

A Δ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Της φοιτήτριας :

ΚΑΡΑΝΤΑΝΑ ΣΤΕΛΛΑΣ

**Μελέτη της κρυστάλλωσης της ιουλίνης
κατά το σχηματισμό πηκτής – Εφαρμογές στη
βιομηχανία τροφίμων**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ
ΕΠΙΤΡΟΠΗ :**

**Dr. Γιαννούλη Περσεφόνη
Dr. Κομιώτης Δημήτριος
Dr. Κοντού Μαρία**

ΛΑΡΙΣΑ, 2004



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 4062/1

Ημερ. Εισ.: 04-11-2004

Δωρεά:

Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ - ΒΒ

2004

ΚΑΡ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000075128

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

499
8-10-04

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1. Υδατάνθρακες	1
1.2. Κατηγορίες υδατανθράκων	1
1.3. Φρουκτάνες	2
1.4. Σύνθεση των φρουκτανών στη φύση	3
1.5. Πηγές και βιομηχανική παρασκευή φρουκτανών	4
1.6. Ινουλίνη και υγεία	6
1.6.1. Επίδραση της ινουλίνης στη δυσκοιλιότητα	7
1.6.2. Επίδραση της ινουλίνης στην απορρόφηση των ανόργανων ουσιών από τον οργανισμό	7
1.6.3. Επίδραση της ινουλίνης σε γλυκαιμία/ινσουλιναμία	8
1.6.4. Επίδραση της ινουλίνης στη χοληστεριναμία	8
1.6.5. Επίδραση της ινουλίνης στον καρκίνο	9
1.6.5.A. Επίδραση της ινουλίνης στο καρκίνωμα του κόλου του εντέρου	9
1.6.5.B. Επίδραση της ινουλίνης στον καρκίνο του μαστού	9
1.7. Ινουλίνη και τρόφιμα	10
1.7.1. Η ινουλίνη ως γλυκαντική ύλη	11
1.7.2. Ινουλίνη και ψωμί	12
1.7.3. Ινουλίνη και γιαούρτι	13
1.7.4. Ινουλίνη και λουκάνικα	14
1.8. <u>Ισχύουσες νομοθεσίες</u>	15
1.9. Σκοπός	16
2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	17
2.1. Τρόποι προσέγγισης του σκοπού	17
2.2. Όργανα που χρησιμοποιήσαμε	17

2.2.1. Φασματοφωτόμετρο	17
2.2.1.1. Οργανολογία του φασματοφωτομέτρου	18
2.2.2. Οπτικό μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου	19
2.2.3. Φυγόκεντρος	21
2.2.4. Θερμαινόμενος αναδευτήρας	21
2.2.5. Θερμοαισθητήρας	21
2.3. Υλικά που χρησιμοποιήσαμε	22
2.3.1. Ινουλίνη	22
2.3.2. Γλυκόζη	22
2.3.3. Κρυσταλλική ζάχαρη	22
2.3.4. Φρουκτόζη	22
2.4. Μεθοδολογία	23
2.4.1. Παρασκευή δειγμάτων	23
2.4.2. Πειράματα	24
2.4.2.A. Μελέτη της συμπεριφοράς διαλυμάτων ινουλίνης διαφορετικών συγκεντρώσεων ως προς τη θερμοκρασία	24
2.4.2.A.1. Επίδραση της συγκέντρωσης ινουλίνης και της θερμοκρασίας στο σχηματισμό πηκτής	24
2.4.2.B. Επίδραση των διαφορετικών όγκων ινουλίνης ίδιας συγκέντρωσης στην κρυστάλλωση της ινουλίνης	25
2.4.2.Γ. Επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης (περιβάλλοντος, ψύξης και κατάψυξης) στην κρυστάλλωση της ινουλίνης	26
2.4.2.Γ.1. Μελέτη των πηκτών ινουλίνης	26
2.4.2.Δ. Μελέτη της επίδρασης συνδιαλυτών στην κρυστάλλωση της ινουλίνης	27
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	28
3.1. Σχηματισμός των πηκτών ινουλίνης – Κρυστάλλωση	28

3.2.A. Μελέτη της συμπεριφοράς διαλυμάτων ινουλίνης διαφορετικών συγκεντρώσεων ως προς τη θερμοκρασία	30
3.2.A.1. Επίδραση της συγκέντρωσης ινουλίνης και της θερμοκρασίας στο σχηματισμό πηκτής	30
3.2.B. Μελέτη της συμπεριφοράς διαφορετικών όγκων διαλυμάτων ινουλίνης ίδιας συγκέντρωσης ως προς το χρόνο	33
3.2.B.1. Επίδραση των διαφορετικών όγκων διαλυμάτων ινουλίνης ίδιας συγκέντρωσης στο σχηματισμό πηκτής	33
3.2.B.2. Επίδραση των γυάλινων χαντρών στην κρυστάλλωση της ινουλίνης	36
3.2.B.3. Επίδραση της διαμέτρου του πλαστικού σωλήνα στην κρυστάλλωση της ινουλίνης	38
3.2.Γ. Επίδραση των υλικών συσκευασίας ή υλικών συσκευών επεξεργασίας στην κρυστάλλωση της ινουλίνης	39
3.2.Γ.1. Επίδραση του υλικού του δοκιμαστικού σωλήνα στην κρυστάλλωση της ινουλίνης	39
3.2.Δ. Επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης (περιβάλλοντος, ψύξης και κατάψυξης) στην κρυστάλλωση της ινουλίνης	41
3.2.Δ.1. Επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης (περιβάλλοντος, ψύξης και κατάψυξης) στο σχηματισμό των πηκτών ινουλίνης	41
3.2.Δ.2. Παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο	45
3.2.E. Επίδραση συνδιαλυτών στην κρυστάλλωση της ινουλίνης	48
4. ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	55
5. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΩΝ ΣΤΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ	57
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	59

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Υδατάνθρακες

Η ινουλίνη ανήκει στην κατηγορία των υδατανθράκων. Οι υδατάνθρακες είναι αλδεϋδικές ή κετονικές ενώσεις με πολλαπλές υδροξυλικές ομάδες. Αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό της οργανικής ύλης πάνω στη γη λόγω των πολλαπλών ρόλων τους σε κάθε μορφή ζωής. Οι υδατάνθρακες χρησιμεύουν ως *αποθήκες ενέργειας, καύσιμα και μεταβολικά ενδιάμεσα*. Το άμυλο στα φυτά και το γλυκογόνο στα ζώα είναι πολυσακχαρίτες που κινητοποιούνται γρήγορα για να δώσουν γλυκόζη, ένα καύσιμο πρώτης γραμμής για την παραγωγή ενέργειας. Άλλα σάκχαρα όπως είναι η ριβόζη και η δεοξυριβόζη αποτελούν μέρος της *δομής των DNA και RNA*. Η ευελιξία της στερεοδιάταξης αυτών των σακχαρικών δακτυλίων είναι σημαντική για την έκφραση των γενετικών πληροφοριών.

Οι πολυσακχαρίτες αποτελούν *δομικά στοιχεία στα κυτταρικά τοιχώματα βακτηρίων και φυτών και στον εξωτερικό σκελετό των αρθρόποδων*. Η κυτταρίνη, το κύριο συστατικό των φυτικών κυτταρικών τοιχωμάτων, είναι η πιο άφθονη οργανική ένωση στη βιόσφαιρα. Στη φύση, οι *υδατάνθρακες είναι ενωμένοι με πολλά λιπίδια και πρωτεΐνες*. Πρόσφατες μελέτες προτείνουν ότι οι μονάδες των υδατανθράκων στις κυτταρικές επιφάνειες είναι ενώσεις – κλειδιά στη διαδικασία αναγνώρισης κυττάρου από κύτταρο κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης (L. Stryer, 1997).

1.2. Κατηγορίες υδατανθράκων

Οι υδατάνθρακες διακρίνονται στις εξής κατηγορίες:

A. *Μονοσακχαρίτες* ή απλά σάκχαρα που είναι πολυυδροξυαλδεϋδες ή κετόνες (όπως η ξυλουλόζη, η ριβουλόζη, η ριβόζη, η σεδοεπτουλόζη, η γλυκόζη, η γαλακτόζη, η μαννόζη, η φρουκτόζη).

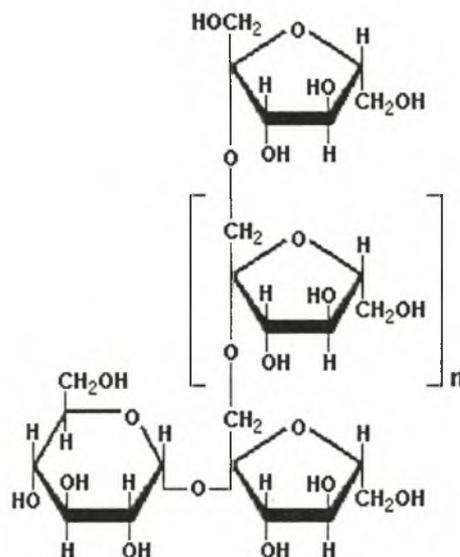
Β. *Ολιγοσακχαρίτες* που το μόριό τους αποτελείται από δύο μέχρι δέκα μονάδες μονοσακχαριτών. Ανάλογα με τον αριθμό αυτό διακρίνονται σε διάφορες κατηγορίες όπως δισακχαρίτες (σακχαρόζη, μαλτόζη, λακτόζη), τρισακχαρίτες (ραφινόζη) και άλλους.

Γ. *Πολυσακχαρίτες* που έχουν στο μόριό τους πάνω από δέκα μονάδες μονοσακχαριτών ενωμένες μεταξύ τους με γλυκοζιτικούς δεσμούς. Υποδιαιρούνται σε ομοπολυσακχαρίτες (όπως άμυλο, κυτταρίνη, γλυκογόνο), όταν μετά από υδρόλυση αποδίδουν μόνο ένα μονοσακχαρίτη, και σε ετεροπολυσακχαρίτες (φυτικά κόμμεα, πηκτίνες), όταν μετά από υδρόλυση αποδίδουν περισσότερους από ένα είδος μονοσακχαρίτες (συνήθως δύο ή τρεις) (P. Harris, 1990; E. Dickinson, 1991).

1.3. Φρουκτάνες

Η ιουλίνη ανήκει σε μια κατηγορία πολυσακχαριτών γνωστών ως φρουκτάνες. Περίπου 15% των φυτών που ανθίζουν αποθηκεύουν τις φρουκτάνες σε τουλάχιστον ένα από τα όργανά τους κατά τη διάρκεια του κύκλου ζωής τους. Φρουκτάνη, είναι γενικά ένας όρος που χρησιμοποιείται για κάθε υδατάνθρακα στον οποίο οι δεσμοί φρουκτοζυλιο-φρουκτόζης αποτελούν την πλειοψηφία των γλυκοσιδικών δεσμών. Από χημική άποψη, οι φρουκτάνες είναι γραμμικά ή διακλαδισμένα πολυμερή φρουκτόζης, τα οποία είναι είτε β (2 \rightarrow 1) συνδεδεμένες ιουλίνες ή β (2 \rightarrow 6) συνδεδεμένες λεβάνες. Τα δικοτυλήδονα είδη αποθηκεύουν φρουκτάνες τύπου ιουλίνης που αποτελούνται από γραμμικές β (2 \rightarrow 1) μονάδες φρουκτοφουρανίου. Πιο περίπλοκοι και διακλαδισμένοι τύποι φρουκτανών είναι συνηθισμένοι στα μονοκοτυλήδονα (N. Kaur et al., 2002). Δηλαδή, η ιουλίνη αποτελείται από γραμμικές αλυσίδες β -D-καταλοίπων φρουκτοφουρανόζης τα οποία συνδέονται με (2 \rightarrow 1) δεσμό και καταλήγουν σε α (1 \rightarrow 2) δεσμό α -D-

γλυκοπυρανόζης (ο ίδιος δεσμός όπως στη σακχαρόζη) (Εικόνα 1.1.) (P. Giannouli et al., 2004).



Εικόνα 1.1. : Χημικός τύπος της ιουλίνης.

1.4. Σύνθεση των φρουκτανών στη φύση

Επειδή οι φρουκτάνες συνθέτονται από σακχαρόζη, με επαναλαμβανόμενες μεταφορές φρουκτοζυλίων από ένα δότη φρουκτοζυλίου, και οι ιουλίνες συνήθως, έχουν μια τελική μονάδα γλυκόζης. Το ένζυμο που γενικά θεωρείται πως εμπλέκεται στη σύνθεση φρουκτάνης στα φυτά είναι η σακχαρόζη-σακχαρόζη φρουκτοζύλιο τρανσφεράση, το οποίο καταλύει τη μεταφορά ενός μορίου φρουκτόζης από ένα μόριο σακχαρόζης στο άλλο, οδηγώντας στο σχηματισμό κεστόζης. Η επιμήκυνση της αλυσίδας επιτυγχάνεται με 1^F - φρουκτάνη - φρουκτάνη - φρουκτοζύλιο τρανσφεράση που οδηγεί σε ιουλίνη.

Οι βακτηριακές φρουκτάνες σχηματίζονται με επαναλαμβανόμενη μεταφορά φρουκτόζης από ένα δότη φρουκτοζυλίου στις αυξανόμενες αλυσίδες λεβάνης με το ένζυμο σακχαράση λεβάνης (σακχαρόζη 6^F φρουκτοζύλιο τρανσφεράση). Έχουν έναν πολύ υψηλότερο βαθμό πολυμερισμού (DP μέχρι 100.000) από τις φυτικές ινουλίνες (μέχρι 150) (N. Kaur et al., 2002). Όμως, η ινουλίνη παρασκευάζεται με χημικό ή ενζυμικό τρόπο και στο εργαστήριο.

1.5. Πηγές και βιομηχανική παρασκευή φρουκτανών

Φυτικά είδη που περιέχουν φρουκτάνες βρίσκονται σε έναν αριθμό μονο- και δικοτυλήδων οικογενειών όπως *Liliaceae*, *Amaryllidaceae*, *Gramineae* και *Compositae*. Τα μέρη διάφορων φυτικών ειδών που περιέχουν φρουκτάνες, όπως τα σπαράγγια, το σκόρδο, το κρεμμύδι, η αγκινάρα Ιερουσαλήμ, το ραδίκι, αποτελούν τρόφιμα του καθημερινού διατροφολογίου.

Για παρασκευή βιομηχανοποιημένων τροφίμων και για άλλες εφαρμογές χρησιμοποιείται ένας περιορισμένος αριθμός φυτικών ειδών, όπως τα *Liliaceae*, *Amaryllidaceae* και *Compositae*, στα οποία οι φρουκτάνες (κυρίως οι ινουλίνες) αποθηκεύονται συνήθως στους βολβούς, τους κόνδυλους και τις κονδυλώδεις ρίζες από τα οποία μπορούν εύκολα να εξαχθούν και να επεξεργαστούν σε καθαρά προϊόντα (N. Kaur et al., 2002; I. G. Carabin et al., 1999).

Η εμπορικά διαθέσιμη ινουλίνη που είναι σε μορφή άσπρης σκόνης ξηραίνεται κατά την εκνέφωση με θερμό ρεύμα αέρα (A. Bot et al., 2004). Η ινουλίνη επεξεργάζεται από τη βιομηχανία τροφίμων για την παραγωγή είτε φρουκτάνης μικρών αλυσίδων, δηλαδή ολιγοφρουκτόζης ως αποτέλεσμα μερικής ενζυμικής υδρόλυσης (με ενδοϊνουλάση), είτε φρουκτάνης μεγάλων αλυσίδων με την εφαρμογή φυσικών τεχνικών διαχωρισμού. Τα δύο είδη που χρησιμοποιούνται αυτή τη στιγμή από τη βιομηχανία για την παραγωγή ινουλίνης ανήκουν στα *Compositae*: η αγκινάρα Ιερουσαλήμ (*Helianthus tuberosus*) και το ραδίκι (*Cichorium intybus*), με

το ραδίκι να αποτελεί την πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη πηγή (N. Kaur et al.,2002; I. G. Carabin et al., 1999).

Καθώς η αγκινάρα Ιερουσαλήμ αποθηκεύει προσωρινά ποσότητες φρουκτανών στο μίσχο, ορισμένοι προτείνουν την καλλιέργεια της για την παρασκευή ινουλίνης. Και αυτό γιατί, η συγκομιδή του μίσχου μπορεί να γίνει στην αρχή της ανθοφορίας, τους μήνες Αύγουστο έως Σεπτέμβριο στη νότια Ευρώπη, σε αντίθεση με τη συγκομιδή των ώριμων κονδύλων που γίνεται το Δεκέμβριο (M. Baldini et al., 2004).

Στο ραδίκι, η ινουλίνη αποθηκεύεται ως αποθεματικός υδρογονάνθρακας στη σαρκώδη κεντρική ρίζα και αποτελεί περίπου 70-80% του βάρους της ρίζας χωρίς το νερό. Ένα ενδιαφέρον στοιχείο σχετικά με το ραδίκι είναι ότι ανάλογα με το στάδιο της ανάπτυξής του, μπορούμε να πάρουμε ινουλίνη. Η τελευταία σχηματίζεται μετά την εμφάνιση άξονα ταξιανθίας, δηλαδή αφού η ρίζα έχει αναπτυχθεί πλήρως, με υδρόλυση παρουσία ινουλινάσης. Η ινουλίνη μπορεί να υποστεί περαιτέρω υδρόλυση σε φρουκτόζη με εξοϊνουλινάση. Η χρήση ισχυρής εξοϊνουλινάσης μπορεί να αντικαταστήσει τα πολυενζυμικά βήματα παραγωγής φρουκτόζης από το άμυλο. Κατ' αυτό τον τρόπο οι ρίζες του ραδικιού αποτελούν μια συμπυκνωμένη πηγή ινουλίνης.

Η βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιεί και συνθετική φρουκτάνη η οποία αποτελείται από μόρια σακχαρόζης σε μονάδες φρουκτόζης στις οποίες 1, 2 ή 3 επιπλέον μονάδες φρουκτόζης έχουν προστεθεί με β (2 \rightarrow 1) γλυκοσιδικό δεσμό, χρησιμοποιώντας τη διαφρουκτοζυλιακή δραστηριότητα της β -φρουκτοσιδάσης, από το βακτήριο *Aspergillus niger*. Έχει επίσης αναφερθεί ότι φρουκτάνη τέτοιου είδους παράγεται και από το βακτήριο *Fusarium oxysporum* (N. Kaur et al.,2002; I. G. Carabin et al., 1999).

1.6. Ινουλίνη και υγεία

Σημαντικές επιδράσεις της ινουλίνης στην υγεία των καταναλωτών έχουν παρατηρηθεί λόγω της ιδιότητάς της ως προβιοτική ίνα. Προβιοτικό είναι ένα συστατικό μιας τροφής που επηρεάζει ευεργετικά διεγείροντας επιλεκτικά την ανάπτυξη και/ή τη δράση ενός ή περιορισμένου αριθμού βακτηρίων στο κόλον, που μπορούν να βελτιώσουν την υγεία του ξενιστή. Επιπλέον, ένα προβιοτικό μπορεί να καταστείλει την ανάπτυξη των παθογόνων βακτηρίων.

Εξαιτίας της β -διαμόρφωσης του ανωμερικού C₂ στα μονομερή φρουκτόζης, η ινουλίνη είναι ανθεκτική στην υδρόλυση από ανθρώπινα πεπτικά ένζυμα (α-γλυκοσιδάση, μαλτάση, ισομαλτάση, σακχαράση) τα οποία είναι συγκεκριμένα για α-γλυκοσιδικούς δεσμούς. Ανήκει, επομένως, στην κατηγορία των μη εύπεπτων ολιγοσακχαριτών, δηλαδή δεν απορροφάται από το λεπτό έντερο, με βάση *in vivo* και *in vitro* δεδομένα. Αφού η υδρόλυση της ινουλίνης στο στομάχι είναι περιορισμένης φυσιολογικής σημασίας, η ινουλίνη περνά αναφομοίωτη μέσω του πάνω μέρους της γαστροεντερικής οδού προς το κόλον όπου εκεί αξιοποιείται επιλεκτικά από τους γαλακτοβάκιλους (*bifidobacteria*).

Η κυριαρχία των *bifidobacteria* στο παχύ έντερο (10^{12} βακτήρια για κάθε g περιεχομένου του εντέρου) είναι σημαντική για την πρόληψη πολλών ασθενειών και για τη διατήρηση της καλής υγείας. Η αναεροβική ζύμωση της ινουλίνης από τα *bifidobacteria* έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των πληθυσμών των βακτηρίων αυτών τα οποία παράγουν καρβοξυλικά οξέα, γαλακτικό οξύ και αέρια σαν προϊόντα πέψης. Έως και 95% των οξέων που παράγονται στο κόλον απορροφώνται κυρίως στο ανερχόμενο μέρος του κόλου.

Από *in vivo* μελέτες σε ζώα έχει βγει το συμπέρασμα ότι η συμπλήρωση της διατροφής με φρουκτάνες τύπου ινουλίνης, μειώνει το pH και αυξάνει το σύνολο των καρβοξυλικών οξέων στο τυφλό έντερο, με το οξικό να είναι το κύριο οξύ ακολουθούμενο από το βουτυρικό και το προπιονικό. Πιθανόν, η αύξηση του συνόλου αυτών των οξέων να σχετίζεται με την επίδραση των φρουκτανών στον

εντερικό ιστό, που οδηγεί σε υπερπλασία του βλεννογόνου υμένα και αυξημένο πάχος του τοιχώματός του (στο λεπτό και στο τυφλό έντερο) με επακόλουθη αύξηση της ροής του αίματος.

Από *in vivo* μελέτες που έγιναν σε αρουραίους και σε ενήλικους ανθρώπους στην Ευρώπη, Ιαπωνία και βόρεια Αμερική έχει αποδειχτεί ότι η ευεργετική επίδραση της ινουλίνης, επίσης, μπορεί να οφείλεται στην ικανότητα των *bifidobacteria* να αλλάζουν τη μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου εμποδίζοντας τα επιβλαβή βακτήρια (βακτηριοειδή, ατρακτοβακτήρια και κλωστρίδια) μέσω του σχηματισμού βακτηριοκινών, του επιτυχούς ανταγωνισμού για υποστρώματα ή μέσω των προσφύσεων σε σημεία του εντερικού επιθηλίου και της διέγερσης του ανοσοποιητικού συστήματος (N. Kaur et al., 2002; M. Roberfroid, 2002; I. G. Carabin et al., 1999).

1.6.1. Επίδραση της ινουλίνης στη δυσκοιλιότητα

Πολλές μελέτες που έγιναν στον άνθρωπο αποδεικνύουν ότι η ζύμωση της ινουλίνης ανακουφίζει από τη δυσκοιλιότητα. Η κοιλιακή δυσφορία, κυρίως ο τυμπανισμός, αναφέρθηκε σπάνια. Επίσης, παρατηρήθηκε μια σημαντική αύξηση στη συχνότητα των κοπράνων (E. Den Hand, 2000; N. Kaur et al., 2002; M. Roberfroid, 2002; I. G. Carabin et al., 1999).

1.6.2. Επίδραση της ινουλίνης στην απορρόφηση των ανόργανων ουσιών από τον οργανισμό

Έχει αποδειχτεί ότι η ινουλίνη του ραδικιού, η οποία λειτουργεί σαν διαλυτή ίνα, αυξάνει την απορρόφηση ασβεστίου στον ιστό των οστών (N. Kaur et al., 2002; M. Roberfroid, 2002; I. G. Carabin et al., 1999), και κυρίως σε κορίτσια με χαμηλή απορρόφηση ασβεστίου (I. J. Griffina et al., 2003). Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα βελτιωμένη πυκνότητα των οστών σε ανόργανες ουσίες αποτρέποντας έτσι την

οστεοπόρωση. Η αυξημένη απορρόφηση ασβεστίου μπορεί να οφείλεται στην αυξημένη μεταφορά ασβεστίου από το λεπτό στο παχύ έντερο και στην ωσμωτική επίδραση της ινουλίνης που μεταφέρει νερό στο παχύ έντερο (N. Kaur et al.,2002; M. Roberfroid, 2002; I. G. Carabin et al., 1999).

1.6.3. Επίδραση της ινουλίνης σε γλυκαιμία/ινσουλιναίμια

Η ινουλίνη ρυθμίζει το ορμονικό επίπεδο της ινσουλίνης και γλυκαγόνης, ρυθμίζοντας με αυτό τον τρόπο τον μεταβολισμό των υδατανθράκων και λιπιδίων, μειώνοντας τα επίπεδα γλυκόζης του αίματος. Η προσθήκη 10% ινουλίνης στη διατροφή αρουραίων για 30 ημέρες, μείωσε τη γλυκαιμία μετά το γεύμα κατά 17% και την ινσουλιναίμια κατά 26%. Αυτό οφείλεται στη μειωμένη ηπατική γλυκονεογένεση λόγω της δράσης του προπιονικού οξέος (N. Kaur et al.,2002; M. Roberfroid, 2002; I. G. Carabin et al., 1999).

1.6.4. Επίδραση της ινουλίνης στη χοληστεριναίμια

Η επίδραση της ινουλίνης στη χοληστεριναίμια είναι αμφιλεγόμενη. Έχει δειχτεί ότι οι συνθετικές φρουκτάνες μειώνουν το σύνολο χοληστερόλης και LDL χοληστερόλης του ορού σε διαβητικούς ασθενείς μη εξαρτώμενους από ινσουλίνη, αλλά όχι σε υγιή άτομα. Το προπιονικό οξύ που μειώνει τη χοληστερόλη ορού όταν προστίθεται στη διατροφή αρουραίων, μπορεί να μειώσει τη σύνθεση χοληστερόλης εμποδίζοντας την υδροξυμεθυλογλουταρυλ-CoA ρεδοκτάση (N. Kaur et al.,2002; M. Roberfroid, 2002; I. G. Carabin et al., 1999).

1.6.5. Επίδραση της ινουλίνης στον καρκίνο

1.6.5.A. Επίδραση της ινουλίνης στο καρκίνωμα του κόλου του εντέρου

Ο καρκίνος του κόλου του εντέρου είναι μια από τις κύριες αιτίες νοσηρότητας και θνησιμότητας ανάμεσα σε άνδρες και γυναίκες. Η χορήγηση ινουλίνης στη διατροφή μείωσε σημαντικά το σχηματισμό και τον ολικό αριθμό των σημείων ανώμαλων κρυπτών (aberrant crypt foci, ACF) στο κόλον που είναι πρόδρομοι κακώσεων από τις οποίες αδενώματα και καρκινώματα μπορούν να αναπτυχθούν στο κόλον.

Τα *bifidobacteria longum*, όπως αναφέραμε, σχηματίζουν αποικίες σε βάρος εντεροπαθογόνων που μπορεί να ευθύνονται για την ανάπτυξη καρκίνου του κόλου. Επίσης, τα *bifidobacteria* μπορούν να συνδεθούν με το τελικό καρκινογόνο φυσιολογικά αφαιρώντας το με τα κόπρανα. Ακόμη, τα βακτήρια αυτά αποτρέπουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό της βλεννογόνου του κόλου καταστέλλοντας τη δραστηριότητα της αποκαρβοξυλάσης της ορνιθίνης (ODC) και την έκφραση του γονιδίου *ras-p-21*. Πιθανόν, τα *bifidobacteria* επάγουν την πρωτεΐνη επιδιόρθωσης της μεθυλογουανίνης (O⁶-μεθυλογουανίνη DNA μεθύλιο τρανσφεράση) η οποία αποκαθιστά μέσω απομεθυλίωσης την αρχική γουανίνη στο DNA (N. Kaur et al.,2002; M. Roberfroid, 2002; I. G. Carabin et al., 1999).

1.6.5.B. Επίδραση της ινουλίνης στον καρκίνο του μαστού

Ερευνητές μελέτησαν την επίδραση της ινουλίνης στον καρκίνο του μαστού και την ανάπτυξη όγκων. Σε μια αρχική μελέτη καρκινογένεσης στο μαστό, που προκλήθηκε *in vitro* με μεθυλονιτριλίο-ουρία σε θηλυκούς αρουραίους, η πρόσθεση 15% ινουλίνης στη βασική διατροφή μείωσε τον αριθμό των αρουραίων με όγκους και επίσης το συνολικό αριθμό μαστικών όγκων (N. Kaur et al.,2002).

1.7. Ινουλίνη και τρόφιμα

Ο σπουδαιότερος ρόλος των υδατανθράκων στα τρόφιμα είναι η θρεπτική τους ενέργεια. Επίσης, παίζουν σημαντικό ρόλο στη γεύση και τη δομή των τροφίμων. Τα σάκχαρα κυρίως και κατά δεύτερο λόγο οι πολυσακχαρίτες συμμετέχουν άμεσα στη γλυκιά γεύση των τροφίμων, παίζουν σημαντικό ρόλο στη συγκράτηση του νερού, επηρεάζουν το ιξώδες (**P. Harris, 1990; E. Dickinson, 1991**) και δρουν ως σταθεροποιητές (**T.F. Tadros**). Επιπλέον, μπορούν να επηρεάζουν σημαντικά το άρωμα και τη γεύση των τροφίμων σε συνεργασία με άλλα συστατικά τους. Κατά τις διάφορες κατεργασίες των τροφίμων (τήξη, αφυδάτωση, κατάψυξη, αποθήκευση) οι υδατάνθρακες υφίστανται μεταβολές οι οποίες επηρεάζουν τη θρεπτική αξία των τροφίμων και την εμφάνισή τους. Για το λόγο αυτό η γνώση των μεταβολών που υφίστανται οι υδατάνθρακες κατά την επεξεργασία των τροφίμων έχει ιδιαίτερη σημασία (**P. Harris, 1990; E. Dickinson, 1991**). Κάθε υδατάνθρακας ανάλογα με τη χημική του σύσταση έχει και διαφορετικές λειτουργικές ιδιότητες και επομένως διαφορετικές εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων.

Συγκεκριμένα, η ινουλίνη έχει την ικανότητα να σχηματίζει μικροκρυστάλλους όταν διατηθεί σε νερό ή γάλα. Οι πηκτές ινουλίνης σχηματίζονται από ένα δίκτυο μικρών κρυσταλλιτών, οι οποίοι μοιάζουν περισσότερο με ένα δίκτυο κρυστάλλων λίπους μέσα σε λάδι. Εξαιτίας αυτής της ομοιότητας, η ινουλίνη έχει αναγνωριστεί σαν ένα ενδιαφέρον συστατικό για τη δόμηση τροφίμων με χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, τα οποία έχουν μια ομαλή, απαλή υφή και παρέχουν μια αίσθηση στο στόμα όμοια με το λίπος. Έτσι, η ινουλίνη έχει χρησιμοποιηθεί στην αντικατάσταση λιπαρών διατροφικών επαλειμμάτων, σε παρασκευές φρούτων, σαλτσών, φρέσκων τυριών, σοκολάτας, παγωτών, ποτών, επιδόρπιων γάλακτος και γιαουρτιών (**A. Bot et al., 2004; N. Kaur et al., 2002**) αλλά και ως ζωοτροφή (**L.L. Hansena et al., 2002**). Η ινουλίνη, βέβαια, σχηματίζει πηκτές αλλά η ισχύς των πηκτών και συνεπώς η κρυστάλλωσή της διαφοροποιείται ανάλογα

με το προϊόν. Χαρακτηριστικές εφαρμογές της ινουλίνης στα τρόφιμα περιγράφονται παρακάτω.

1.7.1. Η ινουλίνη ως γλυκαντική ύλη

Η χαμηλού μοριακού βάρους ινουλίνη που αποτελείται από oligομερή μικρών αλυσίδων κατέχει λειτουργικά χαρακτηριστικά παρόμοια με σιρόπια από ζάχαρη και γλυκόζη. Είναι στην πραγματικότητα περισσότερο διαλυτή από τη σακχαρόζη και παρέχει περίπου 30 ως 50% της γλυκύτητας της επιτραπέζιας ζάχαρης. Η ινουλίνη χρησιμοποιείται συχνά σε συνδυασμό με γλυκαντικά για την αντικατάσταση σακχάρων και την κάλυψη της γεύσης της ασπαρτάμης. Επίσης, λειτουργεί ως συστατικό σε νιφάδες δημητριακών σχεδόν με τον ίδιο τρόπο όπως η ζάχαρη, αλλά με το πρόσθετο όφελος των χαμηλότερων θερμίδων, του εμπλουτισμού με ίνες και άλλων θρεπτικών χαρακτηριστικών.

Ακόμη, η ινουλίνη έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία σε παρασκευές σιροπιών φρουκτόζης, σοκολάτας και παγωτών καθώς κατεβάζει το σημείο πήξης σε παγωμένα επιδόρπια. Ακόμη, έχουν αναπτυχθεί προϊόντα κατάλληλα για τους διαβητικούς, όπως ψημένα τραγανά κουλουράκια χαμηλών λιπαρών, τα οποία περιέχουν τόσο πρόσθετες ίνες ινουλίνης όσο και μειωμένη ζάχαρη. Επιπλέον, οι φρουκτάνες δεν προκαλούν τερηδόνα καθώς δεν χρησιμοποιούνται από τα μεταλλαγμένα στελέχη στρεπτόκόκκου στο σχηματισμό οξέων και αδιάλυτων γλυκανών που αποτελούν τον κύριο υπαίτιο για την τερηδόνα (N. Kaur et al.,2002).

Σιρόπια με υψηλό ποσοστό φρουκτόζης μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως γλυκαντικά χαμηλής θερμιδικής αξίας, επειδή η φρουκτόζη είναι δύο φορές πιο γλυκιά από τη ζάχαρη και οργανοληπτικά επιθυμητή. Στη βιομηχανία εφαρμόζεται η συνεχής παραγωγή σιροπιών φρουκτόζης από ινουλίνη χρησιμοποιώντας ακινητοποιημένη ινουλινάση από το μεταλλαγμένο είδος 817 του *Aspergillus niger*. Η διαδικασία παραγωγής αναφέρεται ευθύς αμέσως.

Το μεταλλαγμένο είδος 817 του *Aspergillus niger* πολλαπλασιάζεται σε υγρή καλλιέργεια που περιέχει σακχαρόζη. Το ενζυμικό σύμπλεγμα που περιέχει εξω- και ενδοϊνουλινάσες ακινητοποιείται ομοιοπολικά πάνω σε ένα πορώδες παράγωγο κυτταρίνης. Μέσα σε μία στήλη βιοαντιδραστήρα πακεταρισμένης κλίνης που περιέχει την ακινητοποιημένη ινουλινάση, εισάγεται διάλυμα καθαρής ινουλίνης από το φυτό ντάλια. Η ινουλίνη υδρολύεται εντελώς κατά τη διάρκεια μιας περιόδου 45 ημερών συνεχούς λειτουργίας. Το προϊόν της αντίδρασης είναι ένα μίγμα 97% D-φρουκτόζης και 3% D-γλυκόζης (T. Nakamura et al., 1995).

1.7.2. Ινουλίνη και ψωμί

Η εισαγωγή ινών ινουλίνης στο σιτάλευρο επιτρέπει την αύξηση της ημερήσιας λήψης ινών - γεγονός που βοηθάει στη μείωση στεφανιαίων νόσων της καρδιάς και περιπτώσεων διαβήτη - χωρίς να υπάρχουν αρνητικές επιπτώσεις στις ρεολογικές ιδιότητες του ζυμαριού ή προβλήματα στην ποιότητα και αποδοχή του παραγόμενου ψωμιού.

Αποτελέσματα μελετών δείχνουν ότι ο δείκτης αντοχής ανάμιξης και η ελαστικότητα ελαττώνονται με την προσθήκη ινουλίνης τόσο λόγω της σύνθεσής της από πολυμερή φρουκτόζης όσο και των αλληλεπιδράσεων μεταξύ της ινουλίνης και της πρωτεΐνης του σιτάλευρου, γλουτένη. Η τιμή της αντίστασης του ζυμαριού στην παραμόρφωση αυξάνεται και αυτό είναι ένδειξη ότι το ζυμάρι που περιέχει ινουλίνη μπορεί να κατακρατήσει αέρια. Ακόμη, η ενέργεια παραμόρφωσης αυξάνεται με την ινουλίνη και αυτό γιατί ενισχύεται η μείωση της πρωτεολυτικής υποβάθμισης η οποία σχεδόν εξουδετερώνεται. Έτσι, η προσθήκη των ινών ινουλίνης βελτιώνει τη συμπεριφορά των πρωτεϊνών στα δημητριακά.

Όσον αφορά στην επεκτασιμότητα του ζυμαριού, δεν παρουσιάζεται διαφορά με το μη εμπλουτισμένο ψωμί και επομένως η ινουλίνη δεν έχει καμία επίδραση σ' αυτό τον παράγοντα. Δύο ενδείξεις της αντοχής του ζυμαριού είναι ο χρόνος ανάπτυξης και η τιμή σταθερότητας του ζυμαριού. Ο απαιτούμενος χρόνος για τη

μέγιστη ανάπτυξη του ζυμαριού μειώνεται με την προσθήκη ινουλίνης. Αυτό το αποτέλεσμα αποδεικνύει ότι η ζύμωση του εμπλουτισμένου ζυμαριού χρειάζεται λιγότερο χρόνο από το ζυμάρι που δεν περιέχει τον πολυσακχαρίτη για να φτάσει τη μέγιστη τιμή. Επίσης, η ινουλίνη ελαττώνει το ποσοστό της μείωσης όγκου, που σημαίνει μεγαλύτερη σταθερότητα. Βέβαια, ψωμί που είναι εμπλουτισμένο με ινουλίνη έχει μικρότερο μέγεθος καρβελιού.

Όσον αφορά στην υγρασία, ψωμί που περιέχει ινουλίνη έχει χαμηλότερη περιεκτικότητα σε υγρασία σε σύγκριση με το μη εμπλουτισμένο ψωμί κάτι που αντιβαίνει στη διαπίστωση ότι οι ίνες προσδίδουν υγρασία (**J. Wanga et al., 2002**). Επιπρόσθετα, η προσθήκη ινουλίνης στα σιμιγδαλένια ζυμάρια, έχει ένα επιπλέον θρεπτικό αποτέλεσμα καθώς εμποδίζει τη ζελατινοποίηση του αμύλου. Δηλαδή, η ινουλίνη εμποδίζει την αφυδάτωση των κόκκων αμύλου κατά τη διάρκεια του ψησίματος του ψωμιού. Αυτό οδηγεί στην αργή και σταδιακή διάσπαση του αμύλου και ως εκ τούτου στην παραγωγή ζάχαρης στον οργανισμό, οδηγώντας μετά το γεύμα σε χαμηλή γλυκόζη στο αίμα (έως και 15%) και μειωμένες αντιδράσεις ινσουλίνης (**C. S. Brennan et al., 2004**). Εν κατακλείδι, η ινουλίνη βελτιώνει τα χαρακτηριστικά του ζυμαριού.

1.7.3. Ινουλίνη και γιαούρτι

Τα αποτελέσματα μελετών δείχνουν ότι γιαούρτια εμπλουτισμένα με ινουλίνη δεν εκδηλώνουν συναίρεση ακόμη και μετά από αποθήκευση είκοσι ενός ημερών στους 4 °C. Επίσης οι παράμετροι χρώματος παραμένουν σταθεροί κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης.

Όσον αφορά στην υφή, οι ρεολογικές παράμετροι (ιξώδες, μέγιστη δύναμη συμπίεσης και δυναμικοί παράμετροι ταλάντωσης) αποδεικνύουν ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ του απλού και του εμπλουτισμένου με ινουλίνη γιαουρτιού. Επίσης, τα γιαούρτια με ινουλίνη έχουν τη μεγαλύτερη αποδοχή όσον αφορά στα χαρακτηριστικά γεύσης (**M. D. Staffoloa et al., 2004**).

1.7.4. Ινουλίνη και λουκάνικα

Στα προϊόντα κρέατος το λίπος δίνει άρωμα, υφή, γεύση και γενικά την αίσθηση λειότητας στο προϊόν. Κρέας με χαμηλό ποσοστό λίπους είναι λιγότερο χυμώδες, τρυφερό, εύκαμπτο και περισσότερο κολλώδες. Επομένως, η μείωση της περιεκτικότητας λίπους μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την αποδοχή του προϊόντος. Η μείωση του λίπους στα λουκάνικα ξηρής ζύμωσης είναι ακόμα πιο δύσκολη, γιατί η αντικατάσταση του λίπους με άπαχο κρέας αυξάνει τη σκληρότητα του προϊόντος, λόγω μεγάλης απώλειας νερού κατά την ωρίμανση. Όμως, όπως αναφέραμε οι υδατάνθρακες βελτιώνουν την απόδοση της μαγειρικής, αυξάνουν την ικανότητα κατακράτησης του νερού, μειώνουν το κόστος παρασκευής και μετατρέπουν την υφή.

Έτσι, αποτελέσματα μελετών δείχνουν ότι η προσθήκη της διαιτητικής ίνας της ινουλίνης (τόσο σε μορφή σκόνης όσο και σε υδάτινο διάλυμα) σε κρέας με χαμηλό ποσοστό λίπους βελτιώνει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, χάρη στη μαλακότερη υφή και τρυφερότητα (χωρίς να επηρεάζεται όμως ο χυμός), την ευκαμψία και κολλώδη ιδιότητα, που η τελευταία είναι παρόμοια με τα καθιερωμένα λουκάνικα υψηλής περιεκτικότητας λίπους. Η συνεκτικότητα, όμως, είναι λίγο χαμηλότερη στα εμπλουτισμένα με ινουλίνη λουκάνικα.

Η ινουλίνη, επίσης, διατηρεί τη γεύση του πιπεριού και του αλατιού στο λουκάνικο αν και μειώνει κάπως την αίσθηση του αλμυρού. Ούτε η προσθήκη της ινουλίνης αλλά ούτε η μείωση του λίπους έχουν σημαντική επίδραση στην οσμή του λουκάνικου. Η εμφάνιση των λουκάνικων με ινουλίνη είναι στιλπνή όπως στα λιπαρά, καθιερωμένα λουκάνικα. Επομένως, με την προσθήκη ευδιάλυτων ιών ινουλίνης (περίπου 10%), ένα προϊόν χαμηλών θερμίδων (30% των αρχικών) μπορεί να παραχθεί (E. Mendoza et al., 2001).

1.8. Ισχύουσες νομοθεσίες

Η ινουλίνη αναγνωρίζεται επίσημα ως φυσικό συστατικό τροφίμων στις περισσότερες Ευρωπαϊκές χώρες και θεωρείται ασφαλές στις Ηνωμένες Πολιτείες. Παρόλ' αυτά, οι συνθετικές φρουκτάνες έχουν ταξινομηθεί ως «πρωτότυπη τροφή» από τις ειδικές αρχές της Ευρωπαϊκής Ένωσης (EU Regulation on Novel Foods and Novel Food Ingredients 258/97). Αυτές οι φρουκτάνες είναι συστατικά τροφίμων με χαμηλή ενέργεια. Το ενεργειακό τους περιεχόμενο είναι μόνο 40 - 50% αυτών των αφομοιώσιμων υδατανθράκων, δίνοντας τους μια θερμιδική αξία της τάξης 1,0 - 2,0 Kcal/g. Γι' αυτό η ινουλίνη χαρακτηρίζεται ως διαιτητική ίνα καθώς η αντικατάσταση του λίπους από αυτόν τον πολυσακχαρίτη προσδίδει δομή και χαμηλή περιεκτικότητα σε θερμίδες στα τρόφιμα (N. Kaur et al.,2002).

Το γενικό πλαίσιο που αναπτύχθηκε στη συναινετική απόφαση της Ευρωπαϊκής Ένωσης με το ILSI για μια Λειτουργική Επιστήμη Τροφίμων στην Ευρώπη (FUFOSE) κατέληξε στις «Επιστημονικές Αντιλήψεις Λειτουργικών Τροφίμων» που δημοσιεύτηκαν το 1999. Τα παρακάτω είναι τα μοναδικά ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των «λειτουργικών τροφίμων»:

- Να είναι κοινώς αποδεκτές, καθημερινές τροφές που καταναλώνονται σαν μέρος της συνηθισμένης διαίτας.

- Να αποτελούνται από φυσικά (σε αντίθεση από τα συνθετικά) συστατικά, μερικές φορές σε αυξημένη συμπύκνωση ή παρόντα σε τροφές που δε θα τα παρείχαν φυσιολογικά.

- Να έχουν θετικά αποτελέσματα πέρα από τη θρεπτική αξία που μπορεί να βελτιώσουν την ευημερία και υγεία και/ή να μειώσουν τους κινδύνους ασθενειών ή να παρέχουν οφέλη στην υγεία, ώστε να βελτιώνουν την ποιότητα ζωής όσον αφορά στις φυσικές, ψυχολογικές λειτουργίες και λειτουργίες συμπεριφοράς.

- Και τέλος να είναι επιστημονικά τεκμηριωμένα.

Η ινουλίνη σύμφωνα με αυτό το νομοθετικό πλαίσιο ανήκει στα «λειτουργικά τρόφιμα» (M. Roberfroid, 2002).

1.9. Σκοπός

Η επαναληψιμότητα είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας στη βιομηχανία τροφίμων και φαρμάκων ο οποίος είναι καθοριστικός για την καθημερινή παραγωγή προϊόντων που έχουν τα ίδια κριτήρια ποιότητας. Έχει παρατηρηθεί ότι η ινουλίνη παρουσιάζει σημαντικά προβλήματα ως προς την επαναληψιμότητα της υφής, της δομής και της γεύσης, των βασικών δηλαδή κριτηρίων ποιότητας των τροφίμων.

Με αυτή την έρευνα προσπαθήσαμε να λύσουμε μερικά από τα παραπάνω προβλήματα που προκαλεί η ινουλίνη στη βιομηχανία και να μελετήσουμε τους παράγοντες που επηρεάζουν τις ιδιότητες του πολυσακχαρίτη κατά τη χρησιμοποίησή του στην παρασκευή, επεξεργασία και αποθήκευση προϊόντων που περιέχουν το βιοπολυμερές αυτό.

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. Τρόποι προσέγγισης του σκοπού

A) Μελέτη της συμπεριφοράς διαλυμάτων ινουλίνης διαφορετικών συγκεντρώσεων ως προς τη θερμοκρασία.

B) Μελέτη της συμπεριφοράς διαφορετικών όγκων διαλυμάτων ινουλίνης ίδιας συγκέντρωσης ως προς το χρόνο.

Γ) Μελέτη της επίδρασης υλικών συσκευασίας ή υλικών συσκευών επεξεργασίας στην κρυστάλλωση της ινουλίνης.

Δ) Μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας αποθήκευσης στην κρυστάλλωση της ινουλίνης.

E) Μελέτη της επίδρασης συνδιαλυτών στην κρυστάλλωση της ινουλίνης.

2.2. Όργανα που χρησιμοποιήσαμε

2.2.1. Φασματοφωτόμετρο

Το φασματοφωτόμετρο που χρησιμοποιήσαμε ήταν το **10 GENESYS™ SPECTROPHOTOMETER** της Spectronic Unicam, Cambridge CB5 8HY, UK. Οι προδιαγραφές του είναι: το εύρος μήκους κύματος (325 έως 1100 nm), το φασματοφωτομετρικό εύρος (-0,1 – 2,5A ή 0 - 125%T), το πλάτος της ζώνης

απομόνωσης της ακτινοβολίας (≤ 8 nm), η επαναληπτικότητα του μήκους κύματος ($\pm 0,5$ nm) και η ακρίβεια του μήκους κύματος ($\pm 2,0$ nm).

Η λειτουργία του φασματοφωτομέτρου αυτού βασίζεται στη *Φασματοσκοπία υπεριώδους – ορατού (UV – VIS)*. Η φασματοσκοπία UV – VIS αναφέρεται στην απορρόφηση μονοχρωματικής ακτινοβολίας από τα συστατικά του δείγματος στην περιοχή UV (190 - 400 nm) και την ορατή περιοχή (400 - 780 nm). Τα φάσματα UV – VIS δεν χαρακτηρίζουν συνολικά το μόριο, αλλά δίνουν πληροφορίες για ορισμένες μόνο ομάδες του μορίου (χρωμοφόρες ομάδες) που απορροφούν ακτινοβολία. Με την απορρόφηση υπεριώδους ακτινοβολίας προκύπτουν ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις σε μοριακά τροχιακά υψηλότερης ενέργειας.

Η κάθε ουσία απορροφά σε συγκεκριμένο μήκος κύματος, ενώ ο ανθρώπινος οφθαλμός ανιχνεύει την ακτινοβολία η οποία δεν απορροφάται (συμπληρωματικό χρώμα). Στη φασματοφωτομετρία απορρόφησης μετράται η απορρόφηση (A) ή η διαπερατότητα (T) του δείγματος και με βάση τις μετρήσεις αυτές επιτελείται η ποιοτική και ποσοτική ανάλυση (**Σ. Λιοδάκης, 2001**). Η επιλογή του μήκους κύματος για την ινουλίνη έγινε στην υπεριώδη περιοχή του φάσματος όπου η ουσία έχει τη μέγιστη απορρόφηση, δηλαδή, στο $\lambda_{\max} = 330$ nm (**E. I. O' Regan, 2002**).

2.2.1.1. Οργανολογία του φασματοφωτομέτρου

Πηγή ακτινοβολίας: Για την περιοχή του υπεριώδους χρησιμοποιούνται συνήθως *λυχνίες εκκένωσης υδρογόνου ή δευτερίου*.

Επιλογείς μήκους κύματος: Η απομόνωση της επιθυμητής στενής περιοχής μηκών κύματος, δηλαδή της μονοχρωματικής ακτινοβολίας, από τη συνεχή πολυχρωματική ακτινοβολία που εκπέμπει η πηγή, γίνεται ακριβέστερα (πλάτος ζώνης 0,01 nm) με *μονοχρωμάτορες πρίσματος ή φράγματος*.

Κυψελίδες: Οι κυψελίδες ήταν Dispolab Kartell, 1938 PS Microcuvettes. Έχουν ορθογώνιο σχήμα και είναι κατασκευασμένες από *χαλαζία*, εφόσον χρησιμοποιούνται στην υπεριώδη περιοχή.

Ανιχνευτές: Ως ανιχνευτές χρησιμοποιούνται *φωτολχνίες*, *φωτοπολλαπλασιαστές* και *φωτοδίοδοι*. Η αρχή λειτουργίας των ανιχνευτών αυτών είναι η εξής: τα φωτόνια της υπεριώδους ακτινοβολίας έχουν ενέργεια ικανή να απελευθερώσει ηλεκτρόνια, όταν προσκρούουν σε επιφάνειες κατεργασμένες με ειδικές ενώσεις. Επίσης, μπορούν να προκαλέσουν τη μετακίνηση μη αγώγιμων ηλεκτρονίων σε ζώνες αγωγιμότητας. Και στις δύο περιπτώσεις παράγεται ηλεκτρικό ρεύμα που είναι ανάλογο με την ισχύ της προσπίπτουσας ακτινοβολίας.

2.2.2. Οπτικό μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου

Το μικροσκόπιο που χρησιμοποιήσαμε ήταν το **WANG 7001, BioMedical, Inverted Microscope** από την Ολλανδία. Το μικροσκόπιο αυτό αποτελείται από τα εξής τμήματα:

Ο σκελετός του μικροσκοπίου. Ο σκελετός αποτελεί το κεντρικό τμήμα πάνω στο οποίο συναρμολογούνται τα μηχανικά και οπτικά συστήματα για να δώσουν το σύνολο του μικροσκοπίου.

Αντικειμενοφόρος τράπεζα. Είναι κατασκευασμένη με τέτοιο τρόπο ώστε να δέχεται το παρασκεύασμα προς παρατήρηση. Είναι μια τράπεζα διασταυρωμένων κινήσεων η οποία διαθέτει ένα μηχανισμό υποδοχής που ταυτόχρονα επιτρέπει τη μηχανική μετακίνηση του παρασκευάσματος στους άξονες x και y σε μία περιοχή 50mm X 80mm.

Μηχανισμός εστίασης. Ο μηχανισμός αυτός εξασφαλίζει στον παρατηρητή την ακριβή εστίαση (ρύθμιση της καθαρότητας της μικροσκοπικής εικόνας). Με την περιστροφή του ενός από τους δύο κοχλίες, αριστερά και δεξιά του σκελετού, μπορούμε να μεταβάλλουμε το ύψος της αντικειμενοφόρου τράπεζας και να πετύχουμε μια ακριβή εστίαση.

Δίσκος περιστροφής των αντικειμενικών φακών. Διαθέτει τις υποδοχές για μια σειρά αντικειμενικών φακών, οι οποίοι μπορούν να τοποθετηθούν διαδοχικά στην πορεία των φωτεινών ακτίνων και να μεταβάλλουν τη μεγέθυνση του παρασκευάσματος.

Αντικειμενικοί φακοί. Μέσω αυτών επιτυγχάνεται η μεγέθυνση του παρασκευάσματος στο επίπεδο της ενδιάμεσης εικόνας. Εμείς χρησιμοποιήσαμε τον αντικειμενικό φακό με τη μεγαλύτερη μεγέθυνση και χωρίς φίλτρα. Η μεγέθυνση του αντικειμενικού φακού ήταν η μεγαλύτερη, 40 (**LWDPC 40/0.65** όπου 0.65 είναι το αριθμητικό άνοιγμα του αντικειμενικού φακού).

Ο προσοφθάλμιος σωλήνας. Μέσω του σωλήνα αυτού γίνεται η μικροσκοπική παρατήρηση του δείγματος. Ένας δεύτερος σωλήνας βοηθάει στην παρατήρηση της μικροσκοπικής εικόνας με τα δύο μάτια.

Προσοφθάλμιος φακοί. Με τη βοήθεια του προσοφθάλμιου φακού η ενδιάμεση εικόνα, που προέρχεται από τον αντικειμενικό φακό, εμφανίζεται μεγενθυμένη. Οι προσοφθάλμιος φακοί μπορούν επίσης να αντικαταστήσουν πλήρως τα βελτιωτικά γυαλιά όρασης εκτός από την περίπτωση του αστιγματισμού. Η μεγέθυνση του προσοφθάλμιου φακού που χρησιμοποιήσαμε ήταν 16. Άρα, η **τελική μεγέθυνση** ήταν : $\text{μεγέθυνση αντικειμενικού} \times \text{μεγέθυνση προσοφθάλμιου} = 40 \times 16 = 640$. Η **διάμετρος του πεδίου του αντικειμένου** (μετά τη μεγέθυνση) ήταν : $\text{συντελεστής πεδίου} / \text{μεγέθυνση αντικειμενικού} = 14/40 = 0,35 \text{ mm}$.

Φωτισμός. Ο φωτισμός χαμηλού δυναμικού βρίσκεται ενσωματωμένος στη βάση του σκελετού του μικροσκοπίου και διαθέτει ένα μηχανισμό ρύθμισης, ο οποίος επιτρέπει τη συνεχή μεταβολή της φωτεινότητας της εικόνας και την προσαρμογή της στις απαιτήσεις της στιγμής.

Συμπυκνωτικός φακός. Ο ρόλος του είναι να συλλέγει τη φωτεινή δέσμη και να φωτίζει ομοιόμορφα το παρασκεύασμα. Με τη βοήθεια του διαφράγματος ανοίγματος ρυθμίζουμε την αντίθεση και το βάθος πεδίου της εικόνας (**A. Μούτου, 2000**).

Φωτογραφική μηχανή K1000. Η τελική μεγέθυνσή της ήταν: μεγέθυνση αντικειμενικού X μεγέθυνση προσοφθάλμιου = $40 \times 4 = 160$.

2.2.3. Φυγόκεντρος

Η φυγόκεντρος ήταν **Eppendorf , Centrifuge 5810 R**. Όλα τα δείγματά μας τα φυγόκεντρήσαμε στις 4000 rpm/rcf για τέσσερα λεπτά.

2.2.4. Θερμαινόμενος αναδευτήρας

Ο θερμαινόμενος αναδευτήρας ήταν **IKA RH basic** από τη Γερμανία. Εμείς ρυθμίσαμε τη θερμοκρασία της θερμαινόμενης πλάκας στους 85 °C και την ταχύτητα ανάδευσης στα 240 t/min.

2.2.5. Θερμοαισθητήρας

Ο ηλεκτρονικός θερμοαισθητήρας ήταν ο **2020 943 Memory digit big in/out thermo clock**, με το εύρος της θερμοκρασίας να κυμαίνεται από -50 °C έως +70 °C.

2.3. Υλικά που χρησιμοποιήσαμε

2.3.1. Ινουλίνη

Το δείγμα ινουλίνης που χρησιμοποιήσαμε ήταν από ρίζα ραδικιού, το Frutafit EXL από Sensus Operations C.V., Roosendaal της Ολλανδίας (ένα πρωτότυπο ενός σύγχρονου εμπορικού προϊόντος, Frutafit TEX). Οι προμηθευτές καθορίζουν ως ελάχιστο μέσο βαθμό πολυμερισμού (DP) το 23. Το συγκεκριμένο δείγμα ινουλίνης έχει βαθμό πολυμερισμού 28 και μοριακό βάρος $M_r = 4,5 \text{ kD}$ (P. Giannouli et al., 2004).

2.3.2. Γλυκόζη

Η γλυκόζη ήταν 1 kg D(+) – Glucose monohydrate for biochemistry, $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$, με μοριακό βάρος $M = 198,17 \text{ g/mol}$ από Merck KGa A 64271 Darmstadt της Γερμανίας.

2.3.3. Κρυσταλλική ζάχαρη

Η κρυσταλλική ζάχαρη με την επωνομασία «ο Σέφ» ήταν ψιλή συσκευασίας 1 kg, Sugar extra fine, από τη Σέφ A.B.E.E. του Τυρνάβου.

2.3.4. Φρουκτόζη

Η φρουκτόζη που χρησιμοποιήσαμε ήταν άνυδρη (< 1 % υγρασία) από την εταιρία BDH.

2.4. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.4.1. Παρασκευή δειγμάτων

Για την παρασκευή όλων των δειγμάτων ινουλίνης ακολουθήσαμε την ίδια ακριβώς διαδικασία:

1) Ζυγίσαμε ένα ποτήρι ζέσεως των 100 mL μαζί με ένα μαγνητάκι και προσέξαμε το σύστημα (ποτήρι ζέσεως – μαγνητάκι) να μην είναι σε απευθείας επαφή με τον ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας, έτσι ώστε το μαγνητάκι να μην επηρεάζει με το μαγνητικό του πεδίο τις μετρήσεις του ζυγού.

2) Προσθέσαμε στο σύστημα τα gr του απεσταγμένου νερού (αφαιρώντας από τα εκάστοτε gr του διαλύματος τα gr της ινουλίνης) εκτός από 4 gr τα οποία χρησιμοποιήσαμε για να ξεπλύνουμε το αλουμινόχαρτο με το οποίο προσθέσαμε την ινουλίνη στη συνέχεια.

3) Ζυγίσαμε στο αλουμινόχαρτο την ποσότητα της ινουλίνης που χρειαστήκαμε και κατόπιν την προσθέσαμε στο απεσταγμένο νερό.

4) Με τα 4 gr νερού που είχαμε κρατήσει καθαρίσαμε το αλουμινόχαρτο και έτσι πήραμε τα υπολείμματα της ουσίας στο διάλυμά μας.

5) Σκεπάσαμε με αλουμινόχαρτο το ποτήρι ζέσεως που περιείχε το δείγμα μας. Ακόμη, βάλαμε λαστιχάκι γύρω – γύρω για να εμποδίσουμε την εξάτμιση του διαλύτη σε όσο το δυνατόν μεγαλύτερο βαθμό.

6) Αφήσαμε το δείγμα μας να θερμανθεί στον αναδευτήρα για 20 λεπτά έως ότου πήρε μια πρώτη βράση. Έπρεπε να παρακολουθούμε οπτικά τη διάλυση της

ουσίας και να παρεμβαίνουμε όποτε το νερό κόχλαζε, κατεβάζοντας για περίπου 1 λεπτό το δείγμα από το θερμαινόμενο αναδευτήρα. Με αυτό τον τρόπο αποτρέψαμε τη διάσπαση των αλυσίδων της ινουλίνης. Ταυτόχρονα, θερμάναμε και λίγο απεσταγμένο νερό. Στο τέλος αναπληρώσαμε το νερό που είχε εξατμιστεί για να παρασκευαστεί το δείγμα της συγκεκριμένης συγκέντρωσης που θέλαμε.

2.4.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ

2.4.2.A. Μελέτη της συμπεριφοράς διαλυμάτων ινουλίνης διαφορετικών συγκεντρώσεων ως προς τη θερμοκρασία

2.4.2.A.1. Επίδραση της συγκέντρωσης ινουλίνης και της θερμοκρασίας στο σχηματισμό πηκτής

Την παραπάνω διαδικασία ακολουθήσαμε για την παρασκευή 60 gr διαλυμάτων ινουλίνης με συγκεντρώσεις των 3, 5, 10, 15, 20, 25 και 30 % w/w. Σχεδόν αμέσως μετά το βρασμό τοποθετήσαμε λίγα mL δείγματος στην κυψελίδα, βυθίσαμε το άκρο του θερμοαισθητήρα μέσα στο δείγμα, καλύψαμε την επιφάνεια της κυψελίδας με αλουμινόχαρτο και βάλαμε την κυψελίδα μέσα στο φασματοφωτόμετρο. Θεωρήσαμε τη στιγμή που βάλαμε την κυψελίδα στο φασματοφωτόμετρο ως στιγμή 0, πατώντας κατευθείαν την ένδειξη έναρξης του χρονομετρητή. Από τη στιγμή εκείνη, βέβαια, αρχίσαμε να μετράμε τόσο τη μεταβολή της απορρόφησης (A) στα 330 nm όσο και της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια πτώσης της θερμοκρασίας από τους 70 στους 20 °C περίπου. Οι μετρήσεις έγιναν ανά τακτά χρονικά διαστήματα 30 δευτερολέπτων τα πρώτα 10 λεπτά, ανά 1 λεπτό τα επόμενα 10 λεπτά, ανά 2 λεπτά τα επόμενα 10 λεπτά και ανά 4 λεπτά τα επόμενα 50 λεπτά έως ότου τόσο η απορρόφηση όσο και η θερμοκρασία απέκτησαν σταθερές τιμές. Έπρεπε να προσέξουμε ιδιαίτερα κατά το στάδιο τέλους του βρασμού

και τοποθέτησης της κυψελίδας στο φασματοφωτόμετρο έτσι ώστε οι διαδικασίες να είναι όσο το δυνατόν γρήγορες για να αποφευχθεί το φαινόμενο της εξάτμισης του διαλύτη και να διατηρηθεί υψηλή η θερμοκρασία του δείγματος στους 70 °C περίπου. Προσέχοντας αυτό το τελευταίο βήμα εξασφάλισαμε την επαναληψιμότητα στα πειράματά μας.

2.4.2.B. Επίδραση των διαφορετικών όγκων ινουλίνης ίδιας συγκέντρωσης στην κρυστάλλωση της ινουλίνης

Σε ένα δεύτερο πείραμα, τοποθετήσαμε σε 5 πλαστικούς σωλήνες μικρού μεγέθους 2, 4, 6, 8 και 10 mL ινουλίνης συγκέντρωσης 3% w/w. Επίσης, σε δύο πλαστικούς σωλήνες μικρού και ίδιου μεγέθους, που ο ένας περιέχει γυάλινες χάντρες, και σε έναν πλαστικό μεγάλου μεγέθους (28 cm διάμετρος, 11,5 cm ύψος) τοποθετήσαμε 6 mL 3% w/w ινουλίνης. Στη συνέχεια, αφήσαμε τα δείγματά μας να υποστούν κρυστάλλωση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Παίρναμε μετρήσεις της απορρόφησης (A) στα 330 nm δύο φορές την ημέρα για περίπου δύο εβδομάδες (καθώς τόσο διήρκτησε η κρυστάλλωση της ινουλίνης).

Ακολουθήσαμε την ίδια πειραματική πορεία για συγκέντρωση ινουλίνης 5% w/w, με τη μόνη διαφορά ότι αρχικά τοποθετήσαμε 2, 4, 6, 8 και 10 mL σε 5 γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες. Παίρναμε μετρήσεις της απορρόφησης (A) στα 330 nm δύο φορές την ημέρα για περίπου 9 ημέρες (καθώς τόσο διήρκτησε η κρυστάλλωση της ινουλίνης).

2.4.2.Γ. Επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης (περιβάλλοντος, ψύξης και κατάψυξης) στην κρυστάλλωση της ινουλίνης

2.4.2.Γ.1. Μελέτη των πηκτών ινουλίνης

Σε ένα τρίτο πείραμα, χρησιμοποιήσαμε τα 60 gr διαλυμάτων ινουλίνης με συγκεντρώσεις των 5, 10, 15, 20, 25 και 30% w/w που παρασκευάσαμε στο πρώτο πείραμα. Τα αφήσαμε να κρυσώσουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για περίπου μιάμιση ώρα και στη συνέχεια μοιράσαμε σε 5 πλαστικούς σωλήνες φυγοκέντρησης μικρού μεγέθους (1 cm διάμετρος, 12 cm ύψος) 2, 4, 6, 8 και 10 mL ινουλίνης από την κάθε συγκέντρωση των 5, 10, 15, 20, 25 και 30% w/w. Στη συνέχεια, αφήσαμε τα δείγματά μας να υποστούν κρυστάλλωση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Επίσης, σε δύο πλαστικούς σωλήνες μικρού μεγέθους τοποθετήσαμε 8 mL ινουλίνης από την κάθε συγκέντρωση των 5, 10, 15, 20, 25 και 30% w/w. Τον ένα πλαστικό σωλήνα, από την κάθε συγκέντρωση, τον βάλουμε στο ψυγείο σε θερμοκρασία 5 °C και τον άλλο στην κατάψυξη στους -20 °C. Μετά από δύο ημέρες τοποθετήσαμε τα δείγματα της κατάψυξης στο ψυγείο για να ξεπαγώσουν και μετά από ακόμη μία ημέρα βγάλαμε από το ψυγείο και τα δείγματα της κατάψυξης αλλά και αυτά του ψυγείου. Έτσι, μετά από τρεις ημέρες παρατηρήσαμε χαρακτηριστικά των δειγμάτων όπως την υφή, το ιξώδες και το χρώμα και τραβήξαμε φωτογραφίες στο οπτικό μικροσκόπιο. Ακόμη, φυγοκεντρήσαμε το ίζημα που σχηματίστηκε σε όλα τα δείγματα, τόσο του περιβάλλοντος όσο και του ψυγείου και της κατάψυξης, στις 4000 rpm/rcf για τέσσερα λεπτά. Με αυτό τον τρόπο μετρήσαμε την απορρόφηση (A) στα 330 nm της υπερκείμενης υγρής στιβάδας.

2.4.2.Δ. Μελέτη της επίδρασης συνδιαλυτών στην κρυστάλλωση της ινουλίνης

Σε ένα τέταρτο πείραμα, παρασκευάσαμε 60 gr διαλυμάτων είτε κρυσταλλικής ζάχαρης είτε φρουκτόζης ή γλυκόζης με συγκέντρωση 60% w/w, με τη διαδικασία που αναφέραμε. Ακολουθώντας την ίδια πειραματική πορεία όπως στο πρώτο πείραμα, μετρήσαμε τη μεταβολή της απορρόφησης (A) στα 330 nm, κατά τη διάρκεια ψύξης από τους 70 στους 20 °C.

Στη συνέχεια, παρασκευάσαμε 60 gr διαλυμάτων 5% w/w ινουλίνης παρουσία συνδιαλύτη είτε κρυσταλλικής ζάχαρης είτε φρουκτόζης ή γλυκόζης με συγκεντρώσεις των 15, 30, 45 και 60% w/w. Το μόνο που άλλαξε στη ροή των γεγονότων της παρασκευής ήταν ότι πρώτα προσθέσαμε ινουλίνη, την οποία αφήσαμε να θερμανθεί για περίπου 16 – 20 λεπτά έως ότου διαλύθηκε, και κατόπιν προσθέσαμε τον εκάστοτε συνδιαλύτη, τον οποίο επίσης αφήσαμε να θερμανθεί για περίπου 10 λεπτά ώσπου διαλύθηκε. Ακολουθώντας και εδώ την ίδια πειραματική πορεία όπως στο πείραμα A, μετρήσαμε τη μεταβολή της απορρόφησης (A) στα 330 nm, κατά τη διάρκεια ψύξης από τους 70 στους 20 °C.

Εν κατακλείδι, θα έπρεπε να αναφέρουμε ότι το κάθε πείραμα επαναλήφθηκε τρεις φορές για να διαπιστώσουμε την επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων μας.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1. Σχηματισμός των πηκτών ινουλίνης – Κρυστάλλωση

Καταρχάς, θα πρέπει να δοθεί ένας ορισμός των πηκτών. Ο σχηματισμός πηκτής είναι η μετατροπή υγρού σε στερεό κάτω από κατάλληλες συνθήκες. Πρόκειται για τη συγκράτηση μορίων διαλύτη από το δίκτυο που σχηματίζουν τα μόρια του βιοπολυμερούς. Οι υδατάνθρακες ή πρωτεΐνες θεωρούνται να είναι τα κύρια συστατικά για τις τροφικές πηκτές (Y. Kim et al., 2001). Ακόμη, θεωρείται ότι οι πηκτές ινουλίνης σχηματίζονται από ένα δίκτυο μικρών κρυσταλλιτών. Οι ρεολογικές ιδιότητές τους μοιάζουν περισσότερο με ένα δίκτυο κρυστάλλων λίπους μέσα σε λάδι (A. Bot et al., 2004).

Ο σχηματισμός πηκτής από υδατάνθρακες επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως η συγκέντρωση της ουσίας που αντιδρά, η θερμοκρασία θέρμανσης, το pH, τα άλατα και οι συνδιαλύτες. Αυτοί οι παράγοντες καθορίζουν τόσο την ισχύ όσο και τις ρεολογικές ιδιότητες της πηκτής (Y. Kim et al., 2001).

Λόγω της ιδιαιτερότητας της ινουλίνης και των προβλημάτων που προκαλεί στη βιομηχανία τροφίμων εξετάσαμε την επίδραση και κάποιων άλλων παραγόντων, όπως τη συγκέντρωση της ινουλίνης, τη θερμοκρασία αποθήκευσης (περιβάλλοντος, κατάψυξης και ψύξης), τους διαφορετικούς όγκους διαλυμάτων ινουλίνης της ίδιας συγκέντρωσης, τη διάμετρο του πλαστικού σωλήνα που περιέχει ινουλίνη, το υλικό του δοκιμαστικού σωλήνα (γυαλί, πλαστικό) και την προσθήκη συνδιαλυτών (κρυσταλλική ζάχαρη, φρουκτόζη, γλυκόζη).

Η δημιουργία κρυστάλλων ινουλίνης, όπως έχει ήδη αναφερθεί, είναι απαραίτητοι για το σχηματισμό πηκτής. Σύμφωνα με τη διαδικασία της κρυστάλλωσης, η δημιουργία ιζήματος απαιτεί την ύπαρξη υπέρκορων διαλυμάτων ινουλίνης. Η υπέρκορη κατάσταση είναι ασταθής, οπότε το διάλυμα με αποβολή

ιζήματος μετατρέπεται σε κορεσμένο και επομένως αυτό που παρατηρούμε στα πειράματα είναι ότι οι κρύσταλλοι της ινουλίνης συσσωματώνονται και καθιζάνουν στον πυθμένα των δοκιμαστικών σωλήνων σχηματίζοντας πηκτές.

Η πρώτη φάση σχηματισμού κρυστάλλων είναι η **πυρήνωση (nucleation)**. Κατά τη φάση αυτή σχηματίζονται οι πυρήνες κρυστάλλωσης. Οι πυρήνες αυτοί έχουν μικρή διάμετρο (περίπου ίση με τη διάμετρο των ιόντων) και είναι ασταθείς, οπότε μετατρέπονται με αύξηση του μεγέθους τους σε κolloειδή σωματίδια, τα μικκύλια. Η φάση αυτή ονομάζεται **σωματιδιακή ανάπτυξη κρυστάλλου (particle growth)**. Οι φάσεις της πυρήνωσης και της σωματιδιακής ανάπτυξης του κρυστάλλου είναι ανταγωνιστικές. Οι συνθήκες καταβύθισης θα πρέπει να είναι τέτοιες ώστε, η ταχύτητα πυρήνωσης να είναι μικρή ενώ η ταχύτητα ανάπτυξης του κρυστάλλου μεγάλη. Κατ' αυτόν τον τρόπο παράγονται λίγοι αλλά ευμεγέθεις κρύσταλλοι.

Η δεύτερη φάση, η **καθίζηση**, μπορεί να ακολουθήσει δύο δρόμους:

α. Τα μικκύλια σταθεροποιούνται προς σταθερά κolloειδή διαλύματα. Αυτά με συσσωμάτωση καθιζάνουν, δίνοντας **κolloειδή ή πηγματώδη ιζήματα**.

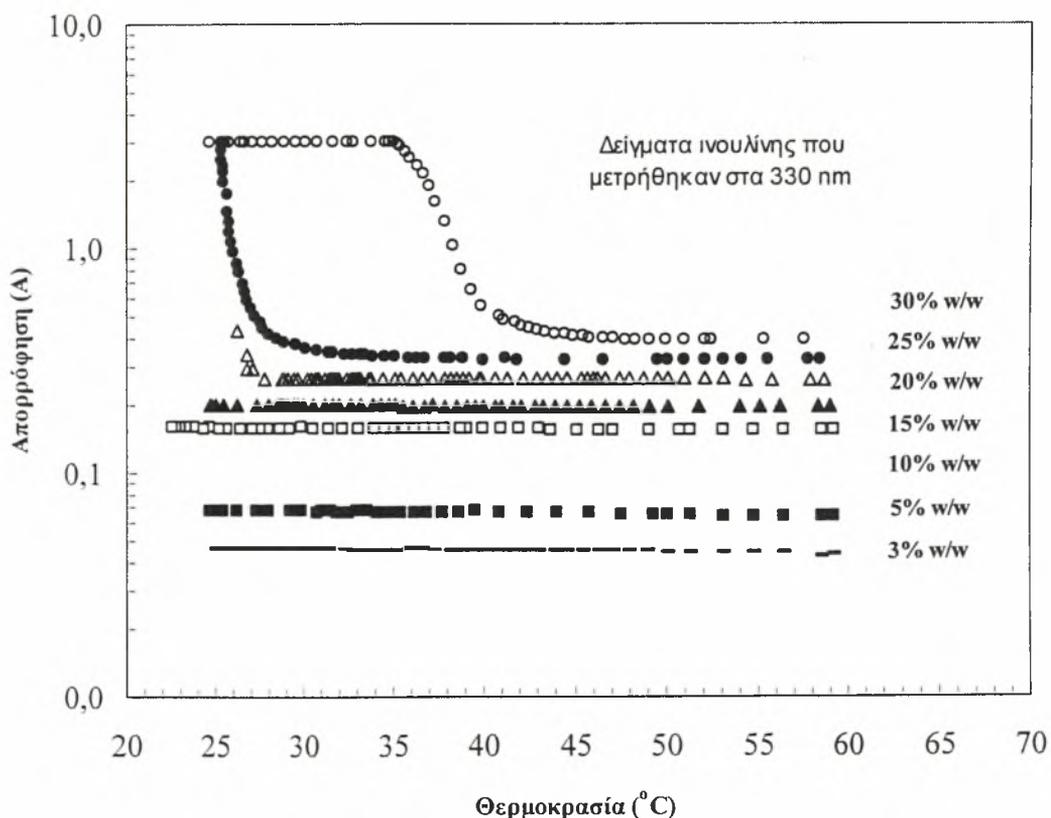
β. Τα μικκύλια μετατρέπονται σε λεπτούς κρυστάλλους οι οποίοι, είτε συσσωματώνονται προς **μικροκρυσταλλικά ιζήματα**, είτε αυξάνονται σε μέγεθος παρέχοντας **μακροκρυσταλλικά ιζήματα (Σ. Λιοδάκης, 2001)**.

Με βάση τη βιβλιογραφία, η ινουλίνη είναι ένας πολυσακχαρίτης που μπορεί να κρυσταλλωθεί εύκολα σε ένδρα διαλύματα. Οι κρύσταλλοι ινουλίνης είναι ελασματοειδείς. Μάλιστα, η ινουλίνη κρυσταλλώνεται σε δεξιόστροφα και αριστερόστροφα (ελάχιστης ενέργειας) σπειρώματα μιας ψευδο - εξαγωνικής εξάπτυχης συμμετρίας. Έχουν παρατηρηθεί δύο κρυσταλλικά πολύμορφα : ένα ενυδατωμένο είδος ορθορομβικού σχήματος, και ένα ψευδο - εξαγωνικό ημιενυδατωμένο είδος. Η διαφορά μεταξύ των ενυδατωμένων και ημιενυδατωμένων κρυστάλλων εντοπίζεται στην περιεκτικότητα του νερού και όχι στη διαμόρφωση της ινουλίνης (**I. Andre et al., 1996**). Ακόμη, παρόλο που οι κρυσταλλίτες ινουλίνης δεν θεωρούνται σφαιρικοί, τα συσσωματώματά τους θεωρούνται ότι είναι σχετικά σφαιρικά (**A. Bot et al., 2004**).

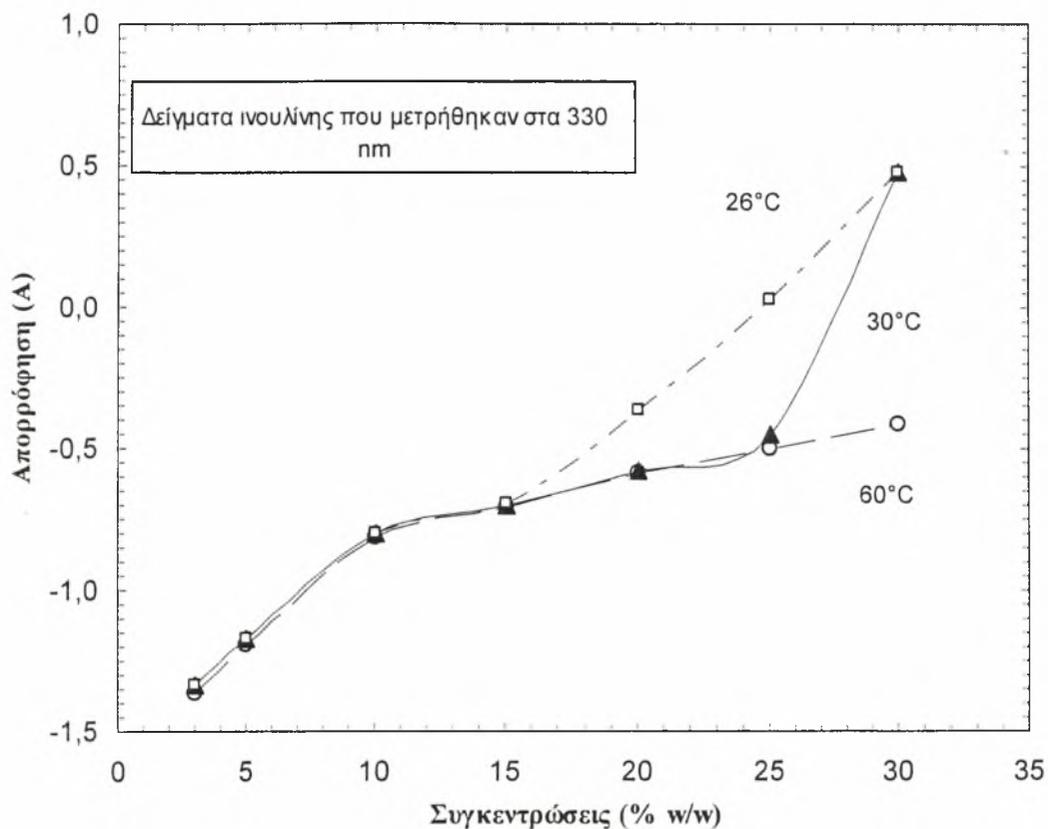
3.2.A. Μελέτη της συμπεριφοράς διαλυμάτων ιουλίνης διαφορετικών συγκεντρώσεων ως προς τη θερμοκρασία

3.2.A.1. Επίδραση της συγκέντρωσης ιουλίνης και της θερμοκρασίας στο σχηματισμό πηκτής

Τα αποτελέσματα που πήραμε από την παρατήρηση της μεταβολής της απορρόφησης στα 330 nm διαλυμάτων ιουλίνης συγκέντρωσης 3, 5, 10, 15, 20, 25 και 30 % w/w, κατά τη διάρκεια ψύξης από τους 60 στους 20 °C, φαίνονται στα παρακάτω σχήματα 1 και 2.



Σχήμα 1: Μεταβολή της απορρόφησης Α (330 nm), κατά τη διάρκεια ψύξης από τους 70 στους 20 °C, για διαλύματα ιουλίνης συγκεντρώσεων (% w/w) των 3 (-), 5 (■), 10 (□), 15 (▲), 20 (△), 25 (◆) και 30 (◇).



Σχήμα 2: Μεταβολή της απορρόφησης A (330 nm) στους 60 (○), 30 (▲) και 26 °C (□) για διαλύματα ιουλίνης συγκεντρώσεων (% w/w) των 3, 5, 10, 15, 20, 25 και 30.

Διαφορετικοί συνδυασμοί συγκεντρώσεων ιουλίνης και θερμοκρασιών χρησιμοποιήθηκαν για να συσχετιστούν οι δύο αυτοί παράγοντες με το σχηματισμό πηκτής. Παρατηρήσαμε ότι στους 60 °C το 3 και 5% w/w διάλυμα ιουλίνης δεν σχημάτισε πηκτή. Καθώς αυξήθηκε η συγκέντρωση της ιουλίνης, αυξήθηκε και η απορρόφηση στα 330 nm. Οπότε στο διάλυμα άρχισαν να εμφανίζονται κρύσταλλοι ιουλίνης. Έτσι, σε χαμηλές συγκεντρώσεις ιουλίνης όπως 3, 5 και 10% w/w, το διάλυμα δεν σχημάτισε δίκτυο πηκτής κατά την ψύξη των θερμών διαλυμάτων ιουλίνης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, δηλαδή κατά τη διάρκεια της φασματοφωτομέτρησης. Επομένως 10% w/w ιουλίνης είναι η ελάχιστη συγκέντρωση ή κοντά στο όριο της απαιτούμενης συγκέντρωσης για το σχηματισμό πηκτής. Όμως, σε διαλύματα ιουλίνης μεγαλύτερης συγκέντρωσης όπως 15, 20, 25 και 30% w/w, ο σχηματισμός κρυστάλλων και συσσωματωμάτων τους επιταχύνθηκε

καθώς αυξήθηκε σημαντικά η απορρόφησή τους στα 330 nm. Η αύξηση αυτή αποτελεί ένδειξη δημιουργίας πηκτών (Y. Kim et al., 2001; S. de Gennaro et al., 2000).

Σε υψηλή θερμοκρασία (60 °C) τα μόρια ινουλίνης κινούνται πολύ γρήγορα λόγω υψηλής κινητικής ενέργειας. Κατά τη διάρκεια ψύξης των διαλυμάτων ινουλίνης από τους 60 στους 20 °C, και ανάλογα με τη συγκέντρωσή τους, αρχίζει να εμφανίζεται η κρυστάλλωση, λόγω της ελαττωμένης κίνησης των μορίων της ινουλίνης. Στη συνέχεια, δημιουργούνται συσσωματώματα κρυστάλλων (aggregation of crystals) λόγω του φαινομένου του «πακεταρίσματος» των κρυστάλλων ινουλίνης (packing of crystals of inulin) και επομένως σχηματίζονται πηκτές.

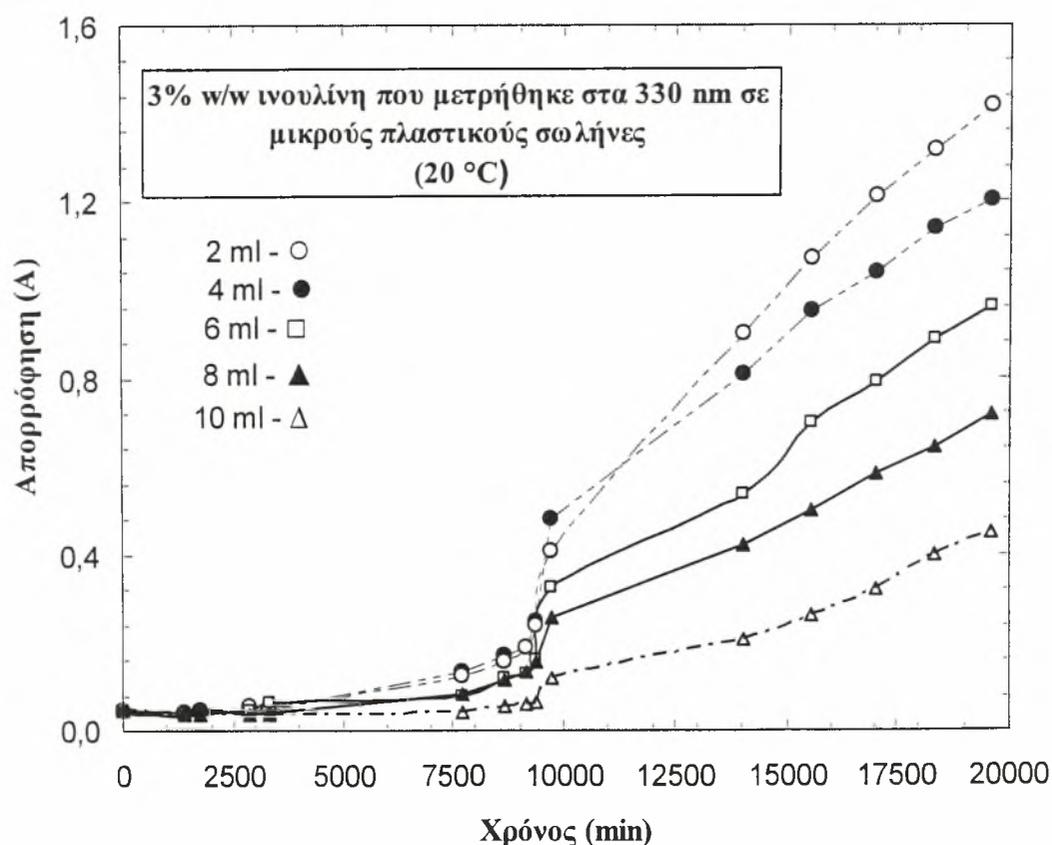
Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων, έπρεπε η θερμοκρασία θέρμανσης να μην υπερβαίνει τη θερμοκρασία των 85 °C. Και αυτό γιατί σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες οι αλυσίδες της ινουλίνης αρχίζουν να διασπώνται σε μικρότερες αλυσίδες. Δηλαδή, κατά τη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας συμβαίνει υδρόλυση που οδηγεί στην αύξηση σχηματισμού μορίων ινουλίνης με χαμηλό μοριακό βάρος και επομένως διαλυμάτων με διαφορετικές λειτουργικές ιδιότητες (Y. Kim et al., 2001).

Συμπερασματικά, σε υψηλές συγκεντρώσεις διαλυμάτων ινουλίνης κατά τη διάρκεια της ψύξης από τους 60 στους 20 °C ευνοείται ο γρήγορος ρυθμός της δημιουργίας συσσωματωμάτων κρυστάλλων ινουλίνης μέσω του φαινομένου της **πυρήνωσης**. Δηλαδή, η παρουσία πυρήνων κρυστάλλων (**seeding crystals**) θεωρείται ότι επηρεάζει δραματικά την εξέλιξη της κρυστάλλωσης της ινουλίνης επιτρέποντας τη γρήγορη αύξηση του αριθμού των κρυστάλλων σε περισσότερες θέσεις μέσα στο διάλυμα ινουλίνης. Σε χαμηλές λοιπόν συγκεντρώσεις ινουλίνης, η πυρήνωση είναι το ρυθμο - περιοριστικό βήμα στο μηχανισμό της κρυστάλλωσης (A. Bot et al., 2004).

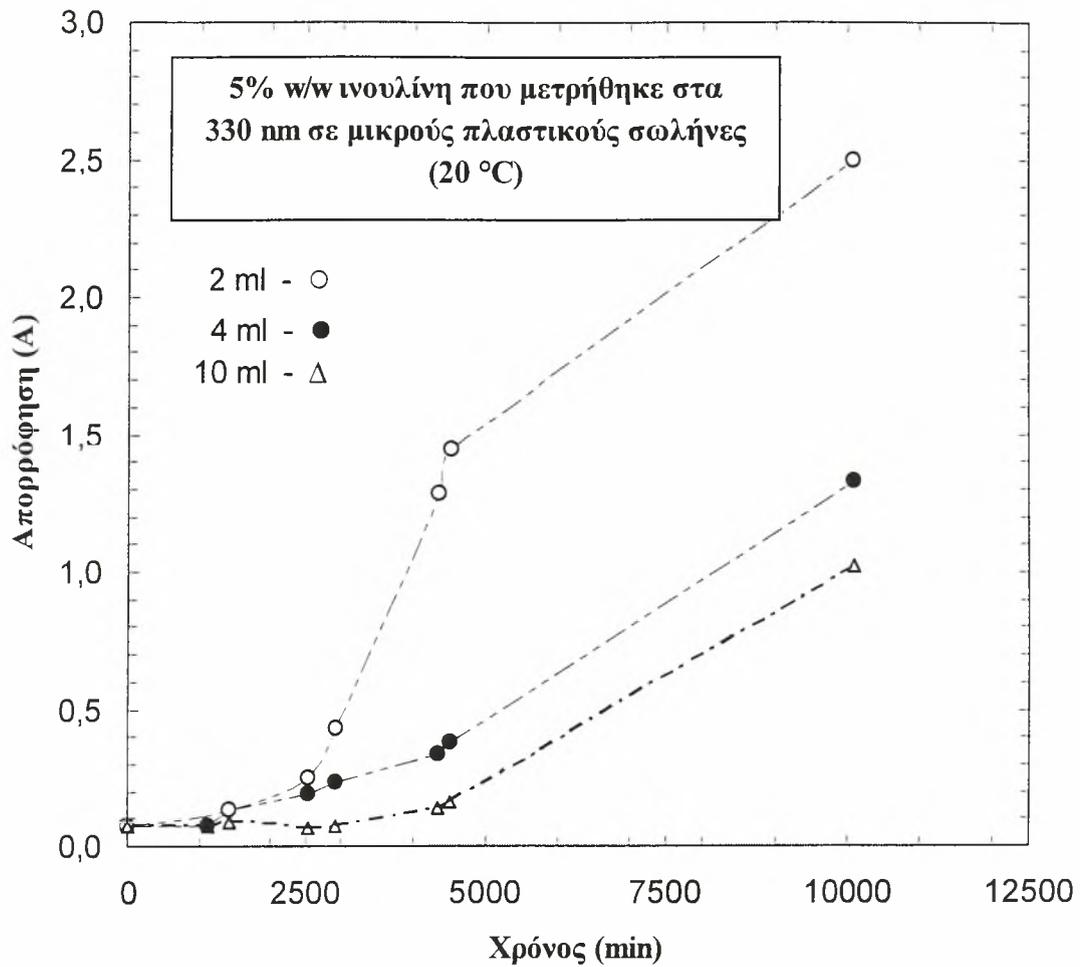
3.2.B. Μελέτη της συμπεριφοράς διαφορετικών όγκων διαλυμάτων ιουλίνης ίδιας συγκέντρωσης ως προς το χρόνο

3.2.B.1. Επίδραση των διαφορετικών όγκων διαλυμάτων ιουλίνης ίδιας συγκέντρωσης στο σχηματισμό πηκτής

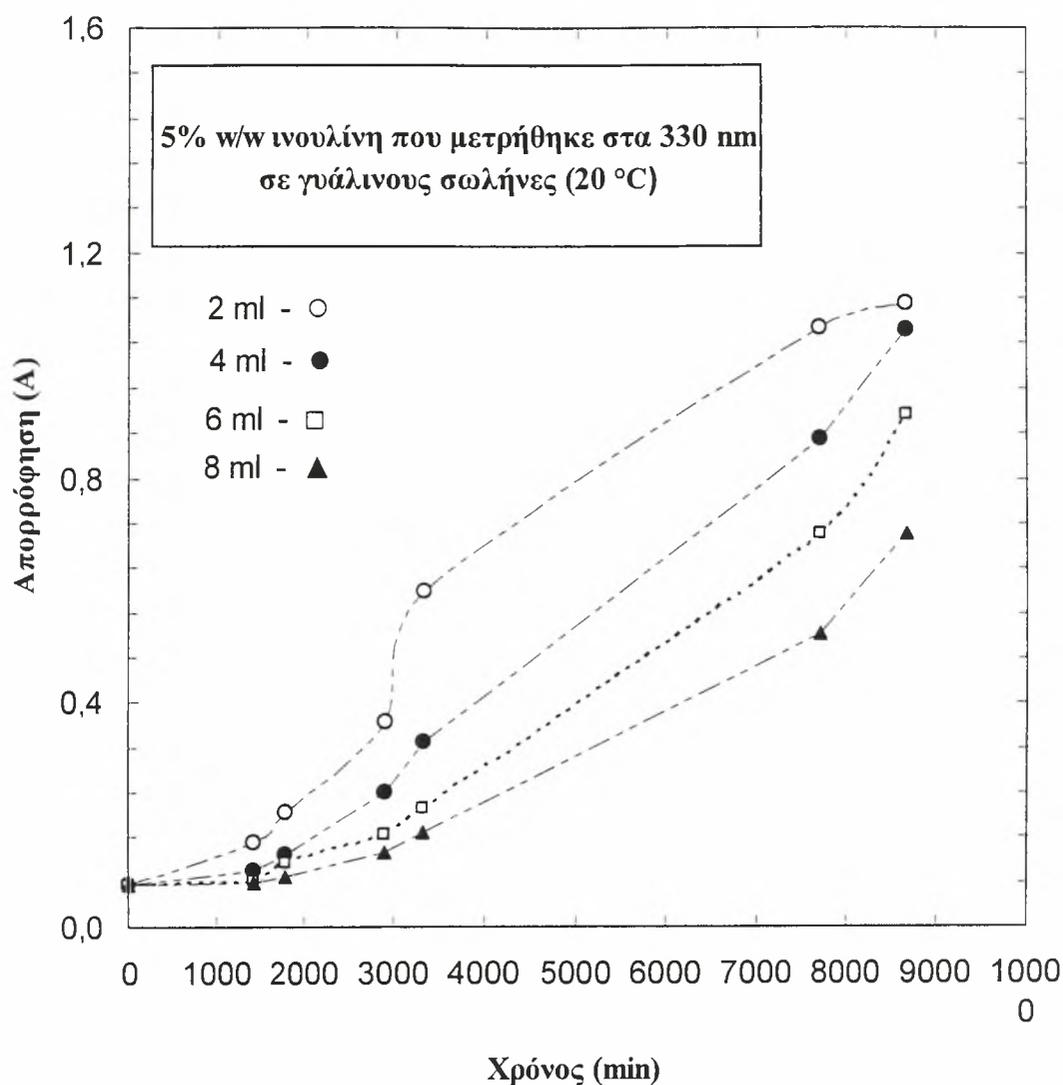
Κατά τη διάρκεια της κρυστάλλωσης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος διαφορετικών όγκων διαλυμάτων ιουλίνης της ίδιας συγκέντρωσης (3 και 5% w/w, αντίστοιχα), παρατηρήσαμε μεταβολές στην απορρόφηση, όπως φαίνεται στα παρακάτω σχήματα 3, 4.



Σχήμα 3: Μεταβολή της απορρόφησης A (330 nm), κατά τη διάρκεια κρυστάλλωσης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (20 °C), 3% w/w ιουλίνης με όγκους των 2 (○), 4 (●), 6 (□), 8 (▲) και 10 (△) mL σε πλαστικό σωλήνα μικρού μεγέθους.



Σχήμα 4: Μεταβολή της απορρόφησης A (330 nm), κατά τη διάρκεια κρυστάλλωσης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, 5% w/w ινουλίνης με όγκους των 2 (○), 4 (●) και 10 (Δ) mL σε πλαστικό σωλήνα μικρού μεγέθους.



Σχήμα 5: Μεταβολή της απορρόφησης A (330 nm), κατά τη διάρκεια κρυστάλλωσης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, 5% w/w ινουλίνης με όγκους των 2 (○), 4 (●), 6 (□) και 8 (▲) mL σε γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα.

Στα σχήματα 3 και 4 παρατηρούμε ότι ο όγκος είναι αντιστρόφως ανάλογος του ρυθμού της κρυστάλλωσης της ινουλίνης. Δηλαδή, για διαλύματα της ίδιας συγκέντρωσης (3 και 5% w/w, αντίστοιχα) όσο πιο μικρός είναι ο όγκος τόσο πιο αυξημένη είναι η απορρόφηση, το οποίο συνεπάγεται την εμφάνιση θολερότητας και άρα κρυστάλλων με πιο γρήγορο ρυθμό. Αυτό συμβαίνει επειδή ο μικρός όγκος προσδίδει μεγαλύτερη επιφανειακή τάση, το οποίο σημαίνει μεγαλύτερη διεπιφάνεια μεταξύ τόσο του στερεού τοιχώματος του σωλήνα και του υγρού όσο και αέρα –

υγρού. Δηλαδή, ο αυξημένος λόγος της επιφάνειας προς τη μάζα έχει ως άμεσο αποτέλεσμα τη δημιουργία περισσότερων σημείων επαφής μεταξύ των κρυστάλλων. Έτσι, ενεργοποιείται γρήγορα ο σχηματισμός κρυστάλλων λόγω του φαινομένου της πυρήνωσης (nucleation).

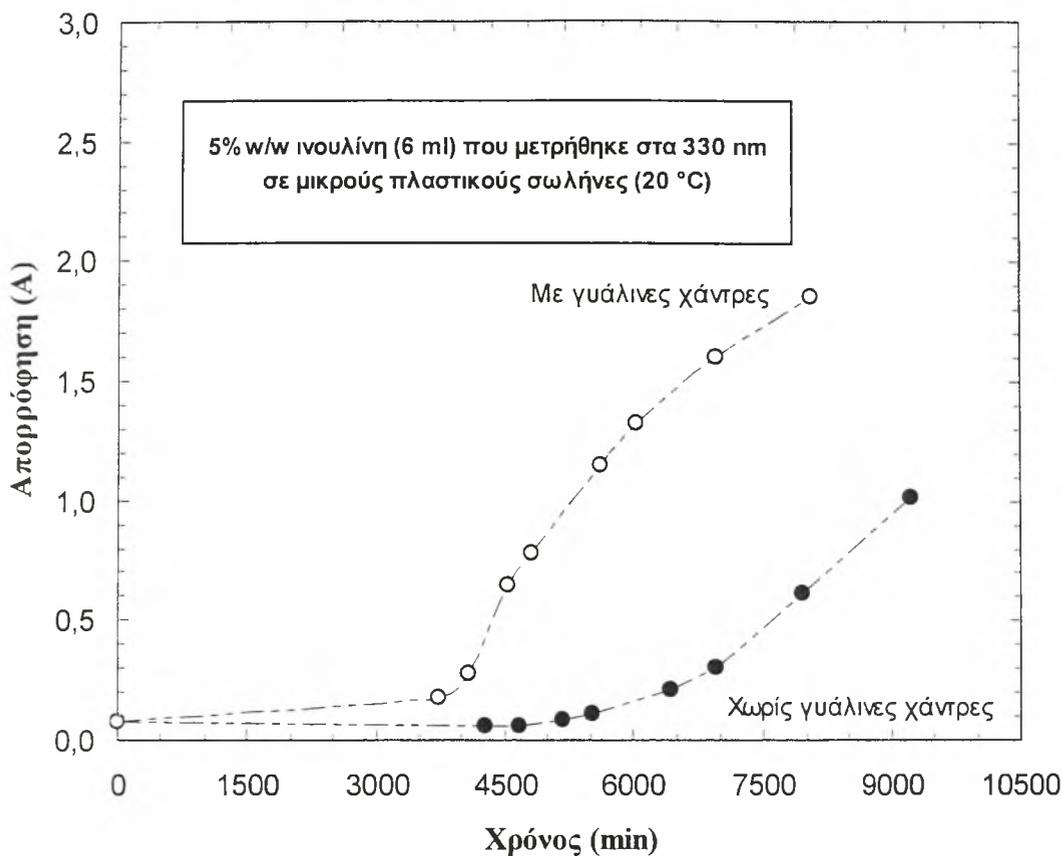
Πρέπει να αναφέρουμε όμως ότι στον πλαστικό σωλήνα με την υψηλότερη συγκέντρωση (5% w/w) ινουλίνης, η διαδικασία της κρυστάλλωσης της ινουλίνης διήρκησε 9 ημέρες σε αντίθεση με αυτή της χαμηλότερης συγκέντρωσης (3% w/w) που διήρκησε σχεδόν το διπλάσιο. Άρα, για μία ακόμη φορά επαληθεύεται το ότι ο σχηματισμός κρυστάλλων επιταχύνεται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις ινουλίνης.

Τα αποτελέσματα των πειραμάτων που φαίνονται στα σχήματα 3 και 4 αναφέρονται σε διαλύματα ινουλίνης που αποθηκεύτηκαν σε μικρούς πλαστικούς δοκιμαστικούς σωλήνες. Για να βεβαιωθούμε ότι δεν είναι υπεύθυνο το πλαστικό υλικό για την εμφάνιση του παραπάνω φαινομένου επαναλάβουμε το πείραμα χρησιμοποιώντας γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες για διαλύματα 5% w/w ινουλίνης διαφορετικών όγκων (2, 4, 6 και 8 mL). Σύμφωνα με το σχήμα 5 καταλήξαμε στο ίδιο συμπέρασμα ότι, δηλαδή, ο όγκος είναι αντιστρόφως ανάλογος του ρυθμού της κρυστάλλωσης της ινουλίνης.

3.2.B.2. Επίδραση των γυάλινων χαντρών στην κρυστάλλωση της ινουλίνης

Θέλοντας να επιβεβαιώσουμε τα αποτελέσματα των προηγούμενων πειραμάτων και συγκεκριμένα ότι ο αυξημένος λόγος της επιφάνειας προς τη μάζα προκαλεί επιτάχυνση του φαινομένου της πυρήνωσης, προσθέσαμε γυάλινες χάντρες και επαναλάβουμε το πείραμα για 6 mL διαλύματος 5% w/w ινουλίνης.

Συγκεκριμένα, μελετώντας τη διάρκεια της κρυστάλλωσης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος 6 mL, 5% w/w ινουλίνης σε πλαστικό σωλήνα μικρού μεγέθους και σε έναν άλλο που περιέχει γυάλινες χάντρες, παρατηρήσαμε μεταβολές στην απορρόφηση, όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα 6.



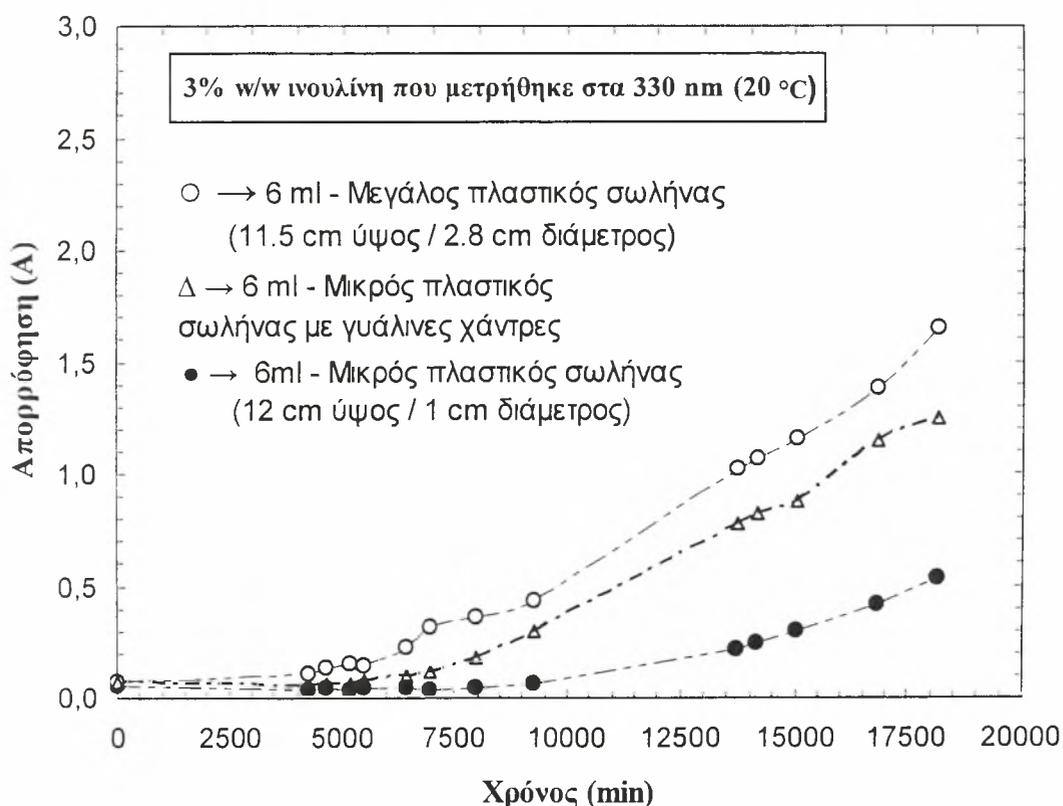
Σχήμα 6: Μεταβολή της απορρόφησης Α (330 nm), κατά τη διάρκεια κρυστάλλωσης 6 mL 5% w/w ινουλίνης σε πλαστικό σωλήνα μικρού μεγέθους (♦) και παρουσία γυάλινων χαντρών (◊), σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Συγκεκριμένα, στο μικρό πλαστικό σωλήνα παρουσία γυάλινων χαντρών, η απορρόφηση είναι μεγαλύτερη από αυτή του άλλου πλαστικού σωλήνα που δεν περιέχει χάντρες. Βέβαια, η αυξημένη απορρόφηση στο μικρό πλαστικό σωλήνα με τις γυάλινες χάντρες συνεπάγεται την εμφάνιση θολερότητας και άρα κρυστάλλων με πιο γρήγορο ρυθμό. Αυτό συμβαίνει επειδή οι χάντρες προσδίδουν μεγαλύτερη επιφανειακή τάση, το οποίο σημαίνει μεγαλύτερη διεπιφάνεια μεταξύ τόσο του στερεού (δηλαδή, των γυάλινων χαντρών) και του υγρού όσο και αέρα – υγρού. Το αποτέλεσμα είναι ότι ενεργοποιείται γρήγορα ο σχηματισμός κρυστάλλων λόγω του φαινομένου της πυρήνωσης.

3.2.B.3. Επίδραση της διαμέτρου του πλαστικού σωλήνα στην κρυστάλλωση της ινουλίνης

Ένας άλλος τρόπος για να αυξήσουμε το λόγο της επιφάνειας του διαλύματος προς τη μάζα ήταν να χρησιμοποιήσουμε και πλαστικούς δοκιμαστικούς σωλήνες με μεγαλύτερη διάμετρο.

Κατά την κρυστάλλωση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος 6 mL, 3% w/w ινουλίνης σε πλαστικούς σωλήνες μικρού και μεγάλου μεγέθους, παρατηρήθηκαν μεταβολές στην απορρόφηση, όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα 7.



Σχήμα 7: Μεταβολή της απορρόφησης A (330 nm), κατά τη διάρκεια κρυστάλλωσης 6 mL 3% w/w ινουλίνης σε πλαστικό σωλήνα μικρού μεγέθους (●), παρουσία γυάλινων χαντρών (Δ) και μεγάλου μεγέθους (○), σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

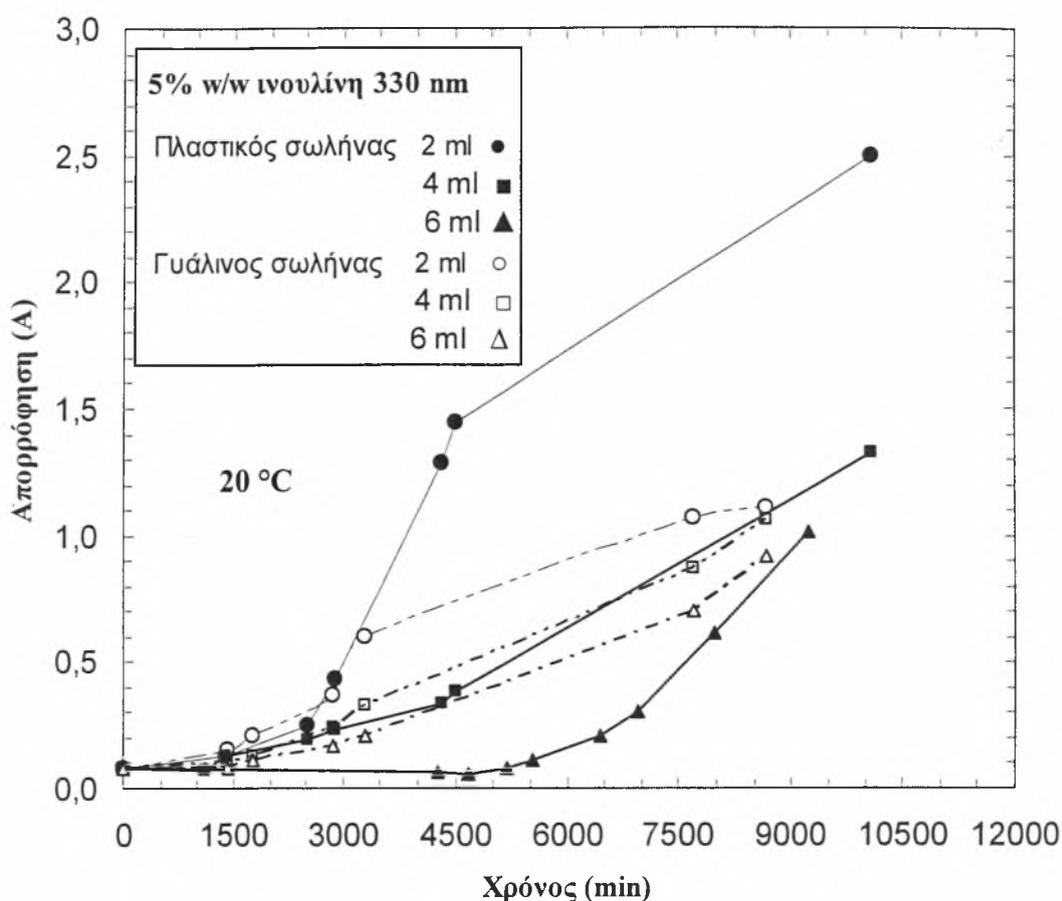
Συγκεκριμένα, παρατηρούμε ότι και στα διαφορετικών όγκων διαλύματα ινουλίνης ίδιας συγκέντρωσης (3.2.B.1.) και στο μικρό πλαστικό σωλήνα που περιέχει τις γυάλινες χάντρες (3.2.B.2.). Δηλαδή, στον πλαστικό σωλήνα μεγάλου μεγέθους η απορρόφηση του διαλύματος είναι μεγαλύτερη από αυτή του πλαστικού σωλήνα μικρού μεγέθους. Βέβαια, η αυξημένη απορρόφηση στο μεγάλο πλαστικό σωλήνα συνεπάγεται γρηγορότερη τάση στην εμφάνιση θολερότητας και άρα κρυστάλλων. Αυτό συμβαίνει επειδή ο μεγάλος πλαστικός σωλήνας έχει μεγαλύτερη διάμετρο και άρα μεγαλύτερη επιφανειακή τάση. Η μεγαλύτερη επιφανειακή τάση σημαίνει μεγαλύτερη διεπιφάνεια. Το αποτέλεσμα είναι ότι και σε αυτή την περίπτωση ενεργοποιείται γρήγορα ο σχηματισμός κρυστάλλων λόγω του φαινομένου της πυρήνωσης που αναφέραμε παραπάνω.

3.2.Γ. Επίδραση των υλικών συσκευασίας ή υλικών συσκευών επεξεργασίας στην κρυστάλλωση της ινουλίνης

3.2.Γ.1. Επίδραση του υλικού του δοκιμαστικού σωλήνα στην κρυστάλλωση της ινουλίνης

Συνεχίζοντας τα πειράματα θέλαμε να διαπιστώσουμε αν η φύση του υλικού των δοκιμαστικών σωλήνων στους οποίους αποθηκεύσαμε τα διαλύματά μας επιδρά στην ενεργοποίηση του φαινομένου της πυρήνωσης.

Κατά τη διάρκεια της κρυστάλλωσης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, 2, 4 και 6 mL ινουλίνης με συγκέντρωση 5% w/w σε πλαστικούς σωλήνες μικρού μεγέθους και σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες, παρατηρήσαμε μεταβολές στην απορρόφηση, όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα 8.



Σχήμα 8: Μεταβολή της απορρόφησης A (330 nm), κατά τη διάρκεια κρυστάλλωσης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (20 °C), 5% w/w ινουλίνης με όγκους των 2, 4 και 6 mL σε πλαστικό σωλήνα μικρού μεγέθους και σε γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα.

Συγκεκριμένα, παρατηρούμε ότι στο πλαστικό είναι πιο αυξημένη η απορρόφηση σε σχέση με το γυαλί, σε μικρούς όγκους διαλυμάτων (2 mL) της ίδιας συγκέντρωσης, το οποίο συνεπάγεται την εμφάνιση θολερότητας και άρα κρυστάλλων με πιο γρήγορο ρυθμό. Το φαινόμενο αυτό αντιστρέφεται σε διαλύματα μεγαλύτερων όγκων (6 mL), δηλαδή, το διάλυμα στο γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα εμφανίζει γρηγορότερο ρυθμό κρυστάλλωσης.

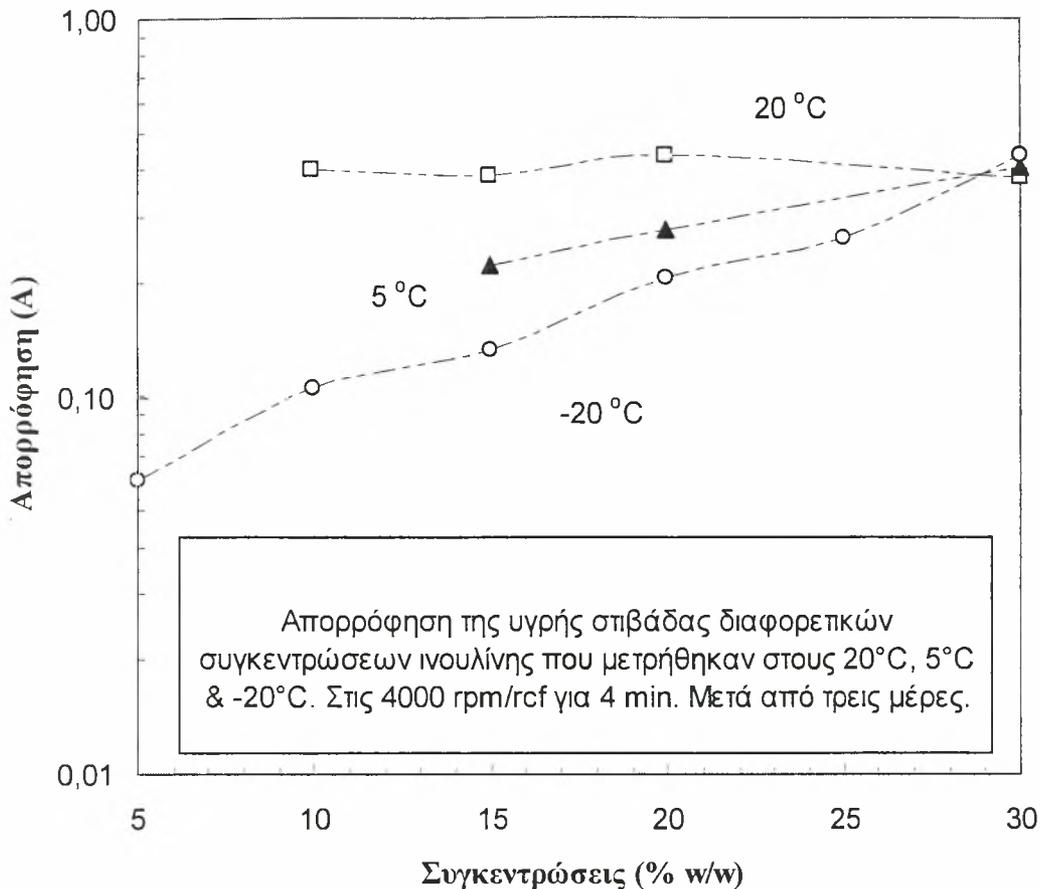
Προφανώς, το υλικό (γυαλί ή πλαστικό) έχει διαφορετική επίδραση στην κρυστάλλωση της ινουλίνης. Έχουμε ενδείξεις ότι το πλαστικό που είναι πολυμερές και το γυαλί που είναι άμορφη μάζα πρέπει να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην ενεργοποίηση του σχηματισμού κρυστάλλων λόγω του φαινομένου της πυρήνωσης.

3.2.Δ. Επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης (περιβάλλοντος, ψύξης και κατάψυξης) στην κρυστάλλωση της ινουλίνης

3.2.Δ.1. Επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης (περιβάλλοντος, ψύξης και κατάψυξης) στο σχηματισμό των πηκτών ινουλίνης

Σ' αυτό το πειραματικό μέρος θέλαμε να παρατηρήσουμε την επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης στην κρυστάλλωση των διαλυμάτων της ινουλίνης.

Τα αποτελέσματα που πήραμε (μετά από φυγοκέντρηση στις 4000 rpm/rcf για τέσσερα λεπτά) από την παρατήρηση της μεταβολής της απορρόφησης στα 330 nm, κατά τη διάρκεια αποθήκευσης για τρεις μέρες στο περιβάλλον, το ψυγείο (5 °C) και την κατάψυξη (-20 °C), διαλυμάτων ινουλίνης συγκέντρωσης 3, 5, 10, 15, 20, 25 και 30 % w/w φαίνονται στο παρακάτω σχήμα 9.



Σχήμα 9: Μεταβολή της απορρόφησης A (330 nm) της φυγοκεντρημένης στις 4000 rpm/gcf υπερκείμενης υγρής σπιβάδας, κατά τη διάρκεια αποθήκευσης για τρεις μέρες στο περιβάλλον (□), το ψυγείο (5 °C) (▲) και την κατάψυξη (-20 °C) (○), για διαλύματα ινουλίνης συγκεντρώσεων (% w/w) των 3, 5, 10, 15, 20, 25 και 30.

Παρατηρούμε ότι κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης χαμηλής συγκέντρωσης διαλυμάτων ινουλίνης στην κατάψυξη η απορρόφηση είναι μειωμένη σε σχέση με αυτά που αποθηκεύτηκαν στο ψυγείο και το περιβάλλον. Όμως, σε υψηλές συγκεντρώσεις η απορρόφηση αυξάνεται και άρα επιταχύνεται ο σχηματισμός κρυστάλλων.

Στο ψυγείο, η μεταβολή της απορρόφησης και συνεπώς ο ρυθμός της κρυστάλλωσης αυξάνεται βαθμιαία, ενώ οι τιμές της απορρόφησης είναι υψηλότερες σε σύγκριση με αυτές της κατάψυξης.

Επίσης, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, η μεταβολή της απορρόφησης αν και είναι υψηλότερη από αυτή του ψυγείου και της κατάψυξης, παραμένει σταθερή στο

χρονικό διάστημα των τριών ημερών. Δηλαδή, σε χαμηλές συγκεντρώσεις διαλυμάτων ινουλίνης που αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος η κρυστάλλωση είναι πιο έντονη από τα αντίστοιχα διαλύματα που αποθηκεύτηκαν στο ψυγείο και την κατάψυξη.

Διαπιστώνουμε, ακόμη, όπως έχουμε αποδείξει, ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της ινουλίνης αυξάνεται η απορρόφηση και έτσι ενεργοποιείται το φαινόμενο της κρυστάλλωσης. Επίσης, σε υψηλή συγκέντρωση διαλυμάτων ινουλίνης (30% w/w) παρατηρήσαμε ίδια τιμή απορρόφησης και επομένως ίδιο ρυθμό κρυστάλλωσης ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία αποθήκευσης.

Θα προσπαθήσουμε να δούμε την επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης στο ρυθμό σχηματισμού των πηκτών ινουλίνης. Ας εξετάσουμε σταδιακά, όμως, την επίδραση αυτού του παράγοντα από το στάδιο της παρασκευής μέχρι και την αποθήκευση.

Πριν το σχηματισμό της πηκτής, το διάλυμα ινουλίνης είχε ένα διαυγές χρώμα. Καθώς έπεφτε η θερμοκρασία, το διάλυμα ινουλίνης άρχισε να σχηματίζει αργά πηκτή. Μετά από ένα συγκεκριμένο χρόνο πήξης, το διάλυμα ινουλίνης σχημάτισε άσπρη πηκτή. Όπως αναφέραμε, ο χρόνος πήξης για την πηκτή ινουλίνης διαφέρει ανάλογα με τη συγκέντρωση, τη θερμοκρασία θέρμανσης και αποθήκευσης (Y. Kim et al., 2001).

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι οι πρωταρχικοί μεγάλοι κρύσταλλοι ινουλίνης που σχηματίζονται σε υψηλές θερμοκρασίες έχουν μία χαμηλή αναλογία επιφάνειας προς μάζα και έτσι σχετικά λίγα σημεία επαφής, οδηγώντας σε μαλακές αλλά εύπλαστες πηκτές (A. Bot et al., 2004).

Παρατηρώντας τα δείγματά μας διαπιστώσαμε ότι όσον αφορά στη συγκέντρωση, διαλύματα με χαμηλές συγκεντρώσεις της τάξης του 3 και 5% w/w δεν έδειξαν καμία δομή πηκτής στο χρονικό διάστημα της μίας ημέρας που αφέθηκαν για να στερεοποιηθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Αυτό το γεγονός δείχνει ότι πρέπει να υπάρχει μια κριτική συγκέντρωση ινουλίνης για το σχηματισμό δομής πηκτής (Y. Kim et al., 2001).

Σε λίγο πιο υψηλές συγκεντρώσεις ινουλίνης (10 και 15% w/w), παρατηρήσαμε πιο γρήγορη εμφάνιση κρυστάλλων. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, για τις συγκεκριμένες συγκεντρώσεις υπάρχει ο παραλληλισμός των κρυστάλλων ινουλίνης με δίκτυο κρυστάλλων λίπους. Σύμφωνα με αυτόν τον παραλληλισμό ‘οι πρωταρχικοί δεσμοί’ αντικαθίστανται από ‘δευτερεύοντες δεσμούς’ (van der Waals συνδέσεις μεταξύ των κρυστάλλων), πράγμα που οδηγεί στο σχηματισμό ενός εύπλαστου δικτύου. Δηλαδή, απομακρύνονται οι πυρήνες κρυστάλλων, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα πολύ μεγαλύτερους κρυσταλλίτες, που οδηγούν σε λιγότερα σημεία επαφής ανάμεσα στους κρυστάλλους και σε πολύ μαλακές δομές (**A. Bot et al., 2004; P. Giannouli et al., 2004**).

Σε υψηλές συγκεντρώσεις ινουλίνης (20, 25 και 30% w/w) παρατηρήθηκαν πιο συμπαγείς δομές (**A. Bot et al., 2004**). Έχει βρεθεί ότι η υφή αυτών των πηκτών είναι παρόμοια με αυτή του βουτύρου ή του γιαουρτιού (**Y. Kim et al., 2001**).

Όσον αφορά στη θερμοκρασία αποθήκευσης, παρατηρήσαμε ότι στην *κατάψυξη* αναπτύσσονται μικρότεροι κρύσταλλοι ινουλίνης, γιατί η διόγκωση των κρυστάλλων του πάγου δεν αφήνει περιθώριο στους κρυστάλλους ινουλίνης να αναπτυχθούν. Αντίθετα, στο *ψυγείο* αναπτύσσονται μεγαλύτεροι κρύσταλλοι ινουλίνης, σε σύγκριση με την κατάψυξη, λόγω του ότι δεν σχηματίζονται κρύσταλλοι πάγου. Επίσης, στο ψυγείο το διάλυμα ψύχεται με βραδύ ρυθμό οπότε οι κρύσταλλοι έχουν το χρόνο να αναπτυχθούν πριν τα νέα ενεργά κέντρα κρυστάλλωσης εμφανιστούν στο διάλυμα (Σχήμα 9) (**Σ. Λιοδάκης, 2001; P. Giannouli, E.R. Morris, 2003**). Μόνο που στη συγκέντρωση 30% w/w διαλύματος ινουλίνης παρατηρήσαμε την ίδια συμπεριφορά ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία αποθήκευσης.

Η πηκτή ινουλίνης που κατασκευάστηκε στο ψυγείο και την κατάψυξη δείχνει σχετικά μικρότερα και περισσότερο ομοιόμορφα μεγέθη σωματιδίων, ορατών με το μάτι, σε σύγκριση με τις πηκτές που κατασκευάστηκαν σε *θερμοκρασία περιβάλλοντος*. Έχει βρεθεί από πρόσφατες έρευνες ότι το μέσο μέγεθος των κρυστάλλων πηκτών ινουλίνης του ψυγείου και της κατάψυξης είναι περίπου δέκα

φορές μικρότερο από το μέγεθος κρυστάλλων πηκτής που κατασκευάστηκε στο περιβάλλον (Y. Kim et al., 2001). Έτσι, απότομες αλλαγές στη θερμοκρασία ευνοούν το σχηματισμό μικροκρυστάλλων, αφού η διαλυτότητα επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τη θερμοκρασία (Σ. Λιοδάκης, 2001).

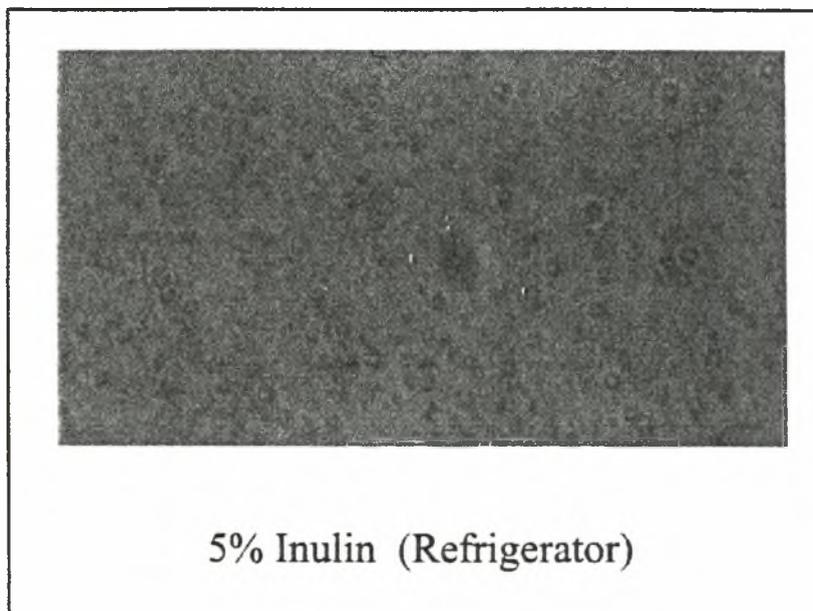
Η πηκτή που αποτελείται από συσσωματώματα κρυστάλλων με μικρότερα μεγέθη έχει ισχυρότερη δομή από αυτή με μεγαλύτερα συσσωματώματα κρυστάλλων, υποθέτοντας την ίδια πυκνότητα και για τις δύο (Y. Kim et al., 2001). Έτσι, το μικρότερο μέγεθος των συσσωματωμάτων των κρυστάλλων ινουλίνης στις πηκτές του ψυγείου και της κατάψυξης μπορεί να αποτελεί την αιτία της ομαλότερης υφής και υψηλότερης μηχανικής ισχύος σε σύγκριση με τις πηκτές που κατασκευάστηκαν στο περιβάλλον.

Ένας άλλος παράγοντας μπορεί να είναι και η διανομή των μεγεθών των κρυστάλλων. Πιστεύεται ότι μια ευρεία διανομή στις πηκτές ψυγείου και κατάψυξης οδηγεί σε αυξημένη πιθανότητα αδύνατων σημείων στη δομή. Αντίθετα, στην πηκτή του περιβάλλοντος παρατηρήθηκε μια στενότερη διανομή μεγεθών κρυστάλλων (Y. Kim et al., 2001).

3.2.Δ.2. Παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο

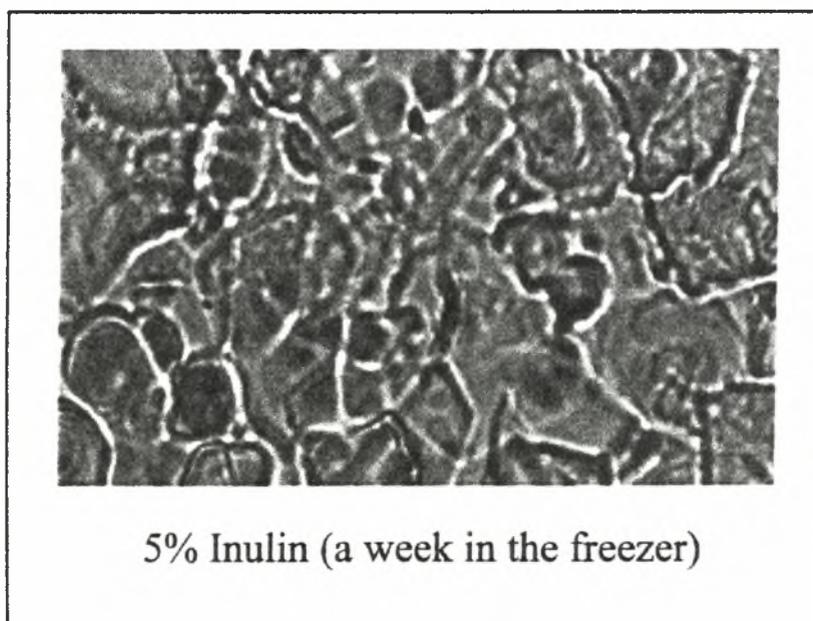
Σε 5% w/w συγκέντρωση ινουλίνης, κατά τη διάρκεια αποθήκευσης για τρεις μέρες στο περιβάλλον, το ψυγείο (5 °C) και την κατάψυξη (-20 °C) παρατηρήσαμε, με τη βοήθεια του οπτικού μικροσκοπίου, μεταβολές στη δομή, όπως φαίνεται στις παρακάτω εικόνες 3.1. και 3.2.

Συγκεκριμένα, αμέσως μετά την ψύξη των θερμών διαλυμάτων σε θερμοκρασία περιβάλλοντος τοποθετήσαμε λίγα mL από το διάλυμα της 5% w/w ινουλίνης στο ψυγείο. Μετά από τρεις ημέρες παρατηρήσαμε τη δομή του δείγματος με το οπτικό μικροσκόπιο, όπως φαίνεται στην εικόνα 3.1.



Εικόνα 3.1.: Μεταβολή της δομής διαλύματος 5% w/w ινουλίνης, κατά τη διάρκεια αποθήκευσης για τρεις μέρες στο ψυγείο (5 °C).

Ακολουθώντας την ίδια διαδικασία, τοποθετήσαμε ίση ποσότητα από το ίδιο δείγμα 5% w/w ινουλίνης στην κατάψυξη. Μετά την παραμονή για επτά μέρες στην κατάψυξη τοποθετήσαμε το δείγμα στο ψυγείο για να ξεπαγώσει και μετά από ακόμη μία ημέρα το βγάλαμε από το ψυγείο και παρατηρήσαμε τη δομή του δείγματος με το οπτικό μικροσκόπιο, όπως φαίνεται στην εικόνα 3.2.



Εικόνα 3.2.: Μεταβολή της δομής διαλύματος 5% w/w ινουλίνης, κατά τη διάρκεια αποθήκευσης για μία εβδομάδα στην κατάψυξη (-20 °C).

Παρατηρήσαμε στο μικροσκόπιο ότι η παραμονή διαλυμάτων ινουλίνης στην κατάψυξη για μεγάλο χρονικό διάστημα έχει ως αποτέλεσμα την αρχή δημιουργίας δικτύου πηκτής, η οποία μπορεί να οφείλεται στους εξής τρεις λόγους.

Τα ίχνη που φαίνονται στην εικόνα 3.2. ίσως είναι αποτυπώματα από κρυστάλλους πάγου που έλιωσαν κατά την απόψυξη.

Η μείωση της θερμοκρασίας ευνοεί τους κρυστάλλους του πάγου να αυξηθούν σε όγκο. Αυτό αναγκάζει τα μόρια της ινουλίνης να έρθουν πιο κοντά αναπτύσσοντας ασθενείς δεσμούς υδρογόνου (**L. Vervoort et al., 1998**). Αυτοί οι δεσμοί, όπως φαίνεται, διατηρούνται μετά το λιώσιμο του πάγου και έτσι εμφανίζεται η αρχή δημιουργίας πηκτής.

Κατά την αποθήκευση των δειγμάτων στην κατάψυξη, συμβαίνουν μεταβολές όπως είναι η πέψη, η ωρίμανση και η γήρανση οι οποίες επηρεάζουν τόσο το σχήμα όσο και το μέγεθος των μικροκρυστάλλων της ινουλίνης.

Αναλυτικότερα, **πέψη ή χώνευση (digestion)** είναι η διαδικασία κατά την οποία ένα κρυσταλλικό ή κολλοειδές ίζημα αφήνεται για κάποιο χρονικό διάστημα με το μητρικό διάλυμα (π.χ. 1 ώρα ή περισσότερο). Κατά τη χώνευση οι μικροί κρύσταλλοι διαλύονται, σχηματίζονται νέοι μεγαλύτεροι, οπότε ο κρύσταλλος τελειοποιείται.

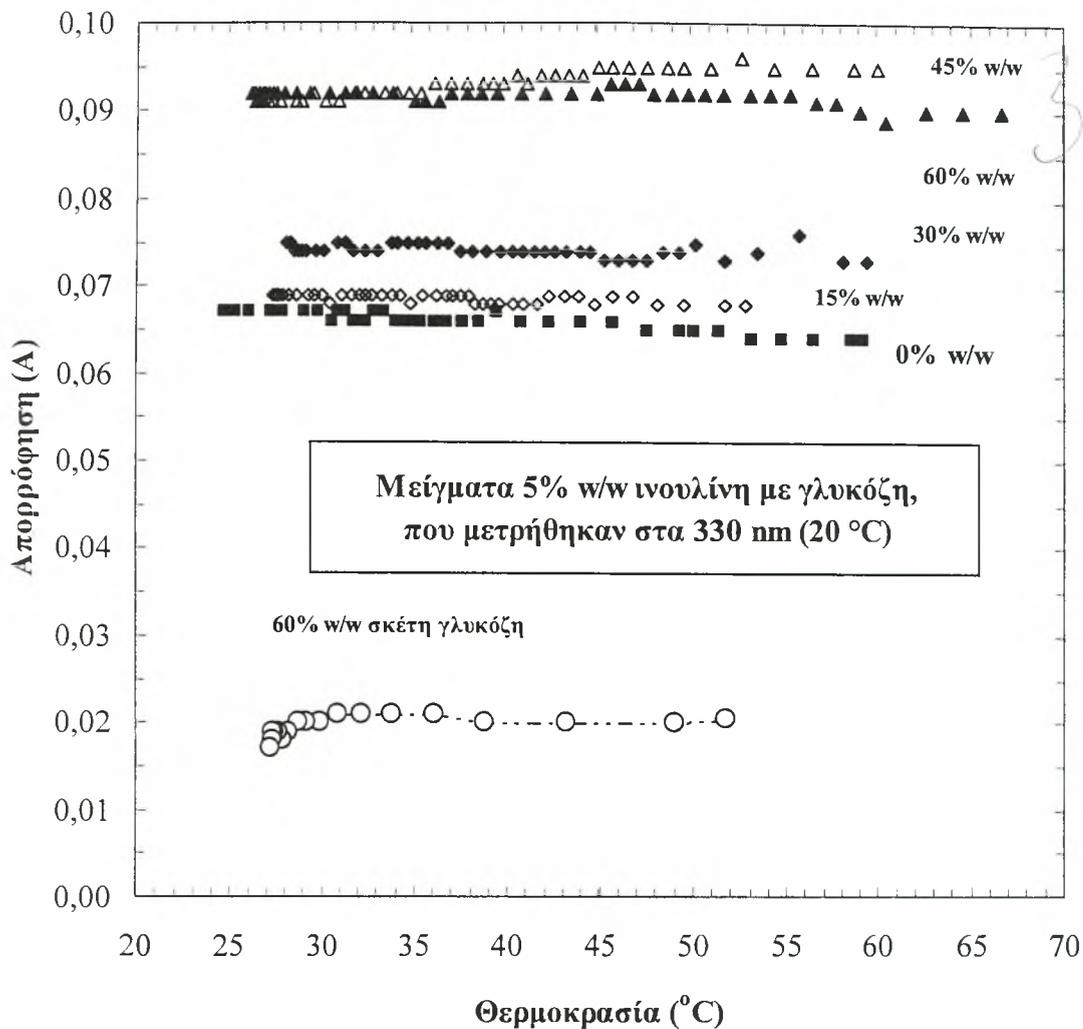
Ωρίμανση (ripening) είναι η διεργασία κατά την οποία αυξάνεται το μέγεθος των κρυστάλλων. Οι μικροί κρύσταλλοι διαλύονται καθώς έχουν μεγαλύτερη διαλυτότητα από τους αντίστοιχους μεγάλους και καταβυθίζονται μεγαλύτεροι κρύσταλλοι. Κατ' αυτόν τον τρόπο βελτιώνεται η καθαρότητα και η κρυσταλλικότητα των ιζημάτων.

Γήρανση (aging) είναι η μεταβολή των ιδιοτήτων ενός κρυστάλλου κατά την παραμονή του, όπως η απώλεια νερού, η ανάπτυξη μεγαλύτερων κρυστάλλων με ανακρυστάλλωση μικρότερων (**Σ. Λιοδάκης, 2001**).

3.2.Ε. Επίδραση συνδιαλυτών στην κρυστάλλωση της ινουλίνης

Η επίδραση των συνδιαλυτών είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας στο σχηματισμό πηκτών. Γι' αυτό το λόγο θέλαμε να μελετήσουμε την επίδραση των συνδιαλυτών (γλυκόζη, κρυσταλλική ζάχαρη, φρουκτόζη) στην κρυστάλλωση της ινουλίνης.

Σε 15, 30, 45 και 60% w/w συγκέντρωση μειγμάτων κρυσταλλικής ζάχαρης, φρουκτόζης και γλυκόζης με 5% w/w ινουλίνη, κατά τη διάρκεια ψύξης από τους 70 στους 20 °C, παρατηρήσαμε διαφορετική συμπεριφορά του καθενός από τους συνδιαλύτες αυτούς στο σχηματισμό πηκτής, όπως φαίνεται στα παρακάτω σχήματα 10, 11 και 12.

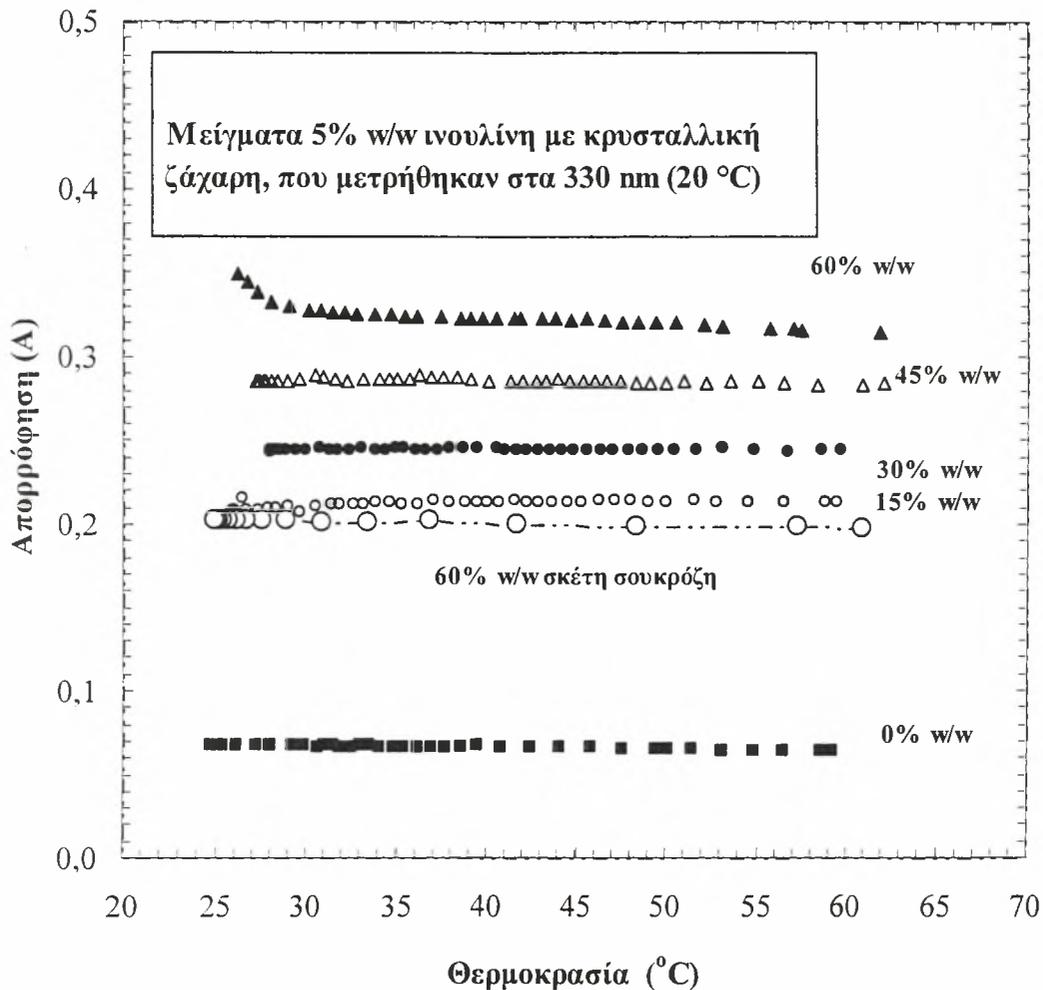


Σχήμα 10: Μεταβολή της απορρόφησης A (330 nm), κατά τη διάρκεια ψύξης από τους 65 στους 25 °C, για 5% w/w ινουλίνη χωρίς (■) ή και παρουσία συνδιαλύτη γλυκόζης με συγκεντρώσεις (% w/w) των 15 (◇), 30 (◆), 45 (△) και 60 (▲).

Κατά την προσθήκη διαφορετικών συγκεντρώσεων του συνδιαλύτη γλυκόζης σε διάλυμα 5% w/w ινουλίνης, παρατηρούμε τα εξής :

1. Στους 25 °C καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του συνδιαλύτη αυξάνεται και η απορρόφηση των μειγμάτων γλυκόζης - 5% w/w ινουλίνης.
2. Κατά την ελάττωση της θερμοκρασίας από τους 65 στους 25 °C, για κάθε μείγμα γλυκόζης - 5% w/w ινουλίνης, η απορρόφηση παραμένει σταθερή.

Έτσι, η γλυκόζη φαίνεται ότι δεν έχει επίδραση στο σχηματισμό κρυστάλλων ινουλίνης, αφού δεν παρουσιάζει καμία μεταβολή στην απορρόφηση (σταθερή γύρω στο 0,100 A).



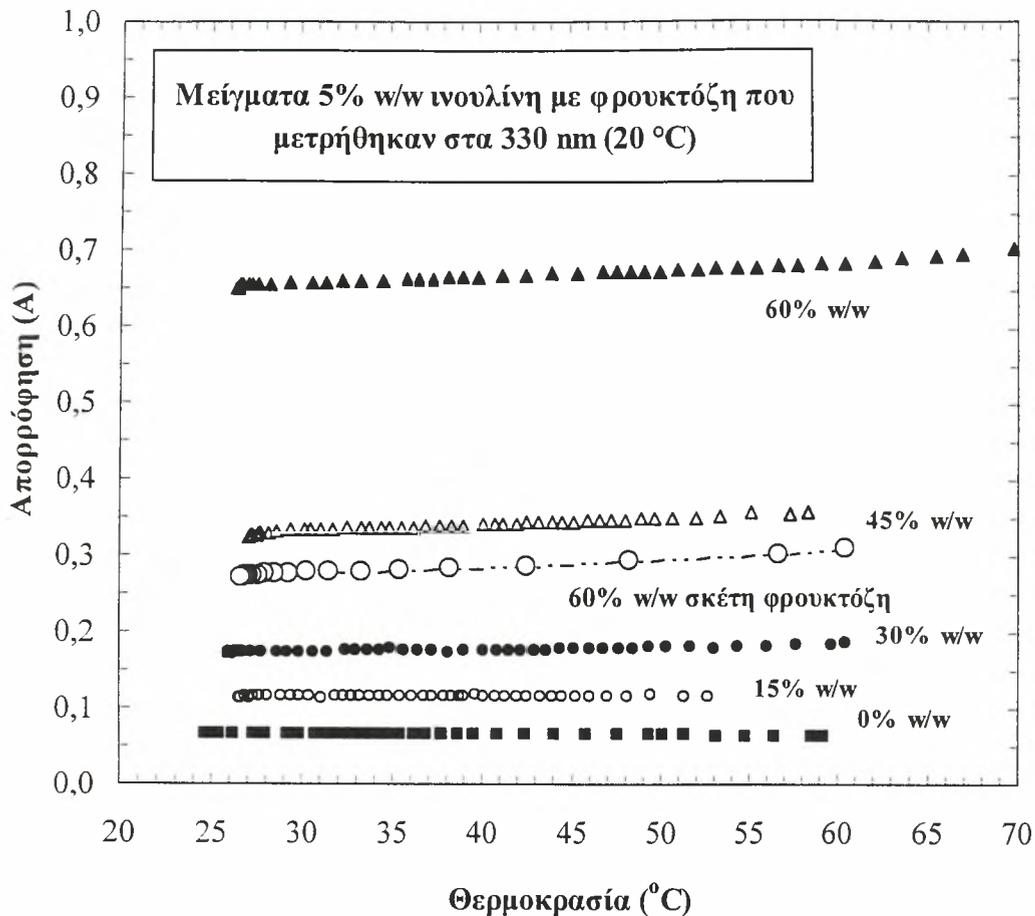
Σχήμα 11: Μεταβολή της απορρόφησης A (330 nm), κατά τη διάρκεια ψύξης από τους 65 στους 25 °C, για 5% w/w ινουλίνη χωρίς (■) ή και παρουσία συνδιαλυτή κρυσταλλικής ζάχαρης με συγκεντρώσεις (% w/w) των 15 (○), 30 (●), 45 (△) και 60 (▲).

Κατά την προσθήκη διαφορετικών συγκεντρώσεων του συνδιαλύτη κρυσταλλικής ζάχαρης σε διάλυμα 5% w/w ινουλίνης, παρατηρούμε τα εξής :

1. Στους 25 και 60 °C καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του συνδιαλύτη αυξάνεται και η απορρόφηση των μειγμάτων κρυσταλλικής ζάχαρης - 5% w/w ινουλίνης.

2. Κατά την ελάττωση της θερμοκρασίας από τους 65 στους 25 °C, για κάθε μείγμα, η απορρόφηση παραμένει σταθερή εκτός από μία απότομη αύξηση της απορρόφησης που αρχίζει να εμφανίζεται στους 27 °C στη συγκέντρωση ινουλίνης 60% w/w.

Έτσι, σε υψηλή συγκέντρωση κρυσταλλικής ζάχαρης (60% w/w), αυξάνεται η απορρόφηση (μέχρι 0,350 A) και άρα ευνοείται η εμφάνιση κρυστάλλων. Φαίνεται ότι η κρυσταλλική ζάχαρη επιταχύνει το φαινόμενο της κρυστάλλωσης της ινουλίνης. Δηλαδή, σε υψηλές συγκεντρώσεις κρυσταλλικής ζάχαρης υπερισχύει η κρυσταλλική ζάχαρη και όλο το σύστημα συμπεριφέρεται σαν να είναι κρυσταλλική ζάχαρη.



Σχήμα 12: Μεταβολή της απορρόφησης A (330 nm), κατά τη διάρκεια ψύξης από τους 60 στους 25 °C, για 5% w/w ινουλίνη χωρίς (■) ή και παρουσία συνδιαλυτή φρουκτόζης με συγκεντρώσεις (% w/w) των 15 (◊), 30 (◆), 45 (Δ) και 60 (▲).

Κατά την προσθήκη διαφορετικών συγκεντρώσεων του συνδιαλυτή φρουκτόζης σε διάλυμα 5% w/w ινουλίνης, παρατηρούμε τα εξής :

1. Στους 25 και 60 °C καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του συνδιαλυτή αυξάνεται και η απορρόφηση των μειγμάτων φρουκτόζης - 5% w/w ινουλίνης.

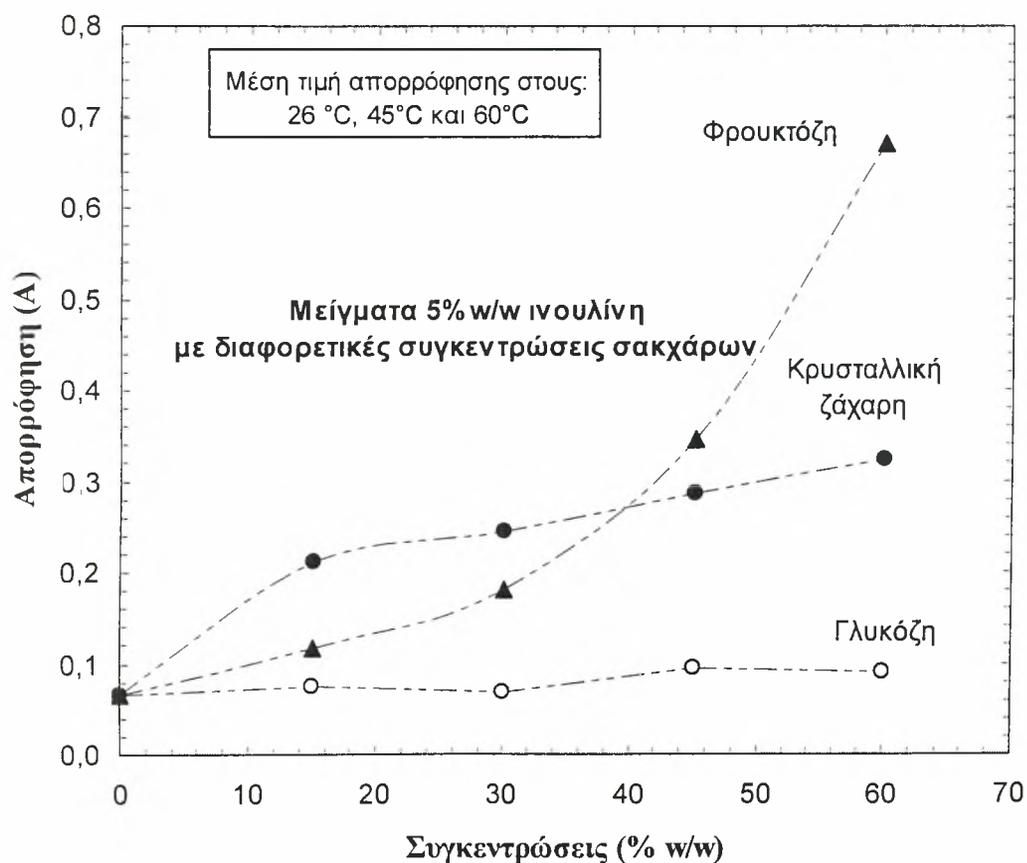
2. Κατά την ελάττωση της θερμοκρασίας από τους 60 στους 25 °C, για κάθε μείγμα, η απορρόφηση παραμένει σταθερή εκτός από μία μια πτωτική τάση της απορρόφησης που εμφανίζεται στις συγκεντρώσεις 5% w/w ινουλίνης με 45 και 60% w/w φρουκτόζης.

Σε υψηλή συγκέντρωση φρουκτόζης αρχίζει να μειώνεται η απορρόφηση (από 0,700 A). Έχουμε, δηλαδή, ενδείξεις ότι υπερिσχύει η φρουκτόζη έναντι της

ινουλίνης. Με άλλα λόγια, η φρουκτόζη δρα εμποδίζοντας (ανάλογα με τη διαμόρφωσή της στο χώρο) το σχηματισμό συσσωματωμάτων κρυστάλλων ινουλίνης.

Γενικά, συγκρίνοντας τη συμπεριφορά των συνδιαλυτών αυτών ως προς την επίδρασή τους στο σχηματισμό πηκτής ινουλίνης είδαμε ότι οι τιμές της απορρόφησης των μειγμάτων κρυσταλλικής ζάχαρης - 5% w/w ινουλίνης είναι διπλάσιες από αυτές των μειγμάτων γλυκόζης - 5% w/w ινουλίνης. Επίσης, οι τιμές της απορρόφησης των μειγμάτων φρουκτόζης - 5% w/w ινουλίνης είναι σχεδόν τριπλάσιες από αυτές των μειγμάτων γλυκόζης - 5% w/w ινουλίνης.

Το σχήμα 13 που δείχνει τη μεταβολή της απορρόφησης για 5% w/w ινουλίνη παρουσία συνδιαλύτη με συγκεντρώσεις των 15, 30, 45 και 60% w/w στους 60, 45 και 26 °C, επιβεβαιώνει τα παραπάνω αποτελέσματα.



Σχήμα 13: Μεταβολή της απορρόφησης A (330 nm) στους 60, 45 και 26 °C για 5% w/w ινουλίνη παρουσία συνδιαλύτη γλυκόζης (◊), κρυσταλλικής ζάχαρης (◆) και φρουκτόζης (▲) με συγκεντρώσεις (% w/w) των 15, 30, 45 και 60.

Όντως υπάρχει διαφορετική συμπεριφορά της γλυκόζης, της κρυσταλλικής ζάχαρης και της φρουκτόζης. Μάλιστα αυτό διαφαίνεται από το ότι το σχήμα της καμπύλης είναι διαφορετικό για τα μείγματα των τριών συνδιαλυτών.

Η επίδραση της θερμοκρασίας μπορεί να αγνοηθεί κατά τη διάρκεια της συσσωμάτωσης των κρυστάλλων καθώς όλα τα διαλύματα ινουλίνης με τον προστιθέμενο συνδιαλύτη αφέθηκαν να ψυχθούν φυσιολογικά και με τον ίδιο τρόπο σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (Y. Kim et al., 2001; S. de Gennaro et al., 2000).

4. ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ινουλίνη είναι ένας πολυσακχαρίτης χαμηλού μοριακού βάρους που λόγω της διαμόρφωσής της μπορεί να κρυσταλλωθεί εύκολα σε ένυδρα διαλύματα. Η παρουσία τριών γλυκοσιδικών δεσμών στο μόριο της, της προσδίδει μία ασυνήθιστα μεγάλη για πολυσακχαρίτη ελαστικότητα (P. Giannouli et al., 2004).

Μελετώντας τη συμπεριφορά διαλυμάτων ινουλίνης διαφορετικών συγκεντρώσεων ως προς τη θερμοκρασία και το χρόνο, καταλήξαμε ότι χρειάζεται ένα ελάχιστο απαιτούμενης συγκέντρωσης (15% w/w) για το σχηματισμό πηκτής κατά τη διάρκεια της ψύξης θερμών διαλυμάτων σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Έτσι, οι χαμηλές συγκεντρώσεις ινουλίνης (3, 5, 10% w/w), δεν ευνοούν το σχηματισμό πηκτής κατά τη διάρκεια ψύξης από τους 60 στους 20 °C. Και αυτό γιατί σε χαμηλές συγκεντρώσεις ινουλίνης δημιουργούνται μεγαλύτεροι κρύσταλλοι, γεγονός που οδηγεί σε λιγότερα σημεία επαφής ανάμεσα στους κρυστάλλους (van der Waals και δεσμοί υδρογόνου) και επομένως σε πολύ αδύναμες δομές.

Όμως, στις υψηλές συγκεντρώσεις ινουλίνης (20, 25 και 30% w/w) επιταχύνεται το φαινόμενο της κρυστάλλωσης. Δηλαδή, οι πιο συμπυκνωμένες πηκτές ινουλίνης είναι πιο συμπαγείς καθώς ο αριθμός των συσσωματωμάτων κρυστάλλων αυξάνεται.

Ο ρόλος της θερμοκρασίας είναι καθοριστικός κατά το σχηματισμό πηκτών ινουλίνης. Συγκεκριμένα κατά την ψύξη θερμών διαλυμάτων δημιουργούνται αρχικά κρύσταλλοι και στη συνέχεια συσσωματώματα κρυστάλλων ινουλίνης λόγω του ότι η κινητική ενέργεια των μορίων της ινουλίνης είναι πολύ μικρότερη.

Αποδείξαμε ότι ο όγκος των διαλυμάτων ινουλίνης ίδιας συγκέντρωσης είναι αντιστρόφως ανάλογος του ρυθμού της κρυστάλλωσης. Δηλαδή, όσο πιο μικρός είναι ο όγκος τόσο μεγαλύτερη είναι η επιφανειακή τάση, το οποίο σημαίνει μεγαλύτερη διεπιφάνεια μεταξύ τόσο του στερεού τοιχώματος του σωλήνα και του υγρού όσο και αέρα – υγρού. Αυτό συνεπάγεται στη γρηγορότερη ενεργοποίηση του σχηματισμού κρυστάλλων μέσω της πυρήνωσης (nucleation).

Η παρουσία γυάλινων χαντρών και η μεγάλη διάμετρος του πλαστικού σωλήνα σε διαλύματα ιουλίνης ίδιας συγκέντρωσης και ίδιου όγκου έχουν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση κρυστάλλων με πιο γρήγορο ρυθμό. Και σ' αυτή την περίπτωση το φαινόμενο της πυρήνωσης μπορεί να αποδοθεί στη μεγαλύτερη επιφανειακή τάση το οποίο σημαίνει επιτάχυνση του σχηματισμού πηκτής.

Όσον αφορά στα υλικά συσκευασίας, έχουμε ενδείξεις για τη διαφορετική επίδραση του υλικού του δοκιμαστικού σωλήνα (γυαλί ή πλαστικό) στην κρυστάλλωση της ιουλίνης.

Όσον αφορά στην αποθήκευση των δειγμάτων ιουλίνης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ψυγείου και κατάψυξης, συνέβησαν μεταβολές όπως είναι η πέψη, η ωρίμανση και η γήρανση οι οποίες επηρέασαν τη δομή της πηκτής.

Στην κατάψυξη αναπτύσσονται μικρότεροι κρύσταλλοι ιουλίνης, εξαιτίας της διόγκωσης των κρυστάλλων του πάγου. Αντίθετα, στο ψυγείο αναπτύσσονται μεγαλύτεροι κρύσταλλοι ιουλίνης. Επίσης, παρατηρήσαμε στο μικροσκόπιο ότι η παραμονή διαλυμάτων ιουλίνης στην κατάψυξη έχει ως αποτέλεσμα την αρχή δημιουργίας δικτύου πηκτής.

Επίσης, οι πηκτές ιουλίνης που σχηματίστηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος παρουσίασαν μια πιο ανομοιογενή μορφή από τις πηκτές του ψυγείου και της κατάψυξης, στην ίδια συγκέντρωση ιουλίνης. Ακόμη, τα διαλύματα ιουλίνης που αποθηκεύτηκαν στους 20 °C εμφάνισαν πιο έντονη κρυστάλλωση σε χαμηλές συγκεντρώσεις από τα αντίστοιχα διαλύματα που αποθηκεύτηκαν στο ψυγείο και την κατάψυξη.

Αντίθετα, σε υψηλή συγκέντρωση διαλυμάτων ιουλίνης (30% w/w) παρατηρήσαμε ίδιο ρυθμό κρυστάλλωσης ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία αποθήκευσης.

Όσον αφορά στην επίδραση των συνδιαλυτών στην κρυστάλλωση της ιουλίνης έχουμε μόνο ενδείξεις για το διαφορετικό ρόλο τους στο φαινόμενο της πυρήνωσης και απαιτούνται περαιτέρω πειράματα για τεκμηριωμένα συμπεράσματα.

5. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΩΝ ΣΤΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Σκοπός της βιομηχανίας τροφίμων είναι η επαναληψιμότητα της καλής ποιότητας των προϊόντων που παρασκευάζει με όσο το δυνατόν μικρότερο κόστος. Όμως, η ινουλίνη εξαιτίας της διαμόρφωσής της θεωρείται πολυσακχαρίτης χαμηλού μοριακού βάρους με ασταθή συμπεριφορά.

Σ' αυτή τη διπλωματική διατριβή εξετάσαμε την επίδραση παραγόντων, όπως είναι η συγκέντρωση της ινουλίνης, η θερμοκρασία αποθήκευσης (περιβάλλοντος, κατάψυξης και ψύξης), οι διαφορετικοί όγκοι ινουλίνης ίδιας συγκέντρωσης, το υλικό συσκευασίας (γυαλί, πλαστικό), η προσθήκη συνδιαλυτών (κρυσταλλική ζάχαρη, φρουκτόζη, γλυκόζη), στο σχηματισμό πηκτής ινουλίνης. Με αυτό τον τρόπο προσπαθήσαμε να καθορίσουμε συνθήκες επαναληψιμότητας, κρατώντας σταθερούς ορισμένους από τους παράγοντες αυτούς και μεταβάλλοντας συγχρόνως κάποιους άλλους.

Αποδείξαμε ότι όσο μειώνεται η θερμοκρασία και αυξάνεται η συγκέντρωση των διαλυμάτων ινουλίνης τόσο αυξάνεται ο ρυθμός κρυστάλλωσης. Βέβαια, στη βιομηχανία τροφίμων η δημιουργία συσσωματωμάτων κρυστάλλων δεν είναι πάντοτε επιθυμητή και η ισχύς της πηκτής ινουλίνης εξαρτάται από το προϊόν που θέλουμε να παρασκευάσουμε. Έτσι, για την παρασκευή του γιαουρτιού θα χρειαστούμε χαμηλής συγκέντρωσης διαλύματα ινουλίνης, γιατί δεν θέλουμε τη δημιουργία μίας ισχυρής πηκτής. Αντίθετα, στα λουκάνικα όπου υπάρχει μερικώς αντικατάσταση του λίπους από ινουλίνη, χρησιμοποιούμε διάλυμα ινουλίνης υψηλής συγκέντρωσης. Με αυτό τον τρόπο θα δημιουργηθεί ισχυρή πηκτή η οποία θα προσδώσει στο προϊόν τον απαιτούμενο όγκο που χάθηκε κατά τη διάρκεια της αφαίρεσης του λίπους.

Επίσης, συμπεράναμε ότι η αποθήκευση διαλυμάτων ινουλίνης ίδιας συγκέντρωσης σε διαφορετικούς όγκους έχει αρνητικές επιπτώσεις στην επαναληψιμότητα των λειτουργικών ιδιοτήτων τους και επομένως η χρησιμοποίηση

των διαλυμάτων αυτών επηρεάζει την επαναληψιμότητα της ποιότητας των προϊόντων που περιέχουν αυτό το βιοπολυμερές.

Παρατηρήσαμε ότι το είδος του υλικού του δοχείου που περιέχει τα διαλύματα της ινουλίνης ίδιας συγκέντρωσης και ίδιου όγκου έχει επίδραση στο ρυθμό κρυστάλλωσης της ινουλίνης. Επομένως, υπάρχουν ενδείξεις ότι για την ασταθή συμπεριφορά της ινουλίνης που έχει παρατηρηθεί στις βιομηχανίες μπορεί να ευθύνονται τα υλικά των συσκευών επεξεργασίας, τα υλικά των δοχείων αποθήκευσης αλλά και τα υλικά συσκευασίας των τροφίμων.

Σε διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης διαλυμάτων ινουλίνης ίδιας συγκέντρωσης, ίδιου όγκου, σε δοχεία ίδιου υλικού και για ίση χρονική διάρκεια παρατηρείται διαφορετικός ρυθμός κρυστάλλωσης και επομένως διαφορετική συμπεριφορά των διαλυμάτων αυτών κατά την παρασκευή προϊόντων.

Γενικά, τα τρόφιμα είναι πολυσύνθετα και πολυφασικά. Αποτελούνται από περισσότερα από ένα συστατικά και επομένως η συγκέντρωση της ινουλίνης που θα χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή κάποιου προϊόντος εξαρτάται από το είδος, τη φύση και την ποιότητα των υπόλοιπων συστατικών των τροφίμων.

Λαμβάνοντας υπόψη τις εφαρμογές των συμπερασμάτων της έρευνας αυτής στη βιομηχανία τροφίμων, δίνονται ορισμένες λύσεις στα προβλήματα που δημιουργούνται από την ασταθή συμπεριφορά της ινουλίνης κατά τη χρησιμοποίησή της στην παρασκευή τροφίμων άριστης και επαναλήψιμης ποιότητας.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Andre, I., Putaux, J.L., Chanzy, H., Taravel, F. R., Timmermans, J.W. & de Wit, D. (1996). Single crystals of inulin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 18, 195-204.
- 2) Baldini, M., Danuso, F., Turi, M. & Vannozzi G. P. (2004). Evaluation of new clones of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) for inulin and sugar yield from stalks and tubers. *Industrial Crops and Products*, 19, 25–40.
- 3) Bot, A., Erle, U., Vreeker, R. & Agterof W. G. M. (2004). Influence of crystallisation conditions on the large deformation rheology of inulin gels. *Food Hydrocolloids*, 18, 547–556.
- 4) Brennan, C. S., Kuri, V. & Tudorica C. M. (2004). Inulin-enriched pasta: effects on textural properties and starch degradation. *Food Chemistry*, 86, 189–193.
- 5) Carabin, I. G. W. & Flamm, G. (1999). Evaluation of Safety of Inulin and Oligofructose as Dietary Fiber. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 30, 268–282.
- 6) de Gennaro, S., Birch, G. G., Parke, S. A. & Stancher, B. (2000). Studies on the physicochemical properties of inulin and inulin oligomers. *Food Chemistry*, 68, 179-183.
- 7) Den Hond, E., Geypens, B. & Ghoois, Y. (2000). Effect of high performance chicory inulin on constipation. *Nutrition Research*, 20 (5), 731-736.

- 8) Dickinson, E. (1991). Food Polymers Gels and Colloids. *Royal Society of Chemistry, Cambridge*.
- 9) Giannouli, P. & Morris, E.R. (2003). Cryogelation of xanthan. *Food Hydrocolloids*, 17, 495–501.
- 10) Giannouli, P., Richardson, R.K. & Morris, E.R. (2004). Effect of polymeric cosolutes on calcium pectinate gelation. Part 2. Dextrans and inulin. *Carbohydrate Polymers*, 55, 357–365.
- 11) Griffin, I. J., Hicks, P. M. D., Heaney, R. P. & Abrams, S.A. (2003). Enriched chicory inulin increases calcium absorption mainly in girls with lower calcium absorption. *Nutrition Research*, 23, 901–909.
- 12) Hansen, L.L., Agerhem, H., Rosenvold, K. & Jensen, M.T. (2002). Effect of Brussels sprouts and inulin/rape seed cake on the sensory profile of pork *M. longissimus dorsi*. *Meat Science*, 61, 441–448.
- 13) Harris, P. (1990). Food gels. *Elsevier Applied Science, Barking, Essex, England*.
- 14) Kaur, N. & Gupta, A. K. (2002). Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *Journal of Bioscience*, 27 (7), 703–714.
- 15) Kim, Y., Faqih, M. N. & Wang, S. S. (2001). Factors affecting gel formation of inulin. *Carbohydrate Polymers*, 46, 135-145.
- 16) Ku, Y., Jansen, O., Oles, C. J., Lazar, E. Z. & Rader J. I. (2003). Precipitation of inulins and oligoglucoses by ethanol and other solvents. *Food Chemistry*, 81, 125–132.

- 17) Λιοδάκης, Σ. (2001). Σταθμική ανάλυση. *Αναλυτική Χημεία*, Εκδόσεις Παπασωτηρίου, 217-225.
- 18) Λιοδάκης, Σ. (2001). Οπτικές τεχνικές ανάλυσης. *Αναλυτική Χημεία*, Εκδόσεις Παπασωτηρίου, 242-246.
- 19) Mendoza, E., Garcia, M.L., Casas, C. & Selgas, M.D. (2001). Inulin as fat substitute in low fat, dry fermented sausages. *Meat Science*, 57, 387-393.
- 20) Μούτου, Α. (2000). Εργαστηριακή άσκηση 1. Μικροσκόπια και μικροσκοπική παρατήρηση. *Κυτταρική Βιολογία*, 1-19.
- 21) Nakamura, T., Ogata, Y., Shitara, A., Nakamura, A. & Ohta, K. (1995). Continuous Production of Fructose Syrups from Inulin by Immobilized Inulinase from *Aspergillus niger* Mutant 817. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 80 (2), 164-169.
- 22) O' Regan, E. I. (2002). An investigation on a polysaccharide : Inulin. *A fourth year project for bachelor in Food Science*, University College Cork, Ireland.
- 23) Roberfroid, M. (2002). Functional food concept and its application to prebiotics. *Digest Liver*, 34 (2), 105-110.
- 24) Staffolo, M. D., Bertola, N., Martino, M. & Bevilacqua, Y. A. (2004). Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt. *International Dairy Journal*, 14, 263-268.
- 25) Stryer, L. (1997). Υδατάνθρακες. *Βιοχημεία I*, Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, 347-364.

- 26) Tadros, T.F., Vandamme, A., Leveck, B., Booten, K. & Stevens, C.V. (2004). Stabilization of emulsions using polymeric surfactants based on inulin. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108 –109, 207–226.
- 27) Vervoort, L., van den Mooter, G., Augustijns, P. & Kinget, R. (1998). Inulin hydrogels. I. Dynamic and equilibrium swelling properties. *International Journal of Pharmaceutics*, 172, 127–135.
- 28) Vervoort, L., Rombaut, P., van den Mooter, G., Augustijns, P. & Kinget R. (1998). Inulin hydrogels. II. In vitro degradation study. *International Journal of Pharmaceutics*, 172, 137–145.
- 29) Wang, J., Rosell, C. M. & de Barber, C. B. (2002). Effect of the addition of different fibres on wheat dough performance and bread quality. *Food Chemistry*, 79, 221–226.