Ultrasound: A clean, green extraction technology, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 100–109

Unger, E. H. (2011). Processing, *in Canola Chemistry, Production, Processing, and Utilization*, Daun, J. K., Eskin, M., & Hickling, D., AOCS Press, 163-188

Ustunol, Z. (2015). Amino Acids, Peptides, and Proteins, *in Applied Food Protein Chemistry*, John Wiley & Sons, Ltd, 11–21

Wanasundara, J. P. D., McIntosh, T. C., Perera, S. P., Withana-Gamage, T. S., & Mitra, P. (2016). Canola/rapeseed protein-functionality and nutrition, *in OCL*, 23(4), 1-15

Wanasundara, J. P. D., Tan, S., Alashi, A. M., Pudiel, F., & Blanchard, C. (2017). Chapter 18-Proteins From Canola/Rapeseed: Current Status, *in Sustainable Protein Sources*, Nadathur, S. R., Wanasundara J. P. D., Scanlin, L., Academic Press, 285-304

Williams, M. A. (2013). Separation technologies in oilseed processing, *in Separation, Extraction and Concentration Processes in the Food, Beverage and Nutraceutical Industries*, S.H. Rizvi, S., Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 396–429

Withana-Gamage, T. S., Hegedus, D. D., McIntosh, T. C., Coutu, C., Qiu, X., & Wanasundara, J. P. D. (2020). Subunit composition affects formation and stabilization of o/w emulsions by 11S seed storage protein cruciferin, *in Food Research International*, Volume 137, 1-11

Yada, R. (2018). Proteins in Food Processing Second Edition, Woodhead Publishing Series in Food Science and Nutrition

Yagoub, A.A, Ma, H., & Zhou, C. (2017). Ultrasonic-assisted extraction of protein from rapeseed (*Brassica napus* L.) meal: Optimization of extraction conditions and structural characteristics of the protein, *International Food Research Journal*, 24(2), 621-629

Yang, J., Faber, I., Berton-Carabin, C. C., Nikiforidis, C. V., van der Linden, E., & Sagis, L. M. C. (2020). Foams and air-water interfaces stabilised by mildly purified rapeseed proteins after defatting, *in Food Hydrocolloids*, Volume 112, 1-11

Yonsel, S. (2018). Extraction of protein mixture from rapeseed for food applications, Wageningen University & Research

Zeece, M. (2020). Proteins, *in Introduction to the Chemistry of Food*, Elsevier Inc., 37–79

Zhang, L., Wang, L.J., Jiang, W., & Qian, J.Y. (2017). Effect of pulsed electric field on functional and structural properties of canola protein by pretreating seeds to elevate oil yield, *in LWT - Food Science and Technology*, Volume 84, 73–81

Zhang, Y., Sharan, S., Rinnan, A., & Orlien, V. (2021). Survey on Methods for Investigating Protein Functionality and Related Molecular Characteristics, *Foods*, 10(11), 1 – 18

Zhang, Z., He, S., Liu, H., Sun, X., Ye, Y., Cao, X., Wu, Z., & Sun, H. (2020). Effect of pH regulation on the components and functional properties of proteins isolated from cold-pressed rapeseed meal through alkaline extraction and acid precipitation, *in Food Chemistry*, Volume 327, 1-11

Παπαστυλιανού Π. Θ., Μπιλάλης Δ., Τραυλός Η., Παπαθεοχάρη Α. Γ. (2015). Ειδική Γεωργία ΙΙ Εαρινά σιτηρά-βιομηχανικά-ελαιούχα φυτά και εαρινά ζιζάνια, ΑΘΗΝΑ: ΚΑΛΛΙΠΟΣ

Ταούκης Π., Ωραιοπούλου Π. (2019). Επιστήμη και Τεχνολογία Τροφίμων, ΑΘΗΝΑ: ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Π-1: Δεδομένα βάρους για το προσδιορισμό της υγρασίας του δείγματος

Δείγματα	Αρχικό βάρος (g)	Τελικό βάρος (g)	Υγρασία (%)
1	5,0000	4,5572	8,8560
2	5,0001	4,5735	8,5318
3	5,0004	4,5387	9,2333
4	5,0008	4,5585	8,8446
M.O	5,0003	4,5570	8,8664

Π-2: Δεδομένα βάρους ελαίου για το προσδιορισμό της περιεκτικότητας ελαίου του δείγματος

Βάρος Πρώτης ύλης (g)	Βάρος ελαίου (g)	Περιεκτικότητα σε έλαιο (%)
Τυφλός προσδιορισμός V ₂ (mL)	1,09	3,35
Όγκος τιτλοδότησης V ₁ (mL)	1,24	3,98
Περιεκτικότητα σε άζωτο N(%)	0,98	3,12
Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες(%)	0,97	3,04
M.O	1,07	3,37

Π-3: Δεδομένα βάρους για το προσδιορισμό του επιπέδου πρωτεΐνης του δείγματος

Βάρος πρώτης ύλης (g)	20,001	20,0005	20,0003	20,0008
Τυφλός προσδιορισμός V ₂ (mL)	49,1	49,1	49,1	49,1
Όγκος τιτλοδότησης V ₁ (mL)	40,2	40,2	40,1	40,0
Περιεκτικότητα σε άζωτο N (%)	6,2640	6,3456	6,2912	6,3600
Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη (%)	39,1500	39.6599	39,3200	39,7500

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ-ΧΡΟΝΟΥ ΣΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΜΕ ΥΠΕΡΗΧΟΥΣ

Π-4: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην απόδοση εκχύλισης

Univariate Tests of Significance for Αεκχύλισης (%) (Extraction) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	12608,88	1	12608,88	755,4219	0,000000
t	514,97	3	171,66	10,2842	0,001232
w/v	29,59	2	14,80	0,8864	0,437474
Error	200,29	12	16,69		

Π-5: Post hoc έλεγχος της επίδρασης του χρόνου στην απόδοση εκχύλισης

Duncan test; variable Αεκχύλισης (%) (Δεδομένα παραμέτρων, λόγου στερεού προς υγρό και χρόνου) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 16,691, df = 12,000					
Cell No.	t	{1} 28,491	{2} 33,343	{3} 40,664	{4} 45,733
1	10mir		0,134297	0,002264	0,000221
2	15mir	0,134297		0,032213	0,002004
3	20mir	0,002264	0,032213		0,119220
4	30mir	0,000221	0,002004	0,119220	

Π-6: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην απόδοση καταβύθισης

Univariate Tests of Significance for Ακαταβύθισης (%) (Extraction) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	2302,868	1	2302,868	341,3763	0,000000
t	210,754	3	70,251	10,4140	0,001169
w/v	29,645	2	14,823	2,1973	0,153772
Error	80,950	12	6,746		

Π-7: Post hoc έλεγχος της επίδρασης του χρόνου στην απόδοση καταβύθισης

Duncan test; variable Ακαταβύθισης (%) (Δεδομένα παραμέτρων, λόγου στερεού προς υγρό και χρόνου) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 6,7458, df = 12,000					
Cell No.	t	{1} 10,136	{2} 14,670	{3} 18,737	{4} 21,067
1	10mir		0,036113	0,001080	0,000225
2	15mir	0,036113		0,055838	0,007729
3	20mir	0,001080	0,055838		0,248288
4	30mir	0,000225	0,007729	0,248288	

Π-8: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην ολική απόδοση

Effect	Univariate Tests of Significance for Ολική απόδοση % (Extraction) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	423,332€	1	423,332€	278,998€	0,00000€
t	37,7661	3	12,5887	8,296€	0,00295€
w/v	4,2261	2	2,1131	1,392€	0,285837
Error	18,207€	12	1,517€		

Π-9: Post hoc έλεγχος της επίδρασης του χρόνου στην απόδοση καταβύθισης

Duncan test; variable Ολική απόδοση % (Δεδομένα παραμέτρων, λόγου στερεού προς υγρό και χρόνου) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 1,5173, df = 12,000					
Cell No.	t	{1}	{2}	{3}	{4}
1	10mir	4,5998	6,0385	8,0346	9,4817
2	15mir		0,14024€	0,00354€	0,000337
3	20mir	0,14024€		0,04895€	0,00348€
4	30mir	0,00354€	0,04895€		0,13814€

Π-10: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη

Effect	Univariate Tests of Significance for Υπερσυμπυκνώματα (Extraction) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	40315,32	1	40315,32	360,081€	0,00000€
t	1161,9€	3	387,33	3,4594	0,05116€
w/v	31,41	2	15,71	0,1403	0,870517
Error	1343,54	12	111,96		

ΠΑΡΑΣΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΣΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΜΕ ΥΠΕΡΗΧΟΥΣ

Π-11: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην απόδοση εκχύλισης

Effect	Univariate Tests of Significance for Αεκχύλισης% (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	6614,325	1	6614,325	3861,938	0,010243
T	0,155	1	0,155	0,091	0,813967
w/v	7,878	1	7,878	4,600	0,277762
Error	1,713	1	1,713		

Π-12: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην απόδοση καταβύθισης

Univariate Tests of Significance for Ακαταβύθισης% (Spreadsheet1)						
Sigma-restricted parameterization						
Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	1404,267	1	1404,267	474,4780	0,029206	
T	10,976	1	10,976	3,7087	0,304903	
w/v	10,964	1	10,964	3,7045	0,305052	
Error	2,960	1	2,960			

Π-13: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην ολική απόδοση

Univariate Tests of Significance for Ολική απόδοση% (Spreadsheet1)						
Sigma-restricted parameterization						
Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	258,2208	1	258,2208	410,3657	0,031401	
T	0,2585	1	0,2585	0,4108	0,637126	
w/v	0,2609	1	0,2609	0,4146	0,635819	
Error	0,6292	1	0,6292			

Π-14: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη

Univariate Tests of Significance for Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη% (Spreadsheet1)						
Sigma-restricted parameterization						
Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	19071,69	1	19071,69	1621,351	0,015807	
T	438,15	1	438,15	37,249	0,103391	
w/v	32,38	1	32,38	2,752	0,345332	
Error	11,76	1	11,76			

ΕΠΙΔΡΑΣΗ pH ΣΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΜΕ ΥΠΕΡΗΧΟΥΣ

Π-15: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην απόδοση εκχύλισης

Univariate Tests of Significance for Αεκχύλισης (Spreadsheet1)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	7104,266	1	7104,266	7344,987	0,000000
pH	77,597	1	77,597	80,226	0,000860
w/v	8,501	1	8,501	8,789	0,041367
t	14,914	1	14,914	15,420	0,017149
Error	3,869	4	0,967		

Π-16: Post hoc έλεγχος της επίδρασης του pH στην απόδοση εκχύλισης

Duncan test; variable Αεκχύλισης (Spreadsheet1)				
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests				
Error: Between MS = ,96723, df = 4,0000				
Cell No.	pH	{1}	{2}	
1	1	32,914	26,685	
2	2	0,001072		

Π-17: Post hoc έλεγχος της επίδρασης της αναλογίας w/v στην απόδοση εκχύλισης

Duncan test; variable Αεκχύλισης (Spreadsheet1)				
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests				
Error: Between MS = ,96723, df = 4,0000				
Cell No.	w/v	{1}	{2}	
1	1	28,769	30,831	
2	2	0,041533		

Π-18: Post hoc έλεγχος της επίδρασης του χρόνου στην απόδοση εκχύλισης

Duncan test; variable Αεκχύλισης (Spreadsheet1)				
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests				
Error: Between MS = ,96723, df = 4,0000				
Cell No.	t	{1}	{2}	
1	1	28,435	31,165	
2	2	0,017328		

Π-19: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην απόδοση καταβύθισης

Univariate Tests of Significance for Ακαταβύθισης% (Spreadsheet1)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	969,6529	1	969,6529	384,9218	0,000040
pH	2,7041	1	2,7041	1,0734	0,358693
w/v	27,5338	1	27,5338	10,9300	0,029764
t	4,0449	1	4,0449	1,6057	0,273851
Error	10,0764	4	2,5191		

Π-20: Post hoc έλεγχος της επίδρασης της αναλογίας w/v στην απόδοση καταβύθισης

Duncan test; variable Ακαταβύθισης% (Spreadsheet1)			
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests			
Error: Between MS = 2,5191, df = 4,0000			
Cell No.	w/v	{1}	{2}
1	1	9,1542	0,029952
2	2	0,029952	

Π-21: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην ολική απόδοση

Univariate Tests of Significance for Ολική απόδοση% (Spreadsheet1)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	196,6839	1	196,6839	220,0982	0,000120
pH	3,4758	1	3,4758	3,8896	0,119866
w/v	0,6671	1	0,6671	0,7465	0,436306
t	0,4659	1	0,4659	0,5214	0,510215
Error	3,5745	4	0,8936		

Π-22: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη

Univariate Tests of Significance for Περιεκτικότητα υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη% (Spreadsheet1)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	23335,06	1	23335,06	682,5090	0,000013
pH	2,17	1	2,17	0,0635	0,813429
w/v	33,51	1	33,51	0,9802	0,378186
t	4,27	1	4,27	0,1250	0,741497
Error	136,76	4	34,19		

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ

Π-23: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην απόδοση εκχύλισης

Univariate Tests of Significance for Αεκχύλισης% (Spreadsheet1)						
Sigma-restricted parameterization						
Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	4872,738	1	4872,738	3194,767	0,011262	
ΜΕΘΟΔΟΣ	469,372	1	469,372	307,740	0,036251	
w/v	5,641	1	5,641	3,698	0,305271	
Error	1,525	1	1,525			

Π-31: Post hoc έλεγχος της επίδρασης της μεθόδου στην απόδοση εκχύλισης

Duncan test; variable Αεκχύλισης% (Spreadsheet1)				
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests				
Error: Between MS = 1,5252, df = 1,0000				
Cell No.	ΜΕΘΟΔΟΣ	{1}	{2}	
1	1	24,070	45,735	0,036532
2	2	0,036532		

Π-24: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην απόδοση καταβύθισης

Univariate Tests of Significance for Ακαταβύθισης% (Spreadsheet1)						
Sigma-restricted parameterization						
Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	1306,100	1	1306,100	1388,139	0,017083	
ΜΕΘΟΔΟΣ	36,000	1	36,000	38,261	0,102037	
w/v	0,941	1	0,941	1,000	0,500000	
Error	0,941	1	0,941			

Π-25: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην ολική απόδοση

Univariate Tests of Significance for Ολική απόδοση% (Spreadsheet1)						
Sigma-restricted parameterization						
Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	176,3584	1	176,3584	1439,660	0,016774	
ΜΕΘΟΔΟΣ	32,2624	1	32,2624	263,367	0,039179	
w/v	0,3969	1	0,3969	3,240	0,322829	
Error	0,1225	1	0,1225			

Π-26: Post hoc έλεγχος της επίδρασης της μεθόδου στην ολική απόδοση

Duncan test; variable Ολική απόδοση% (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,12250, df = 1,0000				
Cell No.	ΜΕΘΟΔΟΣ	{1}	{2}	
1	1	3,8000	12,4800	
2	2	0,039460		

Π-27: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη

Univariate Tests of Significance for Περιεκτικότητα υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη% (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	22832,72	1	22832,72	1672,356	0,015564
ΜΕΘΟΔΟΣ	153,88	1	153,88	11,271	0,184299
w/v	0,46	1	0,46	0,033	0,884971
Error	13,65	1	13,65		

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ

Π-28: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην ικανότητα συγκράτησης νερού

Univariate Tests of Significance for Ικανότητα Συγκράτησης Νερού (%) (Σύγκριση λειτουργικών ιδιοτήτων) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	444264,€	1	444264,€	1518,76€	0,000000
w/v	4670,9	2	2335,4	7,984	0,015629
t	2391,8	3	797,3	2,726	0,12399€
Error	2047,€	7	292,5		

Π-29: Post hoc έλεγχος της επίδρασης της αναλογίας w/v στην ικανότητα συγκράτησης νερού

Duncan test; variable Ικανότητα Συγκράτησης Νερού (%) (Σύγκριση λειτουργικών ιδιοτήτων) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 292,52, df = 7,0000				
Cell No.	w/v	{1}	{2}	{3}
1	1/15	180,85	214,37	251,60
2	1/20	0,036737		0,024382
3	1/25	0,001270	0,024382	

Π-30: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην ικανότητα δέσμευσης/απορρόφησης ελαίου

Univariate Tests of Significance for Ικανότητα απορρόφησης Ελαίου (%) (Σύγκριση λειτουργικών ιδιοτήτων) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1123109	1	1123109	3837,311	0,000000
w/v	3719	2	1859	6,353	0,026713
t	1520	3	507	1,731	0,247405
Error	2049	7	293		

Π-31: Post hoc έλεγχος της επίδρασης της αναλογίας w/v στην ικανότητα δέσμευσης/απορρόφησης ελαίου

Duncan test; variable Ικανότητα απορρόφησης Ελαίου (%) (Σύγκριση λειτουργικών ιδιοτήτων) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 292,68, df = 7,0000				
Cell No.	w/v	1/15 307,55	1/20 355,67	1/25 373,16
1	1/15		0,00783	0,00190
2	1/20	0,00783		0,22066
3	1/25	0,00190	0,22066	

Π-32: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην ικανότητα συγκράτησης νερού

Univariate Tests of Significance for Ικανότητα Συγκράτησης Νερού (%) (Σύγκριση λειτουργικών ιδιοτήτων) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	587542,8	1	587542,8	722,199	0,000000
T	210,1	1	210,1	0,2583	0,625034
t	5197,2	3	1732,4	2,1294	0,17469
Error	6508,4	8	813,5		

Π-33: Αποτέλεσμα ANOVA για την επίδραση των παραμέτρων στην δέσμευσης/απορρόφησης ελαίου

Univariate Tests of Significance for Ικανότητα απορρόφησης Ελαίου (%) (Σύγκριση λειτουργικών ιδιοτήτων) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1486790	1	1486790	2128,294	0,000000
T	179	1	179	0,256	0,626350
t	374	3	125	1,789	0,22704
Error	558	8	699		