

**«ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ»**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ



«Η συνδυαστική επίδραση υπερήχων και εκχυλισμάτων του φυτού *Clitoria ternatea* στην πήξη του πολυσακχαρίτη Τζελάνη (Gellan Gum)»

“The combined effect of ultrasound and extracts of *Clitoria ternatea* on the coagulation of Gellan Gum polysaccharide”

Καρπώνη Δημήτριος Ελένη

2025

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπουσα

Γιαννούλη Περσεφόνη,
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια,
Βιοχημεία και Τεχνολογία
Τροφίμων, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας

2^ο Μέλος

Λεωνίδας Δημήτριος,
Καθηγητής, Βιοχημεία,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

3^ο Μέλος

Μπαλατσός Νικόλαος,
Αναπληρωτής Καθηγητής,
Βιοχημεία, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία αποτελεί διπλωματική εργασία στα πλαίσια του Προπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών της Σχολής Επιστημών Υγείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Γιαννούλη Περσεφόνη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και την ευκαιρία που μου έδωσε να συμμετάσχω στο επιστημονικό έργο. Η καθοδήγηση και η υποστήριξή της ήταν πολύτιμες καθ' όλη τη διάρκεια της πτυχιακής μου εργασίας. Παρομοίως θα ήθελα να ευχαριστήσω τους κυρίους Λεωνίδα Δημήτριο και Μπαλατσό Νικόλαο, μέλη της επιτροπής. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την υποψήφια διδάκτορα Μανώλα Ελένη, η οποία με βοήθησε κατά τη διάρκεια της πτυχιακής μου, με την καθοδήγηση και την εμπειρία που μου προσέφερε, αλλά και την αμέριστη στήριξή της τόσο σε ερευνητικό όσο και σε προσωπικό επίπεδο.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, για την οικονομική υποστήριξη, αλλά και τους φίλους μου που με υπομονή και κουράγιο, πρόσφεραν την απαραίτητη ηθική συμπαράσταση για την ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας.

Αφιερωμένη στον παππού μου

Λάρισα, 2025

Πίνακας Περιεχομένων	
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ABSTRACT	7
A. Εισαγωγή – Βιβλιογραφική Ανασκόπηση	8
1. Βιοπολυμερή	8
2. Πολυσακχαρίτες.....	8
2.1 Οι πολυσακχαρίτες	8
2.2 Ιδιότητες Πολυσακχαριτών	9
3. Τζελάνη (<i>Gellan Gum</i>)	9
3.1 Η δομή της τζελάνης.....	9
3.2 Η σταθερότητα πηκτών τζελάνης	10
3.3 Τύποι Τζελάνης.....	11
4. <i>Clitoria Ternatea</i>	11
4.1 Το <i>Clitoria Ternatea</i> στην υγεία	11
4.2 Το <i>Clitoria ternatea</i> στα τρόφιμα.....	12
5. Υπέρηχος.....	12
5.1 Ο υπέρηχος.....	12
5.2 Η χρήση υπερήχων στα τρόφιμα.....	13
5.3 Επίδραση υπερήχων στον πολυσακχαρίτη Τζελάνη	14
6. Σκοπός της εργασίας.....	15
B. Υλικά και Μέθοδοι.....	15
1. Υλικά	15
2. Μεθοδολογία.....	15
2.1 Παρασκευαστικό μέρος.....	15
2.2 Υπέρηχος.....	15
2.3 Μέτρηση Σκληρότητας.....	16
2.4 Μέτρηση Μικροδομής	16
2.5 Μέτρηση Χρώματος – Σύστημα (CIE) $L^*a^*b^*$	16
Γ. Αποτελέσματα – Συζήτηση.....	16
1. Μετρήσεις Σκληρότητας.....	16
2. Μικροσκοπικές Παρατηρήσεις.....	19
2.1 Μικροσκοπικές παρατηρήσεις πηκτών συντήρησης	19
2.2 Μικροσκοπικές παρατηρήσεις πηκτών κατάψυξης.....	20
3. Παρατηρήσεις Χρώματος.....	22
3.1 Φωτεινότητα - L^*	22
3.2 Μέτρηση της παραμέτρου a^*	23

3.3 Μέτρηση της παραμέτρου b^*	25
Βιβλιογραφία	27

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία διερευνά τη συνδυαστική επίδραση της εφαρμογής υπερήχων και του φυτού *Clitoria ternatea* στην πήξη του πολυσακχαρίτη τζελάνη (*gellan gum*). Η τζελάνη είναι ένας μικροβιακός εξωπολυσακχαρίτης με εκτεταμένες εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων λόγω των ζελατινοποιητικών ιδιοτήτων της. Η επίδραση των υπερήχων στα βιοπολυμερή έχειδειχθεί ότι επηρεάζει τη δομή και τις ρεολογικές τους ιδιότητες, ενώ τα εκχυλίσματα του *Clitoria ternatea*, πλούσια σε ανθοκυανίνες, συμβάλλουν στη σταθερότητα ή την αποσταθεροποίηση των πηκτωμάτων.

Η πειραματική διαδικασία περιλαμβάνει την παρασκευή διαλυμάτων τζελάνης και εκχυλίσματος *Clitoria ternatea*, τα οποία υποβάλλονται σε υπερηχητική επεξεργασία. Οι παραγόμενες πηκτές αποθηκεύονται στη συντήρηση (5°C) και στην κατάψυξη (-20°C), και αναλύονται ως προς τη σκληρότητα, τη μικροδομή και τις χρωματικές παραμέτρους (σύστημα CIE L* a* b*).

Η μελέτη ανέδειξε ότι η συνδυασμένη δράση υπερήχων και εκχυλισμάτων του *Clitoria ternatea* μπορεί να ρυθμίσει τις δομικές και οπτικές ιδιότητες των πηκτωμάτων τζελάνης, με προοπτικές εφαρμογής στη βιομηχανία τροφίμων. Περαιτέρω έρευνα είναι απαραίτητη για την πλήρη κατανόηση των μηχανισμών αλληλεπίδρασης μεταξύ των ανθοκυανινών και του πολυσακχαρίτη τζελάνη σε διαφορετικές συνθήκες επεξεργασίας και αποθήκευσης.

ABSTRACT

This thesis investigates the combined effect of ultrasound and extracts of *Clitoria ternatea* on the coagulation of the polysaccharide gellan gum. Gellan is a microbial exopolysaccharide with extensive applications in the food industry due to its gelling properties. The effect of ultrasound on biopolymers has been shown to affect their structure and rheological properties, while *Clitoria ternatea* extracts, rich in anthocyanins, contribute to the stability or destabilisation of gels.

The experimental procedure involves the preparation of gelatine and *Clitoria ternatea* solutions, which are subjected to ultrasonic treatment. The gels obtained are stored in preservation (5°C) and freezing (-20°C), and analysed for hardness, microstructure and colour parameters (CIE L*a*b* system).

The study showed that the combined effect of ultrasound and *Clitoria ternatea* extracts can adjust the structural and optical properties of gelatin gels, with potential applications in the food industry and the creation of functional products with optimized characteristics. Further research is needed to fully understand the interaction mechanisms between anthocyanins and gelatin polysaccharide under different processing and storage conditions.

A. Εισαγωγή – Βιβλιογραφική Ανασκόπηση

1. Βιοπολυμερή

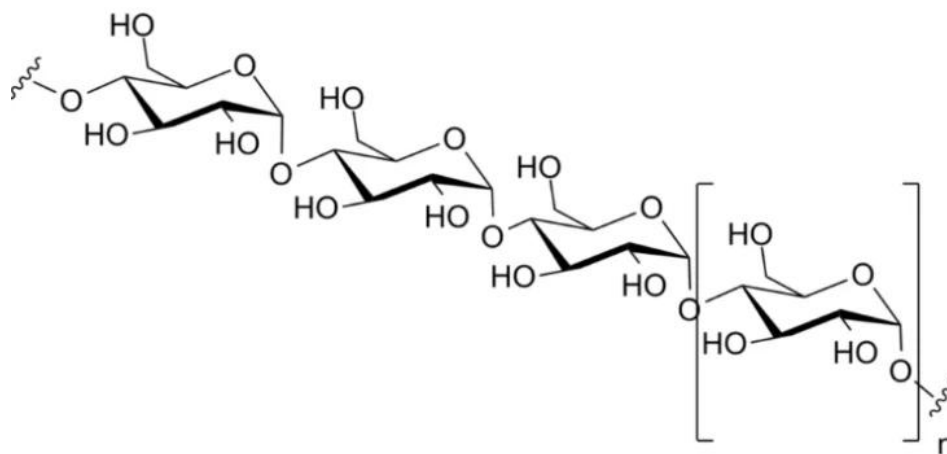
Τα βιοπολυμερή, είναι φυσικά πολυμερή που προέρχονται από ζώα και φυτά. Τα βιοπολυμερή που χρησιμοποιούνται για το σχηματισμό πηκτής ανήκουν σε κατηγορίες μακρομορίων, όπως για παράδειγμα πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες. Οι επαναλαμβανόμενες μονάδες τους αποτελούνται από σάκχαρα ή πεπτίδια, τα οποία καθοδηγούν τις διάφορες ιδιότητες των βιοπολυμερών.¹ Τα βιοπολυμερή είναι βιοσυμβατά και βιοαποικοδομήσιμα, γεγονός που τα καθιστά χρήσιμα σε διάφορες εφαρμογές που αφορούν καινοτόμα τρόφιμα, βρώσιμες μεμβράνες, γαλακτώματα και υλικά συσκευασίας στη βιομηχανία τροφίμων.

2. Πολυσακχαρίτες

2.1 Οι πολυσακχαρίτες

Οι πολυσακχαρίτες είναι πολυμερή μακράς αλυσίδας, που αποτελούνται από μονάδες μονοσακχαριτών, που συνδέονται μεταξύ τους με γλυκοζιτικούς δεσμούς. Είναι οι πιο άφθονοι υδατάνθρακες που βρίσκονται στα τρόφιμα.

Οι πολυσακχαρίτες μπορούν να ληφθούν από πολλές διαφορετικές πηγές, όπως φυτά, μικροοργανισμούς, φύκη και ζώα.



Εικόνα 1: Η Δομή των Πολυσακχαριτών

2.2 Ιδιότητες Πολυσακχαριτών

Όταν πολλές μονομερείς ομάδες ενώνονται μεταξύ τους, με αντίδραση συμπύκνωσης, σχηματίζουν ένα πολυμερές που ονομάζεται πολυσακχαρίτης. Αυτοί, διαθέτουν βιοχημικές ιδιότητες βάσει των οποίων καθίστανται δεκτικοί σε τροποποιήσεις, που οδηγούν σε βελτιωμένες ιδιότητες. Αυτό αποτελεί και τη βασική ιδέα για τις ποικίλες εφαρμογές τους στη βιομηχανία τροφίμων.¹ Επιπλέον, οι πολυσακχαρίτες χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων ως υδροκολλοειδή, λόγω της ικανότητας να σχηματίζουν πηκτές, να σταθεροποιούν και να ελέγχουν τη δομή και τη σύσταση των τροφίμων, μέσω της αύξησης του ιξώδους².

3. Τζελάνη (Gellan Gum)

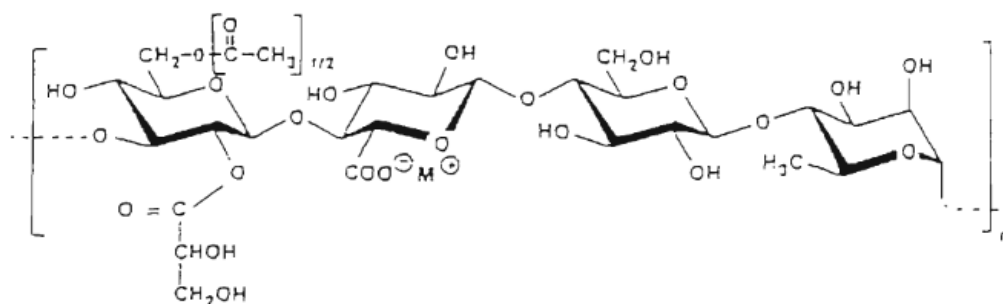
Τα βιοπολυμερή είναι από τις πιο πολυλειτουργικές και βιομηχανικά ενδιαφέρουσες ενώσεις που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα, και η έρευνα στον τομέα αυτό οδήγησε στην παραγωγή διαφόρων μικροβιακών πολυσακχαριτών σε βιομηχανική κλίμακα.⁵ Τα βιοπολυμερή πρόσθετα τροφίμων μπορεί να δρουν ως μέσα που δημιουργούν πηκτές, ως σταθεροποιητές ή να συμβάλλουν στην ποιότητα των τροφίμων.

Ωστόσο, η εποχιακή διαθεσιμότητά τους και η περιορισμένη δραστηριότητά τους μπορεί να αποτελέσουν σοβαρά μειονεκτήματα. Τα προβλήματα αυτά μπορούν να αποφευχθούν με τη χρήση μικροβιακών πολυσακχαριτών, που μπορούν να παραχθούν υπό ελεγχόμενες συνθήκες, με σταθερή και εύκολα τροποποιήσιμη λειτουργικότητα.

Η τζελάνη είναι ένας εξωπολυσακχαρίτης που παράγεται από το βακτήριο *Sphingomonas paucimobilis*, το οποίο παλαιότερα αναφερόταν ως *Pseudomonas elodea*.

3.1 Η δομή της τζελάνης

Η φυσική τζελάνη αποτελείται από σκελετό που δομείται από -1,3-D-γλυκόζη, -1,4-D-γλυκουρονικό οξύ, -1,3-D-γλυκόζη, -1,4-L-ραμνόζη και δύο ακυλικές ομάδες, οξικό και γλυκερικό, συνδεδεμένες με το κατάλοιπο γλυκόζης δίπλα στο γλυκουρονικό οξύ. Το ποσοστό των τριών κύριων συστατικών είναι κατά προσέγγιση: γλυκόζη 60%, ραμνόζη 20% και γλυκουρονικό οξύ 20%.⁴



Εικόνα 2: Επαναλαμβανόμενη μονάδα της χημικής δομής της τζελάνης

Στην εμπορική τζελάνη οι ακετυλομάδες αφαιρούνται με αλκαλική επεξεργασία, για να παραχθεί ένα σταθερό και οπτικά διαυγές πήκτωμα, σε σύγκριση με τα μαλακά και ελαστικά πηκτώματα της φυσικής τζελάνης.

Η δομή της τζελάνης εξαρτάται άμεσα από τη συγκέντρωση του πολυμερούς, τη θερμοκρασία και την παρουσία μονοθενούς ή δισθενούς κατιόντος στο διάλυμα.⁴ Σε χαμηλές θερμοκρασίες η τζελάνη χαρακτηρίζεται από υψηλό ιξώδες, ενώ σε υψηλές θερμοκρασίες παρουσιάζει μειωμένο ιξώδες.

Αραίωση του πολυσακχαρίτη με νερό δίνει διακλαδώσεις που αυξάνουν τον όγκο του μορίου. Οι διακλαδώσεις συνδέονται μεταξύ τους μέσω γεφυρών άλατος. Δευτερογενείς αλληλεπιδράσεις, συμπεριλαμβανομένων των δεσμών υδρογόνου, συνδέουν τις διακλαδιζόμενες αλυσίδες.⁴

Μελέτη της τζελάνης, με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, ανέδειξε τη μικροκυκλική δομή αυτής, που προέρχεται απ' τη συνένωση των αλυσίδων. Αυτή η δομή, που μάλιστα βρέθηκε κοινή μεταξύ και άλλων μικροβιακών εξωπολυσακχαριτών, όπως η ξανθάνη, έχει ως αποτέλεσμα ένα μεγαλομοριακό δίκτυο στο οποίο εγκλωβίζονται μόρια νερού, επιτρέποντας τη δημιουργία πηκτής (gelation).⁴

3.2 Η σταθερότητα πηκτών τζελάνης

Ο εξωπολυσακχαρίτης τζελάνη διαθέτει ένα ευρύ φάσμα λειτουργικών ιδιοτήτων, που μπορούν εύκολα να τροποποιηθούν. Από τις πιο σημαντικές ιδιότητες είναι η υφή, η οποία ορίζεται με βάση το μέτρο της σκληρότητας, δηλαδή το μέτρο της αντοχής, του πηκτώματος, σε θραύση, την ελαστικότητα και την ανθεκτικότητα ή ευθραυστότητα, δηλαδή την τάση που απαιτείται για να σπάσει το πήκτωμα.⁴³

Μία ακόμη σημαντική ιδιότητα είναι η σταθερότητα της πηκτής που δημιουργείται μετά από θέρμανση ή μεταβολή της τιμής του pH.

Άλλη μία ιδιότητα της τζελάνης είναι αυτή που αφορά τη θερμοκρασία του σημείου πήξης και του σημείου τήξης. Αυτή της η ιδιότητα εξετάζεται εκτενώς, καθώς έχει σημαντικό ρόλο στη δημιουργία πηκτωμάτων (gels) που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία και την έρευνα τροφίμων.⁶ Τα πηκτώματα τζελάνης μπορούν να διαμορφωθούν ώστε να σταθεροποιούνται με ή χωρίς θέρμανση. Το σημείο τήξης μπορεί να είναι είτε κάτω είτε πάνω από τους 100°C, επιτρέποντας το σχεδιασμό και την παραγωγή ανθεκτικών στη θερμότητα πηκτωμάτων.

Η τζελάνη μπορεί εύκολα να συνδυαστεί με άλλα πολυμερή προσφέροντας σταθερότητα. Αυτό συνεπάγεται τη διεύρυνση των λειτουργικών ιδιοτήτων και των εφαρμογών. Σημαντικό παράδειγμα αποτελεί ο συνδυασμός ζελατίνης, η οποία έχει χαμηλό σημείο τήξης, και τζελάνης⁶. Η προσθήκη τζελάνης στο μείγμα, που περιέχεται η ζελατίνη, το σταθεροποιεί αυξάνοντας το σημείο τήξης.

Επιπροσθέτως, η παρασκευή πηκτών τζελάνης έχει χαμηλές απαιτήσεις σε συγκεντρώσεις. Συνήθως, οι πηκτές τζελάνης γίνονται με μόλις 0,05% (w/v) κόμμι τζελάνης⁴.

3.3 Τύποι Τζελάνης

Υπάρχουν τρεις τύποι τζελάνης⁴:

- i. Τζελάνη με υψηλή περιεκτικότητα σε ακετύλιο (μερικώς απακετυλιωμένη). Αυτή δίνει θερμοαναστρέψιμες πηκτές (gel), αρκετά μαλακές, ελαστικές και μη εύθραυστες.
- ii. Τζελάνη χαμηλής περιεκτικότητας σε ακετύλιο (υψηλά απακετυλιωμένη). Αυτή σχηματίζει σταθερές και εύθραυστες πηκτές και λόγω αυτού προτιμάται για τις περισσότερες εφαρμογές σε τρόφιμα.
- iii. Τζελάνη υψηλής διαφάνειας (υψηλά απακετυλιωμένη και διαυγής). Αυτή είναι κατάλληλη για ορισμένα προϊόντα ζαχαροπλαστικής, όπου η διαύγεια αποτελεί ζήτημα ποιότητας. Επιπλέον, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πηκτωματοποιητής. Εκτός από την περιεκτικότητα της τζελάνης σε ακετύλιο, διάφοροι άλλοι παράγοντες επηρεάζουν τη λειτουργικότητά της σε πηκτώματα.

4. *Clitoria Ternatea*

Το *Clitoria ternatea*, γνωστό και ως Butterfly pea, είναι ένα πολυετές, βρώσιμο, αναρριχώμενο φυτό που ανήκει στην οικογένεια των *Fabaceae* και είναι ευρέως διαδεδομένο στις τροπικές και υποτροπικές περιοχές της Ασίας και της Αφρικής.²

Το φυτό παράγει χαρακτηριστικά μπλε ή λευκά λουλούδια με πέντε πέταλα. Οι καρποί του είναι μικροί λοβοί που περιέχουν αρκετούς σπόρους. Το μπλε χρώμα των λουλουδιών του *C. ternatea* περιέχει ανθοκυανίνες, που χρησιμοποιούνται ευρέως ως φυσική πηγή χρωστικών των τροφίμων.² Πειράματα *in vivo* και σε ζώα, έχουν δείξει ότι το εκχύλισμα ανθέων *C. ternatea* δρα ως άμεσο αντιοξειδωτικό που μπορεί να παρέχει προστασία από τις ελεύθερες ρίζες που παράγονται από εξωτερικές ή ενδογενείς βιολογικές αντιδράσεις⁷.

4.1 Το *Clitoria Ternatea* στην υγεία

Το λουλούδι του μπιζελιού πεταλούδας (*Clitoria ternatea*) έχει υψηλή περιεκτικότητα σε ανθοκυανίνες, οι οποίες αξιοποιούνται σε προϊόντα και πέραν της βιομηχανίας τροφίμων. Η χρήση συστήματος υπερήχων, έχει χρησιμοποιηθεί σε έρευνα με σκοπό την εκχύλιση ανθοκυανινών από το φυτό *Clitoria Ternatea*. Αποτελέσματα των μελετών έχουν αποδείξει ότι σε σύγκριση με τις ανθοκυανίνες από άλλες φυσικές πηγές, οι ανθοκυανίνες από το *Clitoria Ternatea* έχουν σημαντικό όφελος στη συσκευασία τροφίμων λόγω του μοναδικού χρωματικού τους φάσματος σε ένα ευρύ φάσμα τιμών pH⁸.

Επιπλέον, το εκχύλισμα ανθέων *Clitoria ternatea* (*Clitoria Ternatea* Extract) διαθέτει αντιοξειδωτικό δυναμικό και ανασταλτική δράση ενζύμων πέψης υδατανθράκων και λιπών *in vitro*. Ευρήματα κλινικής μελέτης υποδηλώνουν ότι το CTE μπορεί να

χρησιμοποιηθεί ως φυσικό συστατικό για τη μείωση της μεταγευματικής λιπιδαιμίας και τη βελτίωση της αντιοξειδωτικής κατάστασης σε υπέρβαρους και παχύσαρκους άνδρες μετά την κατανάλωση, υψηλών σε λιπαρά, γευμάτων.⁹

Μερικές μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει το φυτό και τα πλούσια σε ανθοκυανίνες εκχυλίσματα του στην παραγωγή καλλυντικών προϊόντων⁸, στην παρασκευή συσκευασίας τροφίμων⁶, ακόμη και σε κλινικές μελέτες που αφορούν νόσους. Παράδειγμα αποτελεί η σύνθεση κβαντικών κουκκίδων για τη θεραπεία της νόσου του Alzheimer.⁹

4.2 Το *Clitoria ternatea* στα τρόφιμα

Το άνθος πεταλούδας (*Clitoria ternatea*) έχει ιδιαίτερη σημασία στη βιομηχανία τροφίμων, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς του σε ανθοκυανίνες, οι οποίες λειτουργούν ως φυσικές χρωστικές. Οι ανθοκυανίνες του, γνωστές ως τερνατίνες, είναι εξαιρετικά σταθερές σε ένα ευρύ φάσμα pH. Σε όξινο περιβάλλον, παράγουν μωβ χρώμα, ενώ σε ουδέτερο και αλκαλικό pH μετατρέπονται σε μπλε και πράσινο αντίστοιχα. Αυτή η ιδιότητα αξιοποιείται σε προϊόντα και αφορά φυσικούς δείκτες pH για την ανίχνευση φρεσκάδας τροφίμων⁸. Επιπλέον, το εκχύλισμα του *Clitoria ternatea* χρησιμοποιείται σε «έξυπνες» συσκευασίες τροφίμων, λειτουργώντας ως ανιχνευτής αλλοίωσης μέσω χρωματομετρικών αλλαγών pH. Αυτή η προσέγγιση υποδεικνύει τη φρεσκάδα και την ασφάλεια των τροφίμων. Μέθοδοι εκχύλισης, όπως η υπερήχηση, έχουν αυξήσει σημαντικά την απόδοση των ανθοκυανινών, υποστηρίζοντας περαιτέρω τη βιομηχανική αξιοποίησή τους⁸.

5. Υπέρηχος

5.1 Ο υπέρηχος

Ως υπέρηχος, ορίζεται η διαδικασία κατά την οποία χρησιμοποιούνται ηχητικά κύματα για την ανάδευση των σωματιδίων στα διαλύματα. Οι αναδεύσεις αυτές χρησιμοποιούνται για την ανάμειξη των διαλυμάτων και για την αύξηση της ταχύτητας διάλυσης ενός στερεού σε ένα υγρό.

Ο εξοπλισμός που χρησιμοποιείται για τον ηχοβολισμό είναι γνωστός ως ηχοβολέας. Αυτός αποτελείται από τρία μέρη, μια γεννήτρια, έναν μετατροπέα και έναν αισθητήρα. Η γεννήτρια χρησιμοποιείται για τη μετατροπή της ηλεκτρικής ισχύος εισόδου σε ηλεκτρικό σήμα που οδηγεί τον μετατροπέα. Ο μετατροπέας χρησιμοποιείται για τη μετατροπή του ηλεκτρικού σήματος σε δόνηση. Η δόνηση αυτή χρησιμοποιείται στο άκρο του αισθητήρα ενισχύοντάς την σε διαμήκη δόνηση που προκαλεί κοιλότητα στο δείγμα. Η ενέργεια των υπερήχων είναι η δημιουργία σπηλαίωσης που προκαλεί τη διάσπαση του δείγματος και διευκολύνει τη διάσπαση των σωματιδίων σε μικρότερα¹⁰.

5.1.1 Η λειτουργία του υπερήχου

Η διαδικασία υπερήχου χρησιμοποιεί υπερηχητικά κύματα. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας, παράγονται χιλιάδες μικροσκοπικές φυσαλίδες κενού στο διάλυμα λόγω

της εφαρμοζόμενης πίεσης. Οι σχηματιζόμενες φυσαλίδες καταρρέουν μέσα στο διάλυμα κατά τη διαδικασία της σπηλαίωσης.¹⁰

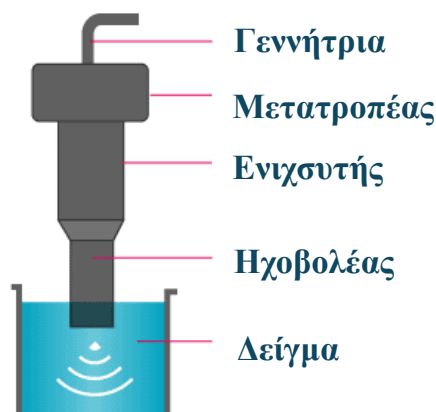
Η κατάρρευση των φυσαλίδων λαμβάνει χώρα στο πεδίο σπηλαίωσης που οδηγεί στην παραγωγή ενέργειας, καθώς υπάρχει παραγωγή κυμάτων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη διατάραξη των μοριακών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων του νερού. Καθώς υπάρχει μείωση των μοριακών αλληλεπιδράσεων, τα σωματίδια αρχίζουν να διαχωρίζονται επιτρέποντας την ανάμειξη. Υπάρχει απελευθέρωση ενέργειας από τα ηχητικά κύματα που έχουν ως αποτέλεσμα την τριβή στο διάλυμα.

Κατά τη διάρκεια του υπερήχου χρησιμοποιείται πάγος για να αποφευχθεί η θέρμανση του δείγματος.

5.1.2 Αρχή του υπερηχητικού συντονισμού

Κατά τη διαδικασία του υπερήχου, η σπηλαίωση οδηγεί σε διασπορά, ομογενοποίηση, αποσύνθεση και εκχύλιση των υγρών. Υπέρηχοι υψηλής ισχύος εισάγονται στο υγρό, οι οποίοι δημιουργούν περιοχές υψηλής πίεσης (γνωστές ως συμπίεση) και χαμηλής πίεσης (γνωστές ως αραιώση). Η δημιουργία αυτών των περιοχών εξαρτάται από τον ρυθμό συχνότητας με τον οποίο εφαρμόζεται ο υπέρηχος.

Όταν εφαρμόζεται χαμηλή πίεση στο υγρό, παράγονται υπερηχητικά κύματα υψηλής έντασης, τα οποία δημιουργούν μικρές φυσαλίδες κενού στο υγρό. Καθώς οι φυσαλίδες φτάνουν στο επίπεδο κορεσμού, καταρρέουν και αυτό συμβαίνει στον κύκλο υψηλής πίεσης. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται σπηλαίωση.¹⁰



Εικόνα 3: Μέθοδος ultrasonication (τροποποιημένη)

5.2 Η χρήση υπερήχων στα τρόφιμα

Η εφαρμογή των υπερηχητικών κυμάτων στην επεξεργασία τροφίμων έχει διάφορες σημαντικές χρήσεις που βελτιώνουν την ποιότητα και την αποδοτικότητα των διαδικασιών επεξεργασίας. Μερικές από τις βασικές εφαρμογές περιλαμβάνουν:

- i. **Αδρανοποίηση Μικροοργανισμών:** Η υπερηχητική επεξεργασία χρησιμοποιείται για την αδρανοποίηση βακτηρίων, ζυμών και άλλων

μικροοργανισμών. Κατά τη σπηλαίωση αναπτύσσονται θερμοκρασίες και πιέσεις που καταστρέφουν τα κυτταρικά τοιχώματα, οδηγώντας σε κυτταρικό θάνατο χωρίς την ανάγκη υψηλών θερμοκρασιών που προκαλούν απώλεια θρεπτικών συστατικών και αλλαγές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, όπως τη γεύση.¹²

- ii. **Υπερηχητική Κοπή:** Η τεχνολογία υπερηχητικής κοπής χρησιμοποιείται για τη βελτίωση της ποιότητας και ακρίβειας των κοπών τροφίμων. Η υψηλής συχνότητας δόνηση που εφαρμόζεται μειώνει τις δυνάμεις κοπής, προσφέροντας καθαρές κοπές με λιγότερη καταστροφή και παραμόρφωση των προϊόντων και συνεπώς μικρότερη απώλεια ποσοτήτων αυτών.¹²
- iii. **Υπερηχητική Αποξήρανση:** Η χρήση υπερήχων επιταχύνει τη διαδικασία αποξήρανσης χωρίς την ανάγκη υψηλών θερμοκρασιών, αποφεύγοντας τις αλλαγές στην ποιότητα του προϊόντος, όπως ο αποχρωματισμός και η οξείδωση των βιταμινών.¹²
- iv. **Υπερηχητική Κατάψυξη:** Η υπερηχητική κατάψυξη βοηθά στη δημιουργία μικρότερων και ομοιόμορφων κρυστάλλων πάγου, αποφεύγοντας αλλαγές στην υφή και τη θρεπτική αξία των τροφίμων.¹²

5.3 Επίδραση υπερήχων στον πολυσακχαρίτη Τζελάνη

Όπως αναφέρθηκε, ο πολυσακχαρίτης τζελάνη είναι ένας εξωπολυσακχαρίτης που παράγεται από το βακτήριο *Sphingomonas paucimobilis*. Χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων, φαρμάκων, και καλλυντικών λόγω των εξαιρετικών του ρεολογικών (rheology) και ζελατινοποιητικών (gelation) ιδιοτήτων.¹¹

Η χρήση υπερήχων μπορεί να επηρεάσει τον πολυσακχαρίτη τζελάνη με διάφορους τρόπους:

- i. **Αλλαγή Μοριακού Βάρους:** Η χρήση υπερήχων μπορεί να μειώσει το μοριακό βάρος της τζελάνης μέσω της διάσπασης των γλυκοσιδικών δεσμών. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε αλλαγές στις ρεολογικές ιδιότητες του υλικού.¹¹
- ii. **Βελτίωση Διαλυτότητας:** Η σπηλαίωση που προκαλείται από τους υπερήχους μπορεί να βελτιώσει τη διαλυτότητα της τζελάνης σε υδατικά διαλύματα, διευκολύνοντας την ομοιογενή κατανομή του.¹²
- iii. **Αλλαγές στη Δομή:** Οι υπερήχοι μπορούν να επιδράσουν στη δομή της τζελάνης, επηρεάζοντας έτσι τις ιδιότητες ζελατινοποίησης και της πηκτής.¹¹
- iv. **Ενίσχυση Ενυδάτωσης:** Η υπερηχητική επεξεργασία μπορεί να αυξήσει την ικανότητα ενυδάτωσης της τζελάνης, βελτιώνοντας την υφή και την σταθερότητα των τελικών προϊόντων.¹¹

6. Σκοπός της εργασίας

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής είναι η ανάπτυξη πηκτών μέσω της χρήσης του πολυσακχαρίτη τζελάνη και φυσικών εκχυλίσμάτων από το φυτό *Clitoria Ternatea*. Η εργασία διερευνά τη συνδυαστική επίδραση της εφαρμογής υπερήχων και των εκχυλίσμάτων του φυτού στην πήξη του πολυσακχαρίτη τζελάνη (gellan gum). Μικροσκοπικές παρατηρήσεις, μελέτη της δομής και παρατηρήσεις που αφορούν το χρώμα του βιοπολυμερούς (πηκτής), μπορούν να οδηγήσουν σε νέες εφαρμογές στη βιομηχανία των τροφίμων.

B. Υλικά και Μέθοδοι

1. Υλικά

- Τζελάνη - AppliChem BioChemica Chemica Synthesis Services Gellan-Gum
- Εμπορικό σκεύασμα εκχυλίσματος από το φυτό *Clitoria Ternatea* - Enchanting Indigo - Butterfly Pea Powder, Butterfly pea tea

2. Μεθοδολογία

2.1 Παρασκευαστικό μέρος

Η πειραματική διαδικασία περιλαμβάνει αρχικά, τη δημιουργία διαλυμάτων στα οποία περιέχονται Τζελάνη %w/w σε καθορισμένες συγκεντρώσεις. Το κάθε δείγμα έχει τελικό βάρος 30g, διάμετρο 20mm και ύψος 30mm.

Πίνακας 1: Συγκεντρώσεις (% w/w) συστατικών των δειγμάτων

Δείγματα	Τζελάνη	Εκχύλισμα <i>Clitoria Ternatea</i>
Control	2,00% w/w	0,00% w/w
Δείγμα 1	2,00% w/w	0,10% w/w
Δείγμα 2	2,00% w/w	0,25% w/w
Δείγμα 3	2,00% w/w	0,50% w/w
Δείγμα 4	2,00% w/w	0,75% w/w
Δείγμα 5	2,00% w/w	1,00% w/w

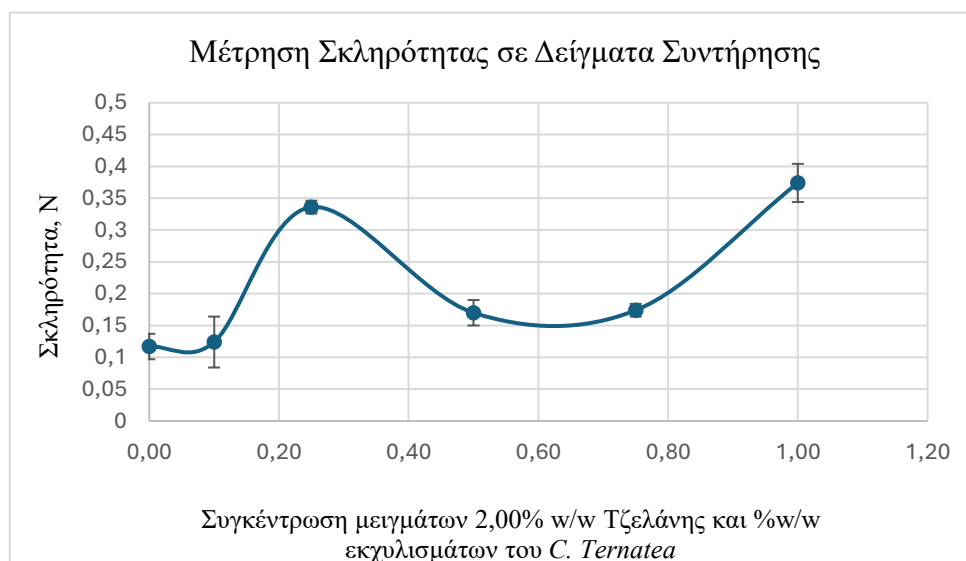
2.2 Υπέρηχος

Τα παραπάνω δείγματα επεξεργάζονται με υπερήχους.

Ο υπέρηχος που χρησιμοποιήθηκε κατά την πειραματική διαδικασία είναι ο Up400S (400W, 24kHz) της Hielscher – Ultrasound Technology.

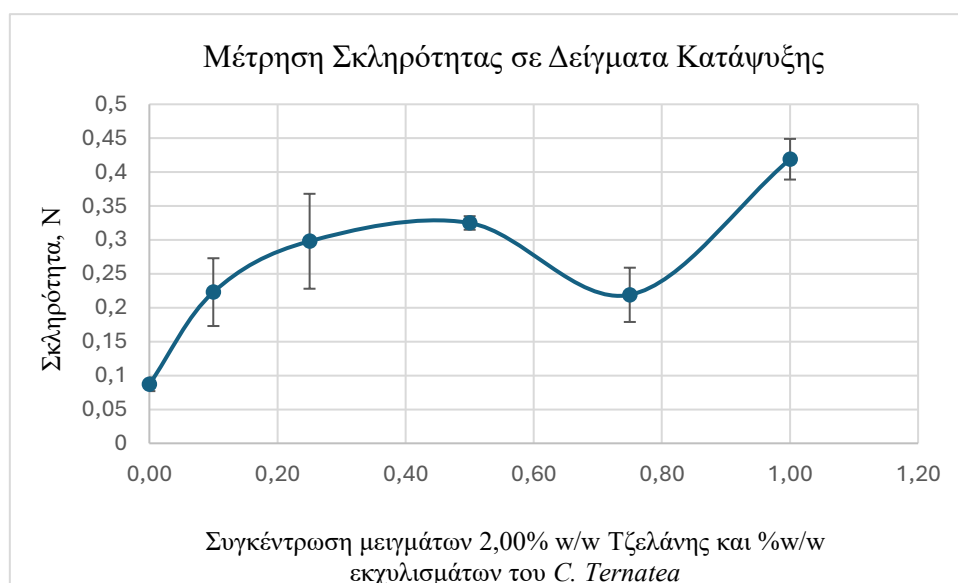
Η εφαρμογή υπερήχου είναι σταθερή για όλα τα δείγματα. Ο χρόνος και η ισχύς ρυθμίζονται το ίδιο για όλα τα δείγματα, με amplitude 70%, cycle ίσο με 1 και χρόνο 40 λεπτά. Μετά την επεξεργασία με υπέρηχο τα δείγματα διακρίνονται σε δύο κατηγορίες. Στην πρώτη, ανήκουν τα δείγματα που τοποθετούνται στη συντήρηση (5°C) και στη δεύτερη κατηγορία ανήκουν τα δείγματα που τοποθετούνται στην κατάψυξη (-20°C). Τα δείγματα της πρώτης κατηγορίας αποθηκεύονται στη συντήρηση (5°C) για 2 ημέρες και τα δείγματα της δεύτερης κατηγορίας αποθηκεύονται για 1

Παρακάτω, παρατίθενται τα αποτελέσματα μέτρησης της σκληρότητας στα δείγματα συντήρησης (ψύξη στους 5°C) και κατάψυξης (-20°C). Τα δεδομένα δείχνουν τη σκληρότητα των πηκτών σε δύο συνθήκες.



Διάγραμμα 1: Μέτρηση της σκληρότητας της δομής σε πηκτές συντήρησης με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,00%, 0,10%, 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1,00%, w/w συγκέντρωση εκχυλίσματος *Clitoria Ternatea*.

Στη συντήρηση (5°C) η σκληρότητα εμφανίζει μεγάλη αύξηση από τη συγκέντρωση 0,00% w/w (control) έως το 0,25% w/w εκχυλίσματος *C. Ternatea*. Στη συνέχεια, παρατηρείται μείωση σε συγκέντρωση 0,50% w/w. Σε συγκέντρωση εκχυλίσματος *C. Ternatea* 0,75% w/w η σκληρότητα παραμένει σχετικά σταθερή και τέλος μεγάλη αύξηση παρατηρείται σε συγκέντρωση 1,00% w/w. Η έρευνα των Lau, M., Tang, J., & Paulson, A. (2000)¹³ έδειξε πως η σκληρότητα της πηκτής τζελάνης αυξάνεται σε ένα μέγιστο και στη συνέχεια μειώνεται σταδιακά. Όμως, κατά την επίδραση του εκχυλίσματος *C. Ternatea* με τη Τζελάνη, η συγκέντρωση του *C. Ternatea* που προκαλεί αύξηση στη σκληρότητα των σχηματιζόμενων πηκτών είναι 0,25% και 1,00% w/w. Στις συγκεντρώσεις αυτές, το εκχύλισμα του *C. Ternatea*, αλληλεπιδρά συνεργειακά με τη τζελάνη (gellan gum), και ενισχύει το δίκτυο της σχηματιζόμενης πηκτής. Οι συγκεντρώσεις 0,50% και 0,75% w/w εκχυλίσματος του *C. Ternatea* διαταράσσουν τη συνεκτικότητα των μακρομορίων της πηκτής. Καθώς όμως αυξάνεται η συγκέντρωση του εκχυλίσματος του *C. Ternatea* στο 1,00% w/w, οι πολυφαινόλες και τα μακρομόρια που περιέχει το εκχύλισμα *C. Ternatea* δεσμεύουν το νερό και επηρεάζουν το δίκτυο της τζελάνης (gellan gum), αυξάνοντας τη σκληρότητα της δομής.

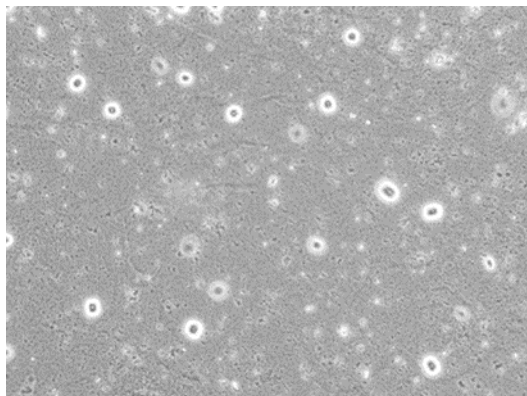


Διάγραμμα 2: Μέτρηση της σκληρότητας της δομής σε πηκτές κατάψυξης με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,00%, 0,10%, 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1,00%, w/w συγκέντρωση εκχυλίσματος *Clitoria Ternatea*.

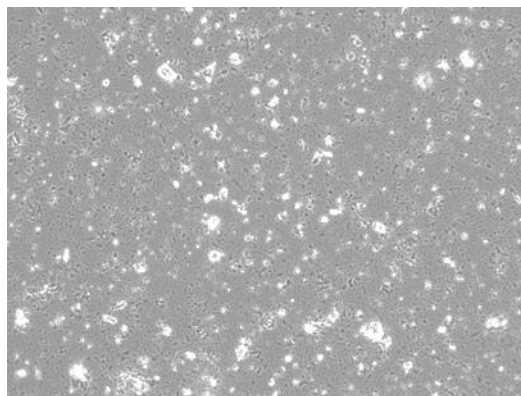
Στην συνέχεια, στο Διάγραμμα 2, φαίνονται τα αποτελέσματα της σκληρότητας των δειγμάτων που αποθηκεύτηκαν στην κατάψυξη (-20°C) την πρώτη μέρα και στους 5°C τη δεύτερη. Η σκληρότητα των πηκτών, που έχουν σχηματιστεί, εμφανίζουν τη μεγαλύτερη τιμή σε συγκέντρωση εκχυλίσματος *C. Ternatea* 1,00% w/w και τις μικρότερες τιμές στις συγκεντρώσεις 0,75% και 0,10% w/w. Συγκριτικά με τη συντήρηση, η αποθήκευση των δειγμάτων στην κατάψυξη οδήγησε στη δημιουργία ισχυρότερων πηκτών. Κατά την κατάψυξη, η δημιουργία παγοκρυστάλλων οδήγησε στη δημιουργία αλληλεπιδράσεων ανάμεσα στα μακρομόρια της τζελάνης, οι οποίες και παρέμειναν κατά την απόψυξη ενισχύοντας την δομή της πηκτής του πολυσακχαρίτη. Επίσης, το *C. Ternatea* εκχύλισμα περιέχει και διαιτητικές ίνες, ταννίνες, φαινολικές ενώσεις που επίσης ανταγωνίζονται με τη τζελάνη ως προς τον διαλύτη κατά τις συνθήκες κατάψυξης. Αυτήν την ενίσχυση της δομής των πηκτών τζελάνης παρατήρησαν και οι Mattia Cassanelli et al. (2018)¹⁴, όταν μελέτησαν την επίδραση της κατάψυξης στις πηκτές τζελάνης με σακχαρόζη και μαννιτόλη που επίσης ανταγωνίζονται για το νερό. Τα δείγματα, τόσο στη συντήρηση, όσο και στην κατάψυξη, παρουσίασαν μειωμένη σκληρότητα σε συγκέντρωση 0,75% w/w κατά την επίδραση του εκχυλίσματος *C. Ternatea* με τη τζελάνη. Η συγκέντρωση 1,00% w/w του εκχυλίσματος *C. Ternatea* προκαλεί αύξηση στη σκληρότητα των σχηματιζόμενων πηκτών τόσο στην κατάψυξη όσο και στη συντήρηση, γεγονός που δείχνει πως η συγκέντρωση τσαγιού, σε συνδυασμό με την εφαρμογή υπερήχων (sonication) επιδρούν στο δίκτυο της πηκτής. Επιπλέον, το εκχύλισμα από το *C. Ternatea*, λόγω της σύστασής του αλληλεπιδρά με τη τζελάνη μέσω υδροφοβικών αλληλεπιδράσεων και δεσμών υδρογόνου¹⁵. Οι υπέρηχοι προωθούν την κατανομή των πολυφαινολών μέσα στο δίκτυο της πηκτής, κάνοντάς το πιο ομοιογενές.

2. Μικροσκοπικές Παρατηρήσεις

2.1 Μικροσκοπικές παρατηρήσεις πηκτών συντήρησης

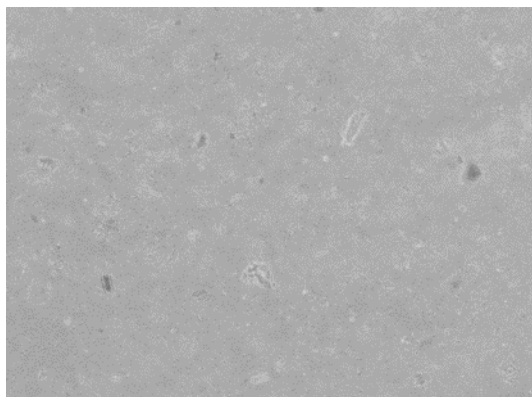


Εικόνα 5: Πηκτή με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,00% w/w εκχύλισμα *C. Ternatea*

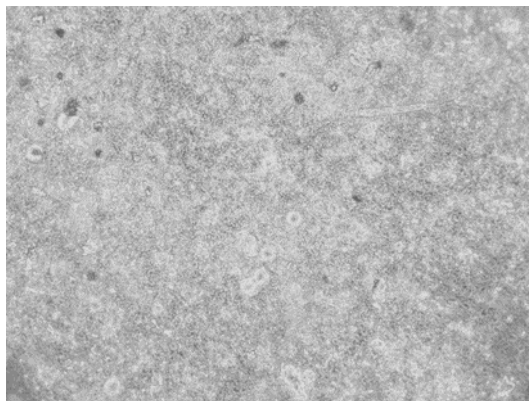


Εικόνα 6: Πηκτή με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,10% w/w εκχύλισμα *C. Ternatea*

Στην εικόνα 5, παρουσιάζεται η μικροδομή της πηκτής με συγκέντρωση 0,00% w/w εκχυλίσματος *C. Ternatea* (control) μετά από αποθήκευση στη συντήρηση (5°C). Η πηκτή εμφανίζει ομοιογενή δομή χωρίς εμφανείς μεγάλες διαταραχές. Οι πόροι είναι μικροί και διακριτοί, υποδηλώνοντας σταθερή μικροδομή. Επίσης, στην εικόνα 6, παρουσιάζεται η μικροδομή της πηκτής με συγκέντρωση 0,10% w/w εκχυλίσματος *C. Ternatea* μετά από αποθήκευση στη συντήρηση (5°C). Εμφανίζονται μικρές διαφοροποιήσεις στη μικροδομή συγκριτικά με το control (0,00% w/w *C. Ternatea* εκχύλισμα). Η παρουσία του εκχυλίσματος *C. Ternatea* αρχίζει να επηρεάζει τη δομή της πηκτής.

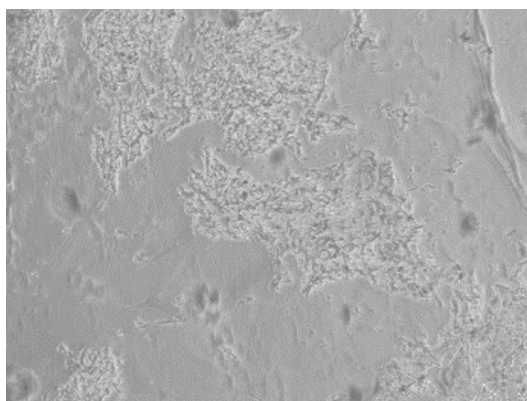


Εικόνα 7: Πηκτή με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,25% w/w εκχύλισμα *C. Ternatea*

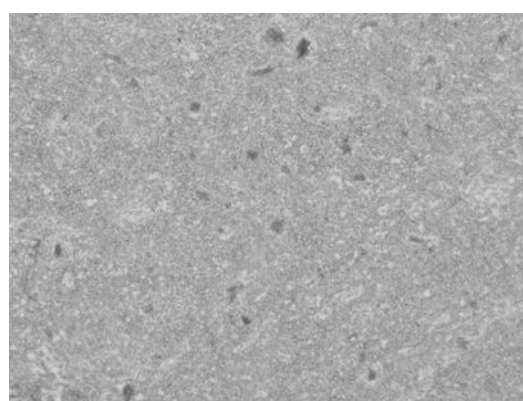


Εικόνα 8: Πηκτή με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,50% w/w εκχύλισμα *C. Ternatea*

Η μικροδομή της πηκτής με συγκέντρωση εκχυλίσματος *C. Ternatea* 0,25% w/w φαίνεται στην εικόνα 7 μετά από αποθήκευση στη συντήρηση (5°C). Στην εικόνα 8, παρουσιάζεται η μικροδομή της πηκτής με συγκέντρωση 0,50% w/w εκχυλίσματος *C. Ternatea* μετά από αποθήκευση στη συντήρηση (5°C).



Εικόνα 9: Πηκτή με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,75% w/w εκχύλισμα *C. Ternatea*

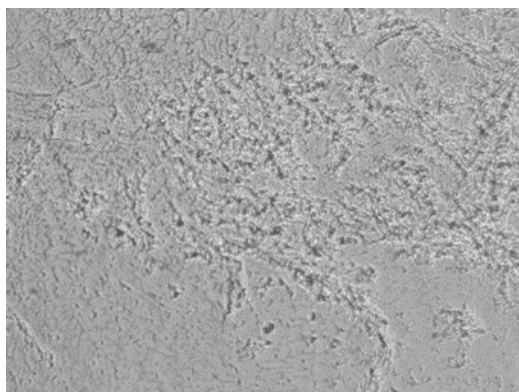


Εικόνα 10: Πηκτή με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,10% w/w εκχύλισμα *C. Ternatea*

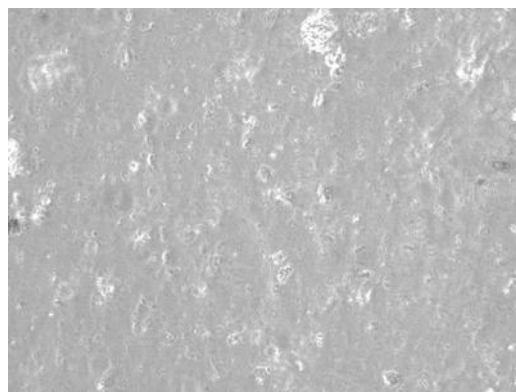
Στις εικόνες 9 και 10, παρουσιάζεται η μικροδομή της πηκτής με συγκεντρώσεις 0,75% w/w και 1,00% w/w εκχυλίσματος *C. Ternatea*, αντίστοιχα, μετά από αποθήκευση στη συντήρηση (5°C). Σε συγκέντρωση 0,75% w/w παρατηρείται διαχωρισμός φάσεων στο δίκτυο της πηκτής, αποτέλεσμα που συνάδει και με την τιμή της σκληρότητας της πηκτής. Αντίθετα, στην πηκτή με συγκέντρωση εκχυλίσματος *C. Ternatea* 1,00% w/w παρατηρείται μεγαλύτερη συνοχή που συμφωνεί και με την αύξηση σκληρότητας που παρατηρήσαμε.

Στην παρούσα έρευνα, η ισχύς και ο χρόνος επεξεργασίας με υπέρηχο, καθώς και η συγκέντρωση τζελάνης παρέμειναν αμετάβλητα, με αυξανόμενη συγκέντρωση εκχυλίσματος *C. Ternatea*. Το γεγονός ότι η μικροδομή της πηκτής, με συγκέντρωση εκχυλίσματος *C. Ternatea* 0,00% w/w (control), διατηρείται ομοιόμορφη, αλλά παρουσιάζει ετερογένεια που ίσως οφείλεται σε διαχωρισμό φάσεων στο δίκτυο στη συγκέντρωση 0,75% w/w, ενώ στο 1,00% w/w φαίνεται πιο συνεκτική, δείχνει ότι υπάρχει πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ των συστατικών του εκχυλίσματος του *C. Ternatea* και της δομής της πηκτής. Οι πολυφαινόλες και οι διαιτητικές ίνες του εκχυλίσματος *C. Ternatea* αλληλεπιδρούν με τα μακρομόρια της τζελάνης. Σε μικρές συγκεντρώσεις (0,10% – 0,50% w/w) η επίδραση αυτή είναι περιορισμένη, αλλά όταν αυξάνεται η συγκέντρωση στο 0,75% w/w, το δίκτυο φτάνει σε κρίσιμο σημείο και τελικά υπάρχει ελάττωση της σκληρότητας της πηκτής της τζελάνης.

2.2 Μικροσκοπικές παρατηρήσεις πηκτών κατάψυξης

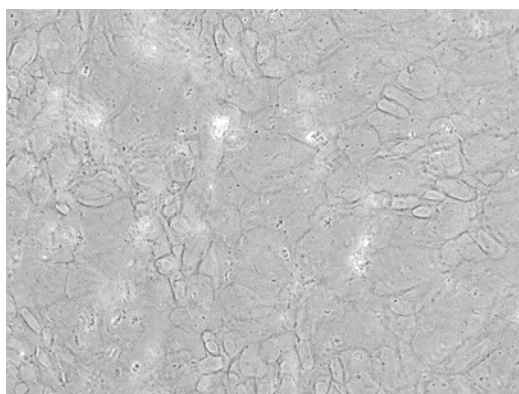


Εικόνα 11: Πηκτή με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,00% w/w εκχύλισμα *C. Ternatea*

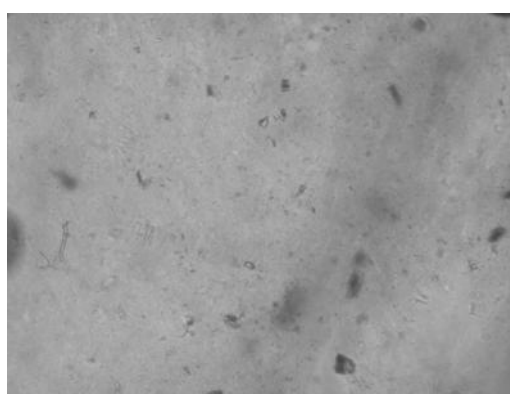


Εικόνα 12: Πηκτή με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,10% w/w εκχύλισμα *C. Ternatea*

Στην εικόνα 11, παρουσιάζεται η μικροδομή της πηκτής με συγκέντρωση 0,00% w/w *C. Ternatea* εκχυλίσματος (control), μετά από αποθήκευση στην κατάψυξη (-20°C). Στην πηκτή παρατηρείται διατάραξη της δομής, σε σύγκριση με τη μικροδομή του control, έπειτα από αποθήκευση στη συντήρηση. Επίσης στην εικόνα 12, παρουσιάζεται η μικροδομή της πηκτής με συγκέντρωση 0,10% w/w *C. Ternatea* εκχυλίσματος, μετά από αποθήκευση στην κατάψυξη (-20°C). Παρατηρούνται αλλαγές στη μικροδομή, λόγω ψύξης.

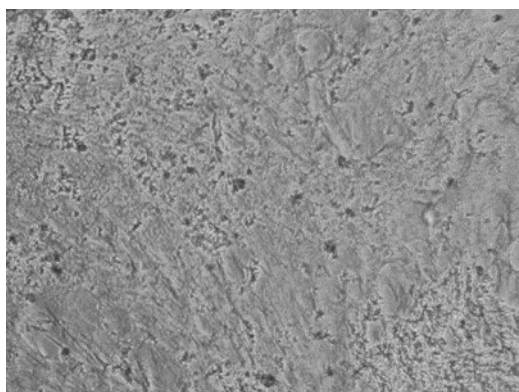


Εικόνα 13: Πηκτή με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,25% w/w εκχύλισμα *C. Ternatea*

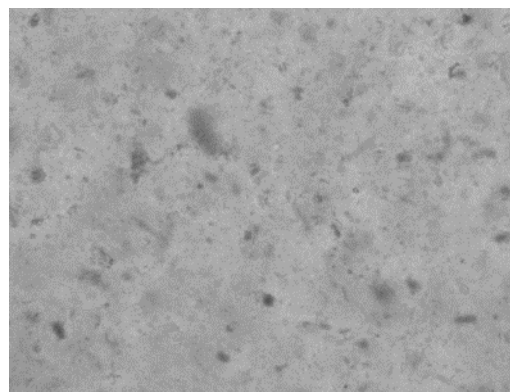


Εικόνα 14: Πηκτή με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,50% w/w εκχύλισμα *C. Ternatea*

Στην εικόνα 13, παρουσιάζεται η μικροδομή της πηκτής με συγκέντρωση 0,25% w/w *C. Ternatea* εκχυλίσματος, μετά από αποθήκευση στην κατάψυξη (-20°C). Εμφανίζεται μία διαφορετική εικόνα μικροδομής που δημιουργείται λόγω της κατάψυξης και της ψύξης. Επίσης στην εικόνα 14, παρουσιάζεται η μικροδομή της πηκτής με συγκέντρωση 0,50% w/w *C. Ternatea* εκχύλισμα, μετά από αποθήκευση στην κατάψυξη (-20°C).



Εικόνα 15: Πηκτή με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,75% w/w εκχύλισμα *C. Ternatea*



Εικόνα 16: Πηκτή με 2,00% w/w Τζελάνη και 1,00% w/w εκχύλισμα *C. Ternatea*

Στην εικόνα 15, παρουσιάζεται η μικροδομή της πηκτής με συγκέντρωση 0,75% w/w *C. Ternatea* εκχύλισμα, μετά από αποθήκευση στην κατάψυξη (-20°C). Παρατηρείται ετερογένεια που ίσως οφείλεται σε διαχωρισμό φάσεων στη μικροδομή λόγω των αλληλεπιδράσεων των μακρομορίων της Τζελάνης με τα συστατικά του εκχυλίσματος του *C. Ternatea*. Επίσης, στην εικόνα 16, παρουσιάζεται η μικροδομή της πηκτής με συγκέντρωση 1,00% w/w *C. Ternatea* εκχυλίσματος, μετά από αποθήκευση στην

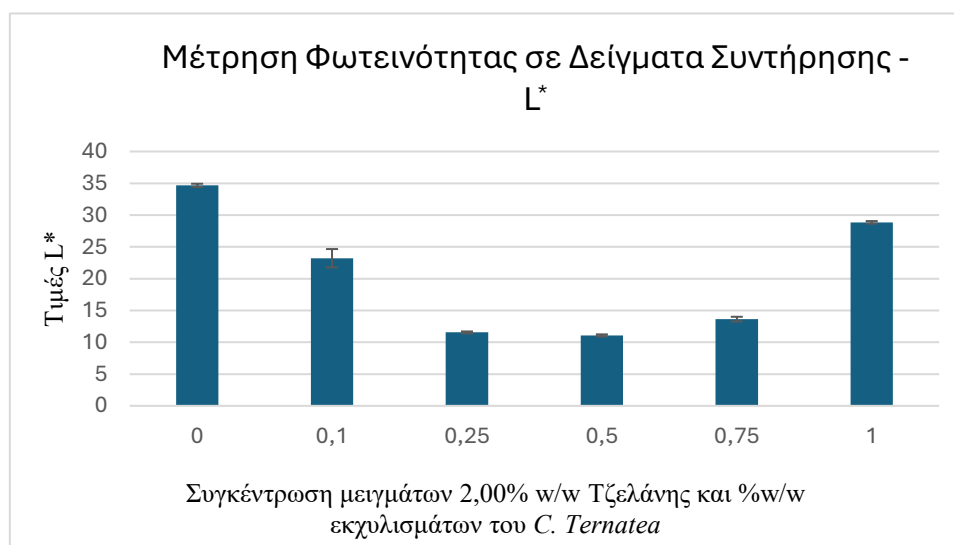
κατάψυξη (-20°C). Η πηκτή με 1,00% w/w εκχύλισμα του *C. Ternatea* μετά από κατάψυξη εμφανίζει σχηματισμό πόρων και το δίκτυο της πηκτής διαμορφώνεται με διαφορετικό τρόπο.

Κατά την ψύξη ($\sim 20^{\circ}\text{C}$), οι σπείρες υιοθετούν διπλή ελικοειδή διαμόρφωση μέσω δεσμών υδρογόνου και δυνάμεων van der Waals (Garcia et al., 2011)¹⁶. Οι διπλές έλικες σχηματίζουν ζώνες σύνδεσης, οι οποίες στη συνέχεια οδηγούν στο σχηματισμό ισχυρών δικτύων πηκτωμάτων. Όταν εφαρμόζεται επεξεργασία με υπερήχους, σχηματίζονται μοριακές αλυσίδες τζελάνης με διαφορετικά μεγέθη και αυξάνονται τα ελεύθερα σάκχαρα. Κατά την ψύξη ($\sim 20^{\circ}\text{C}$), οι αλυσίδες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με βάση τον αριθμό θέσεων πρόσδεσης και τελικά οδηγούν στο σχηματισμό ενός πιο ισχυρού δικτύου πηκτής (Goh et al., 2015)¹¹. Αυτές οι πηκτές, κατά της απόψυξή τους, χάνουν σημαντική ποσότητα νερό. Αυτό υποδηλώνει ότι ο σχηματισμός πάγου κατά την κατάψυξη, επηρεάζει σημαντικά τη μικροδομή των πηκτωμάτων τζελάνης (Mao et al., 1701)¹⁷.

3. Παρατηρήσεις Χρώματος

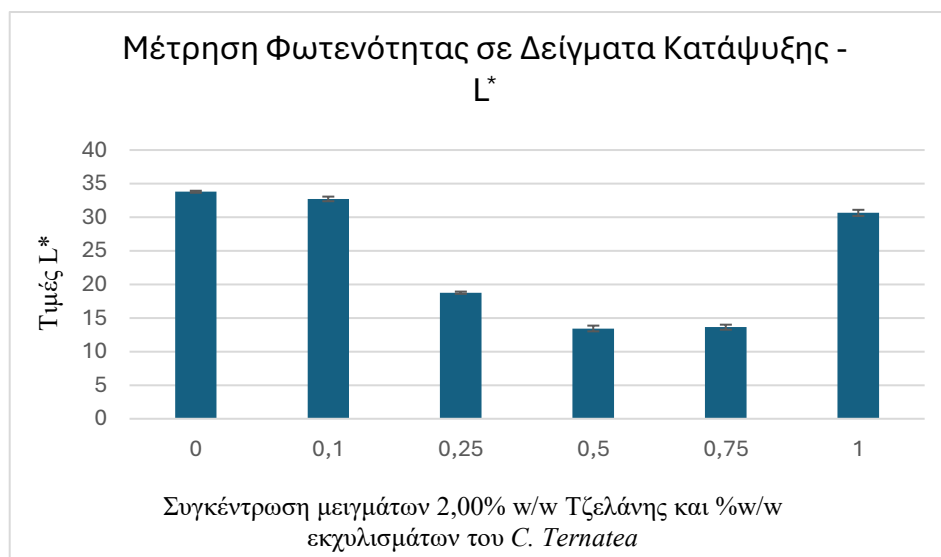
3.1 Φωτεινότητα - L^*

Στο παρακάτω διάγραμμα φαίνονται οι μετρήσεις φωτεινότητας L^* των μειγμάτων τζελάνης και *C. Ternatea* εκχυλίσματος, που αποθηκεύτηκαν στους 5°C .



Διάγραμμα 3: Μέτρηση φωτεινότητας - L^* , σε πηκτές συντήρησης με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,00%, 0,10%, 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1,00%, w/w συγκέντρωση εκχυλίσματος *C. Ternatea*

Η τιμή L^* εμφανίζεται υψηλή στο control (0,00% w/w) και αντιπροσωπεύει μία σχετικά φωτεινή πηκτή. Με την αύξηση της συγκέντρωσης του *C. Ternatea* εκχυλίσματος, η φωτεινότητα μειώνεται απότομα. Στις πηκτές που περιέχουν εκχύλισμα του *C. Ternatea* σε συγκέντρωση 0,25%w/w, 0,50%w/w και 0,75% w/w, παρατηρείται η ελάχιστη φωτεινότητα. Η μέγιστη φωτεινότητα στα μείγματα παρατηρείται στις πηκτές που περιέχουν 0,10 % και 1,00% w/w *C. Ternatea* εκχύλισμα.



Διάγραμμα 4: Μέτρηση φωτεινότητας – L^* , σε πηκτές κατάψυξης με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,00%, 0,10%, 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1,00%, w/w συγκέντρωση εκχυλίσματος *C. Ternatea*

Σε σύγκριση με τις πηκτές συντήρησης, οι τιμές L^* είναι γενικά υψηλότερες.

Η τιμή L^* εμφανίζεται αυξημένη σε συγκέντρωση 0,00% w/w και μειώνεται με την αύξηση του εκχυλίσματος *C. Ternatea*. Παρατηρείται παρόμοια τάση με τα δείγματα συντήρησης, αλλά σε υψηλότερες τιμές, γεγονός που δείχνει ότι η κατάψυξη επιβραδύνει τη μείωση της φωτεινότητας που προκαλείται από την προσθήκη εκχυλίσματος του *C. Ternatea*.

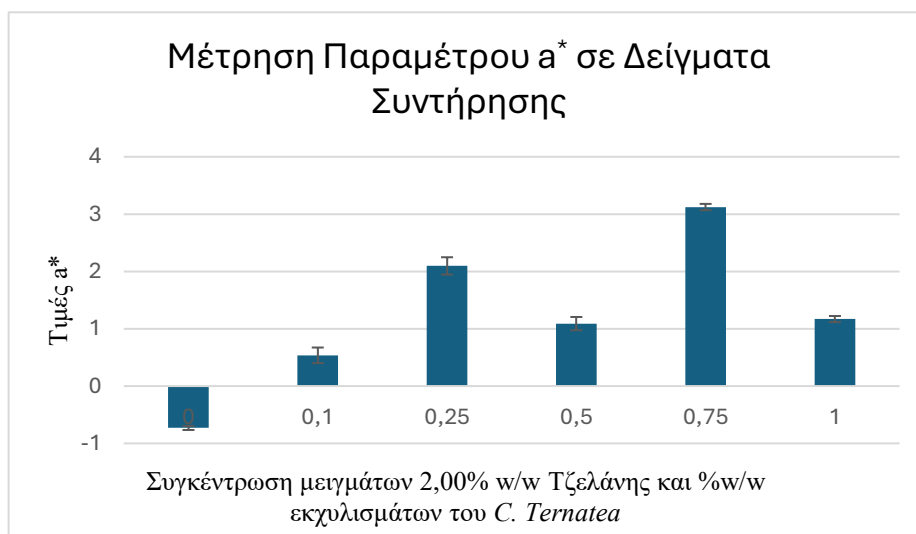
Συνολικά, η φωτεινότητα (L^*) των δειγμάτων παρουσίασε μείωση με την αύξηση της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος *C. Ternatea*, η οποία ήταν πιο έντονη στα δείγματα συντήρησης. Πιο συγκεκριμένα στη συντήρηση, στους 5°C, η τιμή L^* μειώθηκε σταδιακά με την αύξηση της συγκέντρωσης (% w/w) *C. Ternatea* εκχυλίσματος, μέχρι και στη συγκέντρωση 0,75% w/w υποδηλώνοντας αύξηση της λιγότερο φωτεινής απόχρωσης. Όταν η συγκέντρωση του *C. Ternatea* εκχυλίσματος είναι 1,00% w/w στα πηγμάτα, η φωτεινότητα αυξάνεται. Όταν τα δείγματα αποθηκευτούν στην κατάψυξη (-20°C) για μία μέρα και στη συνέχεια στους 5°C, οι τιμές L^* εμφανίζονται υψηλότερες συγκριτικά με τη συντήρηση, υποδεικνύοντας αύξηση φωτεινότητας.

Ίσως οι ανθοκυανίνες του *C. Ternatea* εκχυλίσματος επηρεάζουν την φωτεινότητα στις πηκτές των μειγμάτων τζελάνης *C. Ternatea* εκχυλίσματος. Επίσης, τα δείγματα που έχουν αποθηκευτεί στην κατάψυξη εμφάνισαν φαινόμενα συναίρεσης και η επιφάνεια τους ήταν πιο υγρή γεγονός που ίσως συνετέλεσε στην μεγαλύτερη αντανάκλαση του φωτός και επομένως στις υψηλότερες τιμές L^* .

3.2 Μέτρηση της παραμέτρου a^*

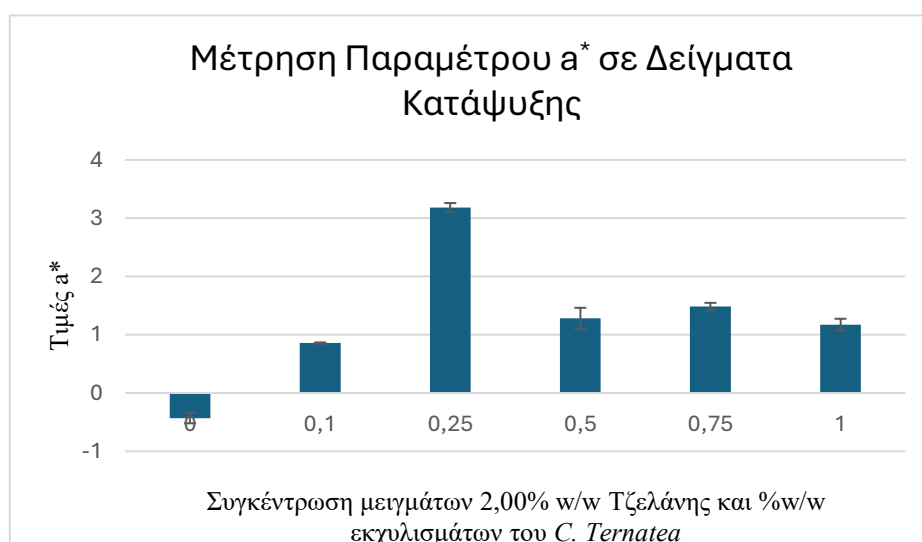
Με την προσθήκη του *C. Ternatea* εκχυλίσματος, τα μείγματα με την Τζελάνη εμφανίζουν θετικές τιμές της παραμέτρου a^* όταν αυτά συντηρούνται στους 5°C. Δεν

παρατηρείται γραμμική αύξηση της παραμέτρου a^* με την αύξηση της συγκέντρωσης *C. Ternatea* εκχυλίσματος.



Διάγραμμα 5: Μέτρηση παραμέτρου a^* , σε πηκτές συντήρησης με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,00%, 0,10%, 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1,00%, w/w συγκέντρωση εκχυλισμάτων *C. Ternatea*

Με την προσθήκη του *C. Ternatea* εκχυλίσματος, τα μείγματα με την Τζελάνη εμφανίζουν θετικές τιμές της παραμέτρου a^* όταν αυτά συντηρούνται στους 5°C. Δεν παρατηρείται γραμμική αύξηση της παραμέτρου a^* με την αύξηση της συγκέντρωσης. Η μέγιστη τιμή παρατηρείται στο 0,75% w/w *C. Ternatea* εκχύλισμα. Στο 1,00% w/w υπάρχει πτώση, υποδηλώνοντας ότι αυτή η συγκέντρωση του *C. Ternatea* εκχυλίσματος, σε συνδυασμό με τους υπερήχους επηρεάζουν διαφορετικά την χρωματική αυτή παράμετρο ίσως και λόγω διαφορετικής μορφής σχηματιζόμενου δικτύου τζελάνης.

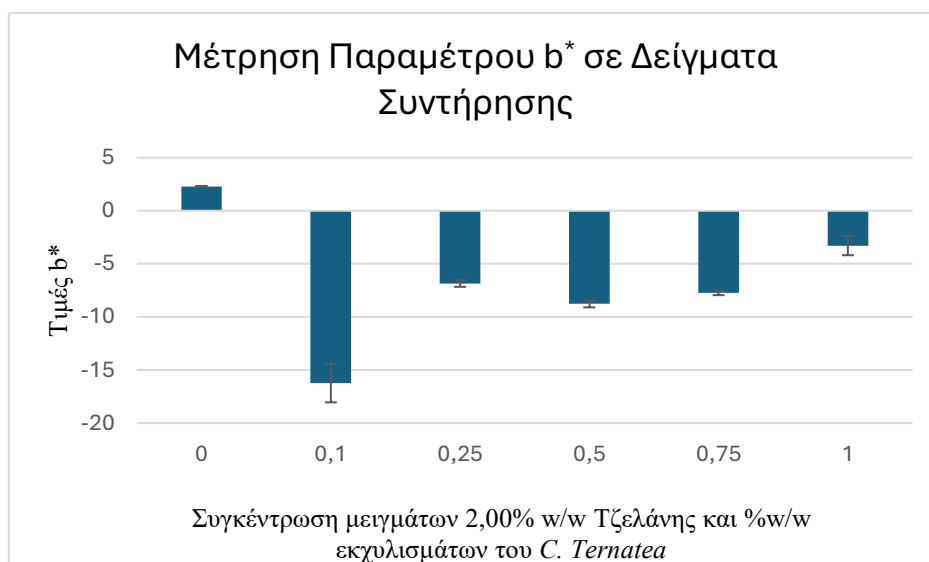


Διάγραμμα 6: Μέτρηση παραμέτρου a^* , σε πηκτές κατάψυξης με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,00%, 0,10%, 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1,00%, w/w συγκέντρωση εκχυλισμάτων *C. Ternatea*.

Η a^* τιμή του control (0,00% w/w), είναι και εδώ, όπως και μετά από αποθήκευση στη συντήρηση, η πιο χαμηλή και αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του *C.*

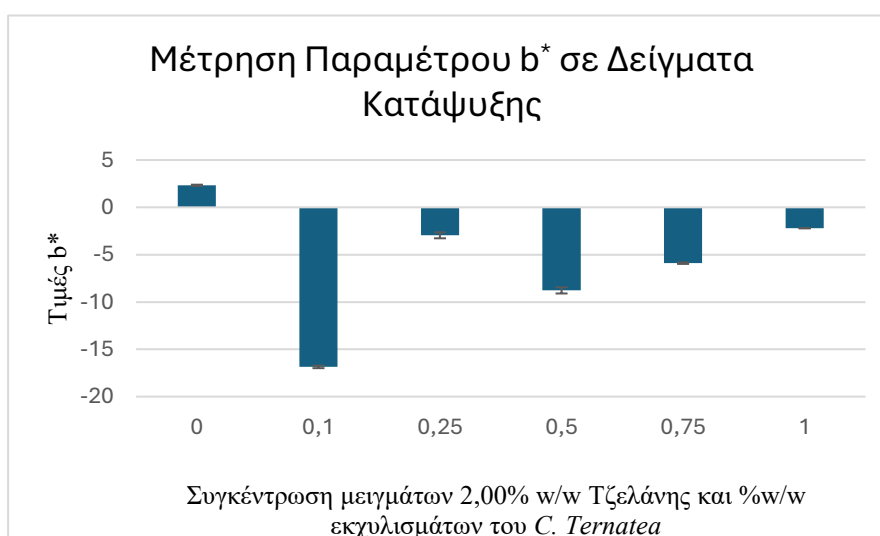
Ternatea εκχυλίσματος. Σε αυτόν τον τρόπο αποθήκευσης η μέγιστη τιμή της παραμέτρου a^* βρέθηκε στο μείγμα τζελάνης με 0,25% w/w. Οι Tiwari et al. (2009)¹⁹, ανέφεραν σε μετρήσεις που κάνανε σε χυμούς πλούσιους σε ανθοκυανίνες πως με την κατάψυξη χ πέραν της φωτεινότητας (L^*) των δειγμάτων, επηρεάζεται και η παράμετρος του χρώματος a^{*20} . Αυτό είναι σε συμφωνία με τα δικά μας αποτελέσματα.

3.3 Μέτρηση της παραμέτρου b^*



Διάγραμμα 7: Μέτρηση παραμέτρου b^* , σε πηκτές συντήρησης με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,00%, 0,10%, 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1,00%, w/w συγκέντρωση εκχυλισμάτων *C. Ternatea*.

Στα δείγματα συντήρησης παρατηρείται σταδιακή μετάβαση σε αρνητικές τιμές, γεγονός που υποδηλώνει ότι το εκχύλισμα συμβάλλει σε έντονη μπλε απόχρωση. Όμως και εδώ δεν παρατηρείται γραμμική μεταβολή της παραμέτρου b^* με την αύξηση της συγκέντρωσης εκχυλίσματος *C. Ternatea*. Η μεγαλύτερη τιμή παρατηρείται στη συγκέντρωση 0,10% w/w και οι μικρότερες στις συγκεντρώσεις 0,25% w/w και 1,00% w/w εκχυλίσματος *C. Ternatea*.



Διάγραμμα 8: Μέτρηση παραμέτρου b^* , σε πηκτές κατάψυξης με 2,00% w/w Τζελάνη και 0,00%, 0,10%, 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1,00%, w/w συγκέντρωση εκχυλισμάτων *C. Ternatea*.

Στα δείγματα κατάψυξης παρατηρείται το ίδιο μοτίβο μεταβολών της παραμέτρου b^* όπως όταν αυτά συντηρήθηκαν στους 5°C. Και εδώ δεν παρατηρείται γραμμική μεταβολή της παραμέτρου b^* με την αύξηση της συγκέντρωσης εκχυλίσματος *C. Ternatea*. Η μεγαλύτερη τιμή παρατηρείται στη συγκέντρωση 0,10% w/w και οι μικρότερες στις συγκεντρώσεις 0,25% w/w και 1,00% w/w *C. Ternatea* εκχύλισμα. Ενώ οι ανθοκυανίνες του *C. Ternatea* χαρακτηρίζονται από έντονη μπλε απόχρωση, η οποία θα έπρεπε να ενισχύεται με την αύξηση της συγκέντρωσης εκχυλίσματος του *C. Ternatea*, η επίδραση υπερήχων που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των δειγμάτων μπορεί να ευθύνεται για το ίδιο μοτίβο μεταβολών της χρωματικής παραμέτρου b^* στις δύο διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης.

Βιβλιογραφία

1. Mohammed, A. S. A., Naveed, M., & Jost, N. (2021). Polysaccharides; Classification, Chemical Properties, and Future Perspective Applications in fields of Pharmacology and Biological Medicine (A review of current applications and upcoming potentialities). *Journal of Polymers and the Environment*, 29(8), 2359–2371.
2. Multisona, R. R., Shirodkar, S., Arnold, M., & Gramza-Michalowska, A. (2023). Clitoria ternatea Flower and Its Bioactive Compounds: Potential Use as Microencapsulated Ingredient for Functional Foods. *Applied Sciences*, 13(4), 2134.
3. Harvey, L. M. and Mc Neil , B. 1998. Thickeners of Microbial Origin. In: Microbiology offennented foods. 2nd ed. Vol. I , pp . 150-171. Wood, B.J .B.Blackie Academic & Professional. London .
4. Giavasis, I., Harvey, L. M., & McNeil, B. (2000). Gellan Gum. *Critical Reviews in Biotechnology*, 20(3), 177–211.
5. Yuguchi, Y ., Mimura, M ., Kitamura, S., Urakawa, H.,and Kajiwara, K. 1993. Structural characteristics of gellan in aqueous solutions. *Food Hydrocoll.*,7: 373-385.211.
6. Prajapati, V. D., Jani, G. K., Zala, B. S., & Khutliwala, T. A. (2013). An insight into the emerging exopolysaccharide gellan gum as a novel polymer. *Carbohydrate Polymers*, 93(2), 670–678.
7. Adisakwattana, S., Pasukamonset, P., & Chusak, C. (2020). Clitoria ternatea beverages and antioxidant usage. In *Elsevier eBooks* (pp. 189–196).
8. Hasanah, N. N., Azman, E. M. M., Rozzamri, A., Abedin, N. H. Z. Z., & Ismail-Fitry, M. R. (2023). A Systematic Review of Butterfly Pea Flower (Clitoria ternatea L.): Extraction and Application as a Food Freshness pH-Indicator for Polymer-Based Intelligent Packaging. *Polymers*, 15(11), 2541.
9. Bujak, T., Zagórska-Dziok, M., Ziemlewska, A., Nizioł-Łukaszewska, Z., Wasilewski, T., & Hordyjewicz-Baran, Z. (2021). Antioxidant and Cytoprotective Properties of Plant Extract from Dry Flowers as Functional Dyes for Cosmetic Products. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 26(9), 2809.
10. Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Tixier, A. S., Vian, M. A. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products.

Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. *A review*. Food Chemistry, 300, 244-255.

11. Goh, K. K. T., Yuliarti, O., Yeo, G. T. T., & Or, C. C. (2015). Effect of ultrasonication on low-acetylated gellan gum gel properties. *Food Hydrocolloids*, 49, 240–247.
12. Chavan, P., Sharma, P., Sharma, S. R., Mittal, T. I.C., & Jaiswal, A. K. (2022). Application of High-Intensity Ultrasound to Improve food Processing efficiency: A review. *Foods*, 11(1), 122.
13. Lau, M., Tang, J., & Paulson, A. (2000). Texture profile and turbidity of gellan/gelatin mixed gels. *Food Research International*, 33(8), 665–671.
14. Cassanelli, M., Norton, I., & Mills, T. (2018). Interaction of Mannitol and Sucrose with Gellan Gum in Freeze-Dried Gel Systems. *Food Biophysics*, 13(3), 304–315.
15. Fernandes, A., Brás, N. F., Mateus, N., & De Freitas, V. (2014). Understanding the molecular mechanism of anthocyanin binding to pectin. *Langmuir*, 30(28), 8516–8527.
16. Garcia, M. C., Alfaro, M. C., Calero, N., & Munoz, J. (2011). Influence of gellan gum concentration on the dynamic viscoelasticity and transient flow of fluid gels. *Biochemical Engineering Journal*, 55(2), 73e81.
17. Mao, R., Tang, J., & Swanson, B. (2001). Water holding capacity and microstructure of gellan gels. *Carbohydrate Polymers*, 46(4), 365–371.
18. Floros, J. D., & Liang, H. (1994). Acoustically assisted diffusion through membranes and biomaterials. *Food Technology (USA)*.
19. Tiwari, B., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P., & O'Donnell, C. (2009). Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17(3), 598–604.
20. Romero, I., Sanchez-Ballesta, M. T., Escribano, M. I., & Merodio, C. (2008). Individual anthocyanins and their contribution to total antioxidant capacity in response to low temperature and high CO₂ in stored Cardinal table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 49(1), 1–9.