



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ  
ΑΜΥΛΟΖΗΣ – ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΣΤΑ ΔΟΜΙΚΑ ΚΑΙ  
ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΑΜΥΛΟΥ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

της

**Μαρινοπούλου Άννα**

Γεωπόνου–Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων  
M.Sc. Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων (Α.Π.Θ.)

Υποβλήθηκε στο  
Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ιωάννινα, 2016





ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ  
ΑΜΥΛΟΖΗΣ – ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΣΤΑ ΔΟΜΙΚΑ ΚΑΙ  
ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΑΜΥΛΟΥ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

της

**Μαρινοπούλου Άννα**

Γεωπόνου–Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων  
M.Sc. Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων (Α.Π.Θ.)

Υποβλήθηκε στο  
Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ιωάννινα, 2016



«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Χημείας της Σχολής Θετικών Επιστημών,  
του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32,  
άρθρο 202, παράγραφος 2»



Ορισμός Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής από τη Γ.Σ.Ε.Σ.:818<sup>Α</sup>/27-6-2011

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων:

1. Κοντομηνάς Μιχαήλ, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Μέλη:

2. Ραφαηλίδης Στυλιανός, Καθηγητής, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας και Τεχνολογίας Τροφίμων & Διατροφής, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, ΑΤΕΙΘ

3. Μπαδέκα Αναστασία, Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Θέμα: «*Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΑΜΥΛΟΖΗΣ – ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΣΤΑ ΔΟΜΙΚΑ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΑΜΥΛΟΥ*»

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ από τη Γ.Σ.Ε.Σ. 929<sup>Α</sup>/6-6-2016

1.Κοντομηνάς Μιχαήλ, Καθηγητής, Επιβλέπων, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

2. Ραφαηλίδης Στυλιανός, Καθηγητής, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, ΑΤΕΙΘ, μέλος Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής

3. Μπαδέκα Αναστασία, Επίκουρη καθηγήτρια, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, μέλος τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής

4. Χατζηαράπογλου Λάζαρος, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

5. Καραθάνος Βάϊος, Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

6. Καλογερόπουλος Νικόλαος Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

7. Θωμάρεϊς Απόστολος, Καθηγητής, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, ΑΤΕΙΘ

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 15-06-2016

Η Πρόεδρος του Τμήματος Χημείας

Μαρία – Ελένη Λέκκα, Καθηγήτρια

Η Γραμματέας του Τμήματος

Ζωή-Βαλεντίνα Βαμβέτσου





## *Ευχαριστίες*

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κύριο Μιχαήλ Κοντομηνά για την υποστήριξη του, την επιστημονική του βοήθεια καθ' όλη την διάρκεια της εκπόνησης της διατριβής καθώς και για τις σημαντικές συμβουλές, τη συμπαράσταση και την άμεση ανταπόκριση του κάθε φορά που χρειαζόμουν τη βοήθειά του. Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω και στα άλλα δύο μέλη της συμβουλευτικής επιτροπής, την Επίκουρη καθηγήτρια κυρία Αναστασία Μπαδέκα και τον Καθηγητή κύριο Στυλιανό Ραφαηλίδη, οι οποίοι με την ενθάρρυνσή και την επιστημονική τους καθοδήγηση, συνέβαλαν αποφασιστικά στην ολοκλήρωση της έρευνας.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στον Καθηγητή κύριο Στυλιανό Ραφαηλίδη για την απεριόριστη, συνεχή και αδιάκοπη καθοδήγηση του σε όλη τη διάρκεια του διδακτορικού. Τον ευχαριστώ ιδιαίτερα και για τη στήριξη που μου πρόσφερε σε ορισμένες δύσκολες στιγμές, καθώς και για την αμέριστη υποστήριξη του, χωρίς την οποία δε θα είχαν προκύψει τα αποτελέσματα της διατριβής αυτής. Νιώθω απέραντη ευγνωμοσύνη και θεωρώ τον εαυτό μου απίστευτα τυχερό που μαθήτευσα δίπλα του. Τον ευχαριστώ μεσ' απ' τα βάθη της ψυχής μου που, με εμπιστεύθηκε, με στήριξε και μου έμαθε πάρα πολλά πράγματα. Η πίστη του στις δυνατότητές μου αποτέλεσε αρωγό για όλους τους στόχους και τα όνειρά μου.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς επιτροπής που με τίμησαν με τη συμμετοχή τους, με υποστήριξαν και έδειξαν ενδιαφέρον και εμπιστοσύνη στην προσπάθειά μου αυτή. Επιπλέον, θα ήθελα να τους ευχαριστήσω για τη συμβολή τους, με τις διορθώσεις και τις επισημάνσεις τους, στη διαμόρφωση της τελικής εικόνας αυτής της διατριβής.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω το επιστημονικό, τεχνικό και διοικητικό προσωπικό της Σχολής Τεχνολογίας Γεωπονίας και Τεχνολογίας Τροφίμων & Διατροφής του Αλεξάνδρειου Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ίδρυματος Θεσ/νίκης και συγκεκριμένα του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων για τη βοήθεια που μου προσέφεραν και τις όμορφες στιγμές που μοιραστήκαμε.

Ιδιαίτερα, αισθάνομαι επίσης την ανάγκη να απευθύνω ένα μεγάλο ευχαριστώ προς τα μέλη ΕΠ του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων του Αλεξάνδρειου Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ίδρυματος Θεσ/νίκης και συγκεκριμένα προς τους Επίκουρους Καθηγητές κύριο Ευθύμιο Παπαστεργιάδη, κυρία Ελένη Καλογιάννη, κύριο Βασίλη Καραγεωργίου και τους Αναπληρωτές Καθηγητές κύριο Χρίστο Ριτζούλη και κυρία Μαρία Παπαγεωργίου, με τους οποίους είχα την τιμή να συνεργαστώ στενά και να αποκομίσω σημαντικά οφέλη για την πρόοδο της διατριβής μου. Στο ίδιο μήκος κύματος, θέλω να ευχαριστήσω βαθιά τους μεταδιδάκτορες Παναγιώτη Καραγιαννακίδη και Κωσταντίνο Τσιόπτσια, για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφεραν, καθώς και τις

μεταδιδάκτορες Δέσποινα Γεωργίου και Αντριάνα Σκέντη για την αμέριστη ηθική τόνωση και συμπαράστασή τους όλα αυτά τα χρόνια.

Τέλος, ένα πολύ μεγάλο, βαθύ και θερμό ευχαριστώ οφείλω στην οικογένειά μου για τη στήριξη και συνεχή βοήθειά τους όλα αυτά τα χρόνια, για όλα όσα μου προσέφεραν και συνεχίζουν να μου προσφέρουν. Χωρίς την αγάπη και τη συμπαράστασή τους, η εκπόνηση και η ολοκλήρωση της διατριβής μου δεν θα ήταν ποτέ δυνατή. Ως ελάχιστη ανταπόδοση τους αφιερώνω αυτή τη παρούσα εργασία. Χωρίς αυτούς άλλωστε τίποτα δεν θα είχε νόημα.

Ιωάννινα, Ιούνιος 2016

*“Nothing in life is to be feared, it is only to be understood. Now is the time to understand more, so that we may fear less”*

-Marie Skłodowska Curie (1867–1934)

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	v
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ.....	ix
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	xxix
ABSTRACT.....	xxxι
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ.....	3
1.1. ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΑΜΥΛΟΥ.....	3
1.1.1. Δομή αμύλου.....	5
1.1.2. Κρυσταλλικότητά αμύλου.....	8
1.1.3. Ζελατινοποίηση και αναδιάταξη του αμύλου.....	10
1.1.4. Εξαγωγή αμύλου από φυτικές πηγές.....	12
1.1.5. Τεχνικές διαχωρισμού αμυλόζης και αμυλοπηκτίνης.....	12
1.2. ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ.....	13
1.2.1. Δομή λιπαρών οξέων.....	13
1.2.2. Διατροφική αξία πολυακόρεστων λιπαρών οξέων.....	15
1.2.3. Σταθερότητα πολυακόρεστων λιπαρών οξέων.....	16
1.3. ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΑΜΥΛΟΖΗΣ.....	16
1.3.1. Μεθοδολογία παρασκευής συμπλόκων αμυλόζης-λιπιδίων.....	16
1.3.2. Δομή συστημάτων εγκλεισμού αμυλόζης.....	17
1.3.3. Επίδραση του βαθμού πολυμερισμού της αμυλόζης, του μήκους αλυσίδας των λιπιδίων, του βαθμού ακορεστότητας και της συγκέντρωσης των λιπιδίων στις ιδιότητες των συμπλόκων.....	22
1.3.4. Ενζυμική υδρόλυση συμπλόκων αμυλόζης-λιπιδίων.....	26
1.3.5. Επίδραση των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων στις ρεολογικές ιδιότητες του αμύλου.....	27
1.3.6. Τεχνολογική σημασία συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων.....	29
1.3.7. Σύμπλοκο αμυλοπηκτίνης-λιπαρών οξέων.....	29
1.3.8. Σύμπλοκα αμυλόζης-λιπαρών οξέων-πρωτεϊνών.....	30
1.3.9. Η ενθυλάκωση (encapsulation) ως τεχνική προστασίας των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων.....	30
2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ.....	33
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	35
3.1. ΥΛΙΚΑ.....	35
3.1.1. Άμυλο.....	35
3.1.2. Λιπαρά οξέα.....	35
3.1.3. Άλλα αντιδραστήρια.....	36

3.1.4. Ενζυμα.....	36
3.2. ΜΕΘΟΔΟΙ.....	36
3.2.1. Εξαγωγή αμυλόζης.....	36
3.2.2. Προσδιορισμός υγρασίας των αμύλων και αμυλόζης.....	37
3.2.3. Προσδιορισμός πρωτεΐνης των αμύλων και της αμυλόζης.....	38
3.2.4. Προσδιορισμός φαινομενικής και ολικής αμυλόζης.....	38
3.2.5. Προσδιορισμός του μέσου μοριακού βάρους κατά ιξώδες ( <i>viscosity average molecular weight</i> ) της αμυλόζης.....	39
3.2.6. Μεθοδολογία παρασκευής συμπλόκων αμυλόζης και αμύλων με τα λιπαρά οξέα.....	40
3.2.7. Περίθλαση ακτίνων X (XRD).....	42
3.2.8. Διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC).....	43
3.2.9. Φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FTIR).....	44
3.2.10. Συνεστιακό μικροσκόπιο σάρωσης (CLSM).....	44
3.2.11. Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM).....	44
3.2.12. Θερμοσταθμική ανάλυση (TGA).....	45
3.2.14. Ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων, παραλαβή των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων με εκχύλιση με υπερκρίσιμο CO <sub>2</sub> και ποσοτικό προσδιορισμό με αέρια χρωματογραφία.....	46
3.2.15. Μετρήσεις ηλεκτροφορητικής κινητικότητας και μεγέθους σωματιδίων (DLS).....	47
3.2.16. Κοκκομετρική ανάλυση με σκέδαση του φωτός.....	47
3.2.17. Μετρήσεις επιφανειακής τάσης με τη μέθοδο της κρεμάμενης σταγόνας ( <i>pendant drop</i> ) και με χρήση της μεθόδου πλακιδίου ( <i>Wilhelmy plate</i> ).....	47
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	49
4.1. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΜΥΛΟΖΗΣ.....	60
4.1.1 Σύσταση και φυσικές ιδιότητες των αμύλων και της αμυλόζης.....	60
4.2. ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΔΟΜΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΠΕΡΙΘΛΑΣΗΣ ΑΚΤΙΝΩΝ X (XRD).....	61
4.2.1. Δομικά χαρακτηριστικά συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων.....	62
4.2.2. Δομικά χαρακτηριστικά συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού ( <i>pregel</i> )-λιπαρών οξέων.....	76
4.2.3. Δομικά χαρακτηριστικά συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης ( <i>Hylon VII</i> )-λιπαρών οξέων.....	88
4.3. ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΘΕΡΜΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗΣ ΘΕΡΜΙΔΟΜΕΤΡΙΑΣ ΣΑΡΩΣΗΣ (DSC).....	96
4.3.1. Θερμική ανάλυση των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων.....	96
4.3.2. Θερμική ανάλυση των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού ( <i>pregel</i> ) με λιπαρά οξέα.....	114
4.3.3. Θερμική ανάλυση των συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης ( <i>Hylon VII</i> )-λιπαρών οξέων.....	124
4.4. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΜΠΛΟΚΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΜΕ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ FOURIER (FTIR).....	129
4.4.1. Μελέτη της συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με λιπαρά οξέα.....	129

4.4.2 Μελέτη της συμπλοκοποίησης του προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (pregel) με λιπαρά οξέα.....	134
4.4.3 Μελέτη της συμπλοκοποίησης του αμύλου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης (Hylon VII) με λιπαρά οξέα .....	140
4.5. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΑΜΥΛΟΖΗΣ-ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΣΥΝΕΣΤΙΑΚΗΣ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑΣ ΣΑΡΩΣΗΣ ΜΕ ΛΕΙΖΕΡ (CLSM) .....	143
4.6. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑΣ ΣΑΡΩΣΗΣ (SEM).....	151
4.6.1. Μικροσκοπική ανάλυση της δομής των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων.....	151
4.6.2. Μικροσκοπική ανάλυση της δομής των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (pregel)-λιπαρών οξέων .....	154
4.6.3. Μικροσκοπική ανάλυση της δομής των συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης (Hylon VII)-λιπαρών οξέων.....	157
4.7. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΣΤΑΘΜΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ (TGA) .....	159
4.7.1. Μελέτη της οξειδωτικής σταθερότητας των συμπλόκων αμυλόζης με ελαιϊκό και λινελαϊκό οξύ (CLA) .....	159
4.7.2. Μελέτη της οξειδωτικής σταθερότητας των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου (pregel) και αμύλου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης (Hylon VII) με ελαιϊκό οξύ ...	162
4.8. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΒΑΘΜΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΜΗ ΣΥΜΠΛΕΓΜΕΝΩΝ (ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ) ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΕΓΜΕΝΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΣΤΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΑΜΥΛΟΖΗΣ-ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΑΕΡΙΑΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ .....	164
4.8.1. Προσδιορισμός των μη συμπλεγμένων (ελεύθερων) λιπαρών οξέων και συμπλεγμένων λιπαρών οξέων στα σύμπλοκα αμυλόζης-λιπαρών οξέων.....	164
4.8.2. Προσδιορισμός των μη συμπλεγμένων (ελεύθερων) λιπαρών οξέων και συμπλεγμένων λιπαρών οξέων στα σύμπλοκα pregel και Hylon VII με λιπαρά οξέα.....	169
4.8.3. Προσδιορισμός των ελεύθερων λιπαρών οξέων στα σύμπλοκα αμυλόζης-στεατικού οξέος και στα σύμπλοκα pregel με στεατικό οξύ στα οποία το λιπαρό οξύ προστέθηκε σε 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις .....	172
4.9. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΤΙΚΗΣ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΜΥΛΟΖΗΣ, ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΑΜΥΛΟΖΗΣ ΜΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ, ΑΜΥΛΩΝ (PREGEL. HYLON VII) ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΑΜΥΛΩΝ (PREGEL. HYLON VII) ΜΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ.....	175
4.9.1. Μετρήσεις της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας αμυλόζης και συμπλόκων αμυλόζης με λιπαρά οξέα.....	175
4.9.2. Μετρήσεις της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (pregel) και συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (pregel) με λιπαρά οξέα.....	177
4.9.3. Μετρήσεις της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας αμύλου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης (Hylon VII) και συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης (Hylon VII) με λιπαρά οξέα.....	178
4.10. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΑΜΥΛΟΖΗΣ, ΑΜΥΛΟΥ ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΟΥ ΜΕ ΥΨΗΛΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΑΜΥΛΟΖΗΣ (HYLON VII) ΚΑΙ ΤΩΝ	

ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ ΣΚΕΔΑΣΗΣ ΤΟΥ ΦΩΤΟΣ (DLS).....	180
4.11. ΚΟΚΚΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΑΜΥΛΟΖΗΣ ΜΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΣΚΕΔΑΣΗΣ ΤΟΥ ΦΩΤΟΣ.....	183
4.12. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΗΣ ΤΑΣΗΣ ΑΜΥΛΟΖΗΣ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΑΜΥΛΟΖΗΣ ΜΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΚΡΕΜΑΜΕΝΗΣ ΣΤΑΓΟΝΑΣ (pendant drop) ΚΑΙ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΠΛΑΚΙΔΙΟΥ (WILHELMY PLATE) .....	186
4.13. ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑΣ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΕΝΟΣ ΤΡΙΑΔΙΚΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΑΜΥΛΟΖΗΣ-ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ-ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΟΡΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ.....	194
4.13.1. Δομικός χαρακτηρισμός του τριαδικού συμπλόκου εγκλεισμού αμυλόζης-λιπαρών οξέων-πρωτεΐνης με την τεχνική της περίθλασης ακτίνων X (XRD) .....	194
4.13.2. Μελέτη των θερμικών ιδιοτήτων του τριαδικού συμπλόκου εγκλεισμού αμυλόζης-λιπαρών οξέων-πρωτεΐνης ορού γάλακτος με την τεχνική της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC).....	197
4.13.3. Στοιχειακή μικροανάλυση του τριαδικού συμπλόκου εγκλεισμού αμυλόζης λιπαρών οξέων-πρωτεΐνης ορού γάλακτος (EDS).....	198
4.14. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΑΜΥΛΟΥ-ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΞΗΡΑΝΣΗΣ ΜΕ ΕΚΝΕΦΩΣΗ (SPRAY DRIER).....	200
4.14.1. Σύσταση των αμύλων (προζελατινοποιημένο άμυλο καλαμποκιού, άμυλο ταπιόκας, φυσικό άμυλο καλαμποκιού) .....	201
4.14.2. Επίδραση της ξήρανσής με εκνέφωση στο ποσοστό υγρασίας των αφυδατωμένων συμπλόκων αμύλου με τα λιπαρά οξέα .....	201
4.14.3. Προσομοίωση κατανομής μεγέθους σωματιδίων των αφυδατωμένων συμπλόκων αμύλων-λιπαρών οξέων.....	204
4.14.4. Προσδιορισμός φαινομενικής πυκνότητας των αφυδατωμένων συμπλόκων αμύλων-λιπαρών οξέων.....	210
4.14.5. Δομικός χαρακτηρισμός των αφυδατωμένων συμπλόκων αμύλων-λιπαρών οξέων με τη τεχνική της περίθλασης ακτίνων X (XRD) .....	211
4.14.6. Θερμικές ιδιότητες των αφυδατωμένων συμπλόκων αμύλων-λιπαρών οξέων με τη τεχνική της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC) .....	221
4.14.7. Μικροσκοπική ανάλυση των αφυδατωμένων συμπλόκων φυσικού αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος.....	223
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ– ΘΕΜΑΤΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	225
5.1. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	225
5.2. Προτεινόμενα Θέματα για Μελλοντική Διερεύνηση.....	227
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	229
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ .....	247
ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΜΕ ΚΡΙΤΕΣ .....	251

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.1 Κορεσμένα (λαυρικό, παλμιτικό, στεατικό) και ακόρεστα (ελαϊκό, λινελαϊκό, λινολενικό, αραχιδονικό) λιπαρά οξέα. ....	14
Πίνακας 3.1 Συνθήκες πειραματικής διαδικασίας των συμπλόκων με την τεχνική της περίθλασης ακτίνων X.....	42
Πίνακας 4.1 Σύσταση αμύλων (αρακά, φυσικού καλαμποκιού, ταπιόκας, Hylon VII) και αμυλόζης .....	60
Πίνακας 4.2 Θερμοκρασίες ζελατινοποίησης αμύλων (αρακά, φυσικού καλαμποκιού, ταπιόκας, Hylon VII).....	61
Πίνακας 4.3 Θερμοκρασίες έναρξης διάσπασης των συμπλόκων αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό & συζευγμένο λινελαϊκό οξύ), θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα και θερμοκρασίες περάτωσης διάσπασης των συμπλόκων αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70 °C. ....	100
Πίνακας 4.4 Θερμοκρασίες έναρξης διάσπασης των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού με τα λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ), θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων pregel αμύλου καλαμποκιού με τα λιπαρά οξέα και θερμοκρασίες περάτωσης διάσπασης των συμπλόκων pregel με τα λιπαρά οξέα. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70 °C. ....	117
Πίνακας 4.5 Θερμοκρασίες έναρξης διάσπασης των συμπλόκων Hylon VII με τα λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ), θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων Hylon VII με τα λιπαρά οξέα και θερμοκρασίες περάτωσης διάσπασης των συμπλόκων Hylon VII με τα λιπαρά οξέα. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70 °C.....	127
Πίνακας 4.6 Ελεύθερα λιπαρά οξέα (%) που εκχυλίστηκαν με διαιθυλαιθέρα και προσδιορίστηκαν με αέρια χρωματογραφία, συμπλεγμένα και παγιδευμένα λιπαρά οξέα από διαφορά* και συμπλεγμένα λιπαρά οξέα που παραλήφθηκαν ύστερα από ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων αμυλόζης. ....	165
Πίνακας 4.7 Ελεύθερα λιπαρά οξέα (%) που εκχυλίστηκαν με διαιθυλαιθέρα και προσδιορίστηκαν με αέρια χρωματογραφία, συμπλεγμένα και παγιδευμένα λιπαρά οξέα από διαφορά * και	

συμπλεγμένα λιπαρά οξέα που παραλήφθηκαν ύστερα από ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων pregel.....	170
Πίνακας 4.8 Ελεύθερα λιπαρά οξέα (%) που εκχυλίστηκαν με διαιθυλαιθέρα και προσδιορίστηκαν με αέρια χρωματογραφία, συμπλεγμένα και παγιδευμένα λιπαρά οξέα από διαφορά* και συμπλεγμένα λιπαρά οξέα που παραλήφθηκαν ύστερα από ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων Hylon VII .....	171
Πίνακας 4.9 Ελεύθερα λιπαρά οξέα (%) που εκχυλίστηκαν από σύμπλοκα αμυλόζης με στεατικό οξύ και προσδιορίστηκαν ποσοτικά με αέρια χρωματογραφία και συμπλεγμένα λιπαρά οξέα από διαφορά*. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) κατά την παρασκευή τους και έπειτα με διαιθυλαιθέρα, εξάνιο μεθανόλη ή χλωροφόρμιο. ....	173
Πίνακας 4.10 Ελεύθερα λιπαρά οξέα (%) που εκχυλίστηκαν από σύμπλοκα pregel με στεατικό οξύ και προσδιορίστηκαν με αέρια χρωματογραφία και συμπλεγμένα λιπαρά οξέα από διαφορά*. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) κατά την παρασκευή τους και έπειτα με εξάνιο ή χλωροφόρμιο. ....	174
Πίνακας 4.11 Ελεύθερα λιπαρά οξέα (%) που εκχυλίστηκαν με διαιθυλαιθέρα από σύμπλοκα pregel με στεατικό οξύ στα οποία το λιπαρό οξύ προστέθηκε κατά τη συμπλοκοποίηση σε 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις (6, 7, 8, 9 ή 10%). Τα εκχυλισμένα λιπαρά οξέα προσδιορίστηκαν ποσοτικά με αέρια χρωματογραφία και τα συμπλεγμένα λιπαρά οξέα από διαφορά* .....	174
Πίνακας 4.12 Τιμές παραμέτρων κοκκομετρικής ανάλυσης των συμπλόκων αμυλόζης με λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό & στεατικό οξύ).....	183
Πίνακας 4.13 Τιμές παραμέτρων κοκκομετρικής ανάλυσης των συμπλόκων αμυλόζης με ελαϊκό οξύ.....	184
Πίνακας 4.14 Παράμετροι λειτουργίας κατά την ξήρανσή με εκνέφωση των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-μυριστικού οξέος.....	201
Πίνακας 4.15 Παράμετροι λειτουργίας κατά την ξήρανσή με εκνέφωση των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος.....	201
Πίνακας 4.16 Παράμετροι λειτουργίας κατά την ξήρανσή με εκνέφωση των συμπλόκων άμυλο ταπιόκας (5%)-μυριστικού οξέος .....	203
Πίνακας 4.17 Παράμετροι λειτουργίας κατά την ξήρανσή με εκνέφωση των συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-παλμιτικού οξέος.....	203



Πίνακας 4.18 Παράμετροι λειτουργίας κατά την ξήρανσή με εκνέφωση των συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος.....	203
Πίνακας 4.19 Παράμετροι λειτουργίας κατά την ξήρανσή με εκνέφωση των συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (10%)-παλμιτικού οξέος.....	204
Πίνακας 4.20 Διάμετροι συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-μυριστικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.14) .....	208
Πίνακας 4.21 Διάμετροι συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.15) .....	208
Πίνακας 4.22 Διάμετροι συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-μυριστικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.16) .....	208
Πίνακας 4.23 Διάμετροι συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.17) .....	209
Πίνακας 4.24 Διάμετροι συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.18) .....	209
Πίνακας 4.25 Διάμετροι συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (10%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.19) .....	209
Πίνακας 4.26 Θερμοκρασία διάσπασης ( $^{\circ}\text{C}$ ) και ενθαλπία (J/g) των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-μυριστικού οξέος και των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος μετά την ξήρανσή με εκνέφωση.....	222
Πίνακας 4.27 Θερμοκρασία διάσπασης ( $^{\circ}\text{C}$ ) και ενθαλπία (J/g) συμπλόκου αμύλου ταπιόκας (5%)-μυριστικού οξέος και συμπλόκου αμύλου ταπιόκας (5%)-παλμιτικού οξέος μετά την ξήρανσή με εκνέφωση.....	222
Πίνακας 4.28 Θερμοκρασία διάσπασης ( $^{\circ}\text{C}$ ) και ενθαλπία (J/g) συμπλόκου φυσικού αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος μετά την ξήρανσή με εκνέφωση.....	222
Πίνακας 4.29 Θερμοκρασία διάσπασης ( $^{\circ}\text{C}$ ) και ενθαλπία (J/g) συμπλόκων προζελατινοποιημένο αμύλου (5%) με μυριστικό και με παλμιτικό οξύ, αμύλου ταπιόκας (5%) με μυριστικό και με παλμιτικό οξύ και φυσικού αμύλου καλαμποκιού (5 ή 10%) με παλμιτικό οξύ πριν τη διεργασία της ξήρανσής με εκνέφωση. ....	223



## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1.1 Απεικόνιση της ημικρυσταλλικής δομής του αμυλοκόκκου (Waigh et al., 1996).....	4
Σχήμα 1.2 Μικροφωτογραφία αμυλοκόκκων όπου διακρίνονται οι ομόκεντρες στοιβάδες .....	5
Σχήμα 1.3 Σχηματική απεικόνιση των δύο συστατικών του αμύλου: αμυλόζη, το σχετικά γραμμικό πολυμερές της α-D-γλυκόζης και αμυλοπηκτίνη, το πολυδιακλαδισμένο πολυμερές της α-D-γλυκόζης.....	6
Σχήμα 1.4 Δομή αμυλόζης και αμυλοπηκτίνης.....	7
Σχήμα 1.5 Σχηματική απεικόνιση της αμυλοπηκτίνης με α-(1,4) γλυκοζιτικούς δεσμούς (A, B1–B3) στην αλυσίδα ενώ η διακλάδωση συνδέεται με την αλυσίδα με α-(1,6) γλυκοζιτικούς δεσμούς (Hizukuri, 1986).....	8
Σχήμα 1.6 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X όπου εμφανίζονται οι A-, B-, C- και V- μορφές (Liu, 2005). .....	9
Σχήμα 1.7 Διευθέτηση των διπλών ελίκων αμυλοπηκτίνης στην A-μορφή (α) και στη B-μορφή (β). Τα μόρια νερού παρουσιάζονται με μαύρα σημεία (Wu & Sarko, 1978).....	9
Σχήμα 1.8. Ζελατινοποίηση και αναδιάταξη αμύλου. (A): άμυλο, (B) Ζελατινοποιημένο άμυλο, (Γ): Αναδεδιαταγμένο άμυλο .....	11
Σχήμα 1.9 ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα .....	14
Σχήμα 1.10 Σχηματική απεικόνιση μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων.....	15
Σχήμα 1.11 Η αριστερόστροφη έλικα της αμυλόζης με ένα φιλοξενούμενο μόριο του οποίου η πολική κεφαλή βρίσκεται έξω από το σύμπλοκο, ενώ η αλειφατική αλυσίδα βρίσκεται στο εσωτερικό της ελικοειδούς κοιλότητας (Putseys et al., 2010a).....	18
Σχήμα 1.12 Σχηματική απεικόνιση συμπλόκου αμυλόζης-λιπαρών οξέων. Στο εσωτερικό της έλικας της αμυλόζης διατάσσονται τα μόρια του λιπαρού οξέος (κεφαλή με κεφαλή και ουρά με ουρά). ..	18
Σχήμα 1.13 Σχηματική απεικόνιση (α) ελίκων αμυλόζης που είναι διευθετημένες στο χώρο και σχηματίζουν διατεταγμένες δομές (αναδιπλωμένες λαμέλλες-folded lamellae), δηλ. κρυσταλλίτες, και (β) του μηχανισμού της δημιουργίας συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων των τύπων I και II (Biliaderis & Galloway, 1989). .....	21
Σχήμα 4.1 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X (α) συμπλόκων αμυλόζης-μυριστικού οξέος, (β) συμπλόκων αμυλόζης-παλμιτικού οξέος, (γ) συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος που	

παρασκευάστηκαν στους 30°C. Τα σύμπλοκα δεν ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό πριν την ξήρανσή τους. ....	52
Σχήμα 4.2 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X (α) αμυλόζης (Lesmes et al., 2009) και (β) συμπλόκων αμυλόζης-λινελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν με τη μέθοδο KOH/HCl (Lalush et al., 2005). 52	
Σχήμα 4.3 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X (α) συμπλόκων αμυλόζης-μυριστικού οξέος, (β) συμπλόκων αμυλόζης-παλμιτικού οξέος & (γ) συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος. Τα σύμπλοκα κατά την παρασκευή τους υπέστησαν κατεργασία δύο φορές με νερό. ....	53
Σχήμα 4.4 Φάσμα περίθλασης ακτίνων X χλωριούχου καλίου (KCl).....	54
Σχήμα 4.5 Μικροφωτογραφίες συμπλόκων αμυλόζης-μυριστικού οξέος (α1, α2 & α3), συμπλόκων αμυλόζης-παλμιτικού οξέος (β1, β2 & β3) & συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος (γ1, γ2 & γ3) που παρασκευάστηκαν στους 30°C. Τα σύμπλοκα δεν ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό πριν την ξήρανσή τους. ....	55
Σχήμα 4.6 Στοιχειακή ανάλυση με φασματοσκοπία EDS (α) συμπλόκων αμυλόζης με (α) μυριστικό οξύ, (β) παλμιτικό οξύ & (γ) στεατικό οξύ παρουσία χλωριούχου καλίου. Τα σύμπλοκα δεν ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό πριν την ξήρανσή τους. ....	57
Σχήμα 4.7 Χαρτογράφηση κατανομής των στοιχείων (α) καλίου-οξυγόνου-χλωρίου, (β) χλωρίου, (γ) καλίου & (δ) οξυγόνου στην επιφάνεια των συμπλόκων. Τα σύμπλοκα δεν ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό πριν την ξήρανσή τους. ....	58
Σχήμα 4.8 Στοιχειακή ανάλυση με φασματοσκοπία EDS συμπλόκων αμυλόζης με (α) μυριστικό οξύ, (β) παλμιτικό οξύ & (γ) στεατικό οξύ μετά από κατεργασία δύο φορές με νερό. ....	59
Σχήμα 4.9 Φάσμα περίθλασης ακτίνων X αναδιαταγμένης (κρυσταλλικής) αμυλόζης.....	62
Σχήμα 4.10 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμυλόζης-δεκανοϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.....	63
Σχήμα 4.11 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμυλόζης-μυριστικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.10 κατά την παρασκευή τους. ....	63
Σχήμα 4.12 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμυλόζης-παλμιτικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.10 κατά την παρασκευή τους. ....	64

Σχήμα 4.13 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμυλόζης–στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.10 κατά την παρασκευή τους. ....	64
Σχήμα 4.14 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμυλόζης–ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.10 κατά την παρασκευή τους. ....	65
Σχήμα 4.15 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμυλόζης–λινελαϊκού οξέος (CLA) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.10 κατά την παρασκευή τους. ....	65
Σχήμα 4.16 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X (α) συμπλόκων αμυλόζης–στεατικού οξέος μετά από κατεργασία με νερό, (β) μετά από κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) και (γ) μετά από δύο κατεργασίες με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50). Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 50°C.....	67
Σχήμα 4.17 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμυλόζης–στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους (α) 30, (β) 50 ή (γ) 70°C. Το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5(i), 15 (ii) ή 30 (iii) min. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.....	69
Σχήμα 4.18 Ποσοστό (%) ελεύθερου στεατικού οξέος που παρέμεινε στην επιφάνεια του διαλύματος (υγρή φάση) και δεν παγιδεύτηκε μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης κατά τη συμπλοκοποίηση. Το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5, 15 ή 30 min. Η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων ήταν 30, 50 ή 70° C.....	71
Σχήμα 4.19 Ποσοστό κρυσταλλικότητάς (%) της αμυλόζης και των συμπλόκων αμυλόζης–λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό & λινελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.....	72
Σχήμα 4.20 Σχηματική απεικόνιση συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων όπου οι έλικες της αμυλόζης είναι τυχαία προσανατολισμένες στο χώρο.....	73
Σχήμα 4.21. Σχηματική απεικόνιση των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων όπου ένα τμήμα των ελίκων της αμυλόζης είναι τυχαία διευθετημένο στο χώρο και το άλλο συμμετέχει στη δομή ενός κρυσταλλίτη (fringed micelles) (a) και ελίκων αμυλόζης που είναι διευθετημένες στο χώρο και σχηματίζουν διατεταγμένες δομές (αναδιπλωμένες λαμέλλες -folded lamellae) δηλ. κρυσταλλίτες (b).....	73

Σχήμα 4.22 Μέγεθος κρυστάλλων συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό & λινελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.....	75
Σχήμα 4.23 Φάσμα περίθλασης ακτίνων X προζελατινοποιημένου αμύλου (pregel) ως έχει και μετά από διαλυτοποίησή στους 90°C για ~10 min, σε αλκαλικό περιβάλλον (0,1N) και ξήρανσή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος υπο τη διοχέτευση συνεχούς ρεύματος αέρα. ....	77
Σχήμα 4.24 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-δεκανοϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.....	77
Σχήμα 4.25 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-μυριστικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους. ....	78
Σχήμα 4.26 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-παλμιτικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους. ....	78
Σχήμα 4.27 Φάσμα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους. ....	79
Σχήμα 4.28 Φάσμα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους. ....	79
Σχήμα 4.29 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά τη παρασκευή τους έπειτα υπέστησαν επανεκατεργασία με μεθανόλη για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 50°C...	81
Σχήμα 4.30 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 50°C. Το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους. ....	82
Σχήμα 4.31 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 50°C. Το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5, 15	

ή 30 min. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους.....	82
Σχήμα 4.32 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 70°C. Πριν τη συμπλοκοποίηση το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους.....	83
Σχήμα 4.33 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 70°C. Το λιπαρό οξύ προστέθηκε σε συγκεντρώσεις 7, 8, 9 ή 10 % (w/w) του βάρους της αμυλόζης. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους.....	84
Σχήμα 4.34 Ποσοστό κρυσταλλικότητας (%) (α) συμπλόκων pregel-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλματικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά τη παρασκευή τους και (β) συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους και αναμίχθηκαν με μεθανόλη (απόλυτη) για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.....	86
Σχήμα 4.35 Μέγεθος κρυστάλλων συμπλόκων pregel-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους.....	88
Σχήμα 4.36 Φάσματα φυσικού αμύλου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης ~ 70% (Hylon VII) και μετά από διαλυτοποίησή στους 90°C για ~10 min σε διάλυμα 0,1 N KOH και ακόλουθη ξήρανσή στον αέρα.....	89
Σχήμα 4.37 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (Hylon VII)-δεκανοϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.....	90
Σχήμα 4.38 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (Hylon VII)-μυριστικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.37 κατά την παρασκευή τους.....	90
Σχήμα 4.39 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (Hylon VII)-παλμιτικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.37 κατά την παρασκευή τους.....	91

Σχήμα 4.40 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (Hylon VII)-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.37 κατά την παρασκευή τους.....	92
Σχήμα 4.41 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (Hylon VII)-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.37 κατά την παρασκευή τους.....	92
Σχήμα 4.42 Ποσοστό κρυσταλλικότητάς (%) συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού Hylon VII -λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.37 κατά την παρασκευή τους. ....	94
Σχήμα 4.43 Μέγεθος κρυστάλλων (%) συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού Hylon VII-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.37 κατά την παρασκευή τους. ....	96
Σχήμα 4.44 Θερμογραφήματα DSC των συμπλόκων αμυλόζης-δεκανοϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρασή τους.....	97
Σχήμα 4.45 Θερμογραφήματα DSC των συμπλόκων αμυλόζης-μυριστικού οξέος παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους. ....	97
Σχήμα 4.46 Θερμογραφήματα DSC των συμπλόκων αμυλόζης-παλμιτικού οξέος παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους. ....	98
Σχήμα 4.47 Θερμογραφήματα DSC των συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους. ....	98
Σχήμα 4.48 Θερμογραφήματα DSC των συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους. ....	99



Σχήμα 4.49 Θερμογραφήματα DSC συμπλόκων αμυλόζης-συζευγμένου λινελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.....	99
Σχήμα 4.50 Θερμογραφήματα συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος (α) ως έχει (β) μετά από κατεργασία με χλωροφόρμιο. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C και υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.....	105
Σχήμα 4.51 Θερμογραφήματα συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος (α) ως έχει (β) μετά από κατεργασία με διαιθυλαιθέρα. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 50°C και υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.....	105
Σχήμα 4.52 Θερμογραφήματα συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος (α) ως έχει (β) μετά από κατεργασία με μεθανόλη. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 70°C και υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.....	106
Σχήμα 4.53 Θερμογραφήματα συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος (α) ως έχει (β) μετά από κατεργασία με εξάνιο. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 50°C και υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.....	106
Σχήμα 4.54 Θερμογραφήματα συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30°C. Το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.....	108
Σχήμα 4.55 Θερμογραφήματα συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 50°C. Το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.....	108
Σχήμα 4.56 Θερμογραφήματα συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 70°C. Το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.....	109
Σχήμα 4.57 Θερμογράφημα κατά την ψύξη συμπλόκου αμυλόζης-δεκανοϊκού οξέος που παρασκευάστηκε στις 70°C. Το σύμπλοκο υπέστη κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή του.....	110
Σχήμα 4.58 Θερμογράφημα κατά την ψύξη συμπλόκου αμυλόζης-παλμιτικού οξέος που παρασκευάστηκε στις 30°C. Το σύμπλοκο υπέστη κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή του.....	110

Σχήμα 4.59 Θερμογραφήματα κατά την ψύξη συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στις 30 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.....	111
Σχήμα 4.60 Θερμογράφημα κατά την ψύξη συμπλόκου αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκε στους 30°C. Το σύμπλοκο υπέστη κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή του.....	111
Σχήμα 4.61 Θερμογράφημα κατά την ψύξη συμπλόκου αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκε στους 50°C. Το σύμπλοκο υπέστη κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή του.....	112
Σχήμα 4.62 Θερμογράφημα κατά την ψύξη συμπλόκου αμυλόζης-λινελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκε στους 70°C. Το σύμπλοκο υπέστη κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή του.....	112
Σχήμα 4.63 Θερμογραφήματα κατά την ψύξη συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στις 70°C. Το στεατικό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5 ή 30 min. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.....	113
Σχήμα 4.64 Θερμογραφήματα συμπλόκων pregel-δεκανοϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.....	114
Σχήμα 4.65 Θερμογραφήματα συμπλόκων pregel-μυριστικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή τους.....	115
Σχήμα 4.66 Θερμογραφήματα συμπλόκων pregel-παλμιτικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή τους.....	115
Σχήμα 4.67 Θερμογραφήματα συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή τους.....	116
Σχήμα 4.68 Θερμογραφήματα συμπλόκων pregel-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή τους.....	116

Σχήμα 4.69 Θερμογραφήματα συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή τους (α) και έπειτα υπέστησαν επανεκατεργασία με χλωροφόρμιο (β) και με εξάνιο (γ). Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.....	120
Σχήμα 4.70 Θερμογραφήματα συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή τους και κατόπιν αναμίχθηκαν με μεθανόλη για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 50°C. ....	121
Σχήμα 4.71 Θερμογράφημα κατά την ψύξη συμπλόκου pregel-δεκανοϊκού οξέος που υπέστη κατεργασία στους 30°C. Το σύμπλοκο υπέστη κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή του.....	122
Σχήμα 4.72 Θερμογράφημα κατά την ψύξη συμπλόκου pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκε στους 70°C. Το σύμπλοκο υπέστη κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή του. ....	123
Σχήμα 4.73 Θερμογραφήματα κατά την ψύξη συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή τους και κατόπιν αναμίχθηκαν με μεθανόλη για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 50°C. ....	123
Σχήμα 4.74 Θερμογραφήματα συμπλόκων Hylon VII-δεκανοϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70 °C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους .....	124
Σχήμα 4.75 Θερμογραφήματα συμπλόκων Hylon VII-μυριστικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30 ή 50 °C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.74 κατά την παρασκευή τους.....	125
Σχήμα 4.76 Θερμογραφήματα συμπλόκων Hylon VII-παλμιτικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70 °C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.74 κατά την παρασκευή τους. ....	125
Σχήμα 4.77 Θερμογραφήματα συμπλόκων Hylon VII-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.74 κατά την παρασκευή τους.....	126
Σχήμα 4.78 Θερμογραφήματα συμπλόκων Hylon VII-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70 °C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.74 κατά την παρασκευή τους.....	126

Σχήμα 4.79 Θερμογράφημα κατά την ψυχή συμπλόκων Hylon VII-παλμιτικού οξέος που παρασκευάστηκε στους 30 °C. Το σύμπλοκο υπέστη κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.74 κατά την παρασκευή του. ....	129
Σχήμα 4.80 Φάσματα FTIR της αμυλόζης (πράσινη γραμμή), του δεκανοϊκού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου αμυλόζης-δεκανοϊκού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.....	130
Σχήμα 4.81 Φάσματα FTIR της αμυλόζης (πράσινη γραμμή), του μυριστικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου αμυλόζης-μυριστικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.80 κατά την παρασκευή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C. ....	130
Σχήμα 4.82 Φάσματα FTIR της αμυλόζης (πράσινη γραμμή), του παλμιτικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου αμυλόζης-παλμιτικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.80 κατά την παρασκευή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C. ....	131
Σχήμα 4.83 Φάσματα FTIR της αμυλόζης (πράσινη γραμμή), του στεατικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου αμυλόζης-στεατικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.80 κατά την παρασκευή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C. ....	131
Σχήμα 4.84 Φάσματα FTIR της αμυλόζης (πράσινη γραμμή), του ελαϊκού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου αμυλόζης-ελαϊκού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.80 κατά την παρασκευή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C. ....	132
Σχήμα 4.85 Φάσματα FTIR της αμυλόζης (πράσινη γραμμή), του στεατικού οξέος (ιώδης γραμμή) και των συμπλόκου αμυλόζης-στεατικού οξέος όπου το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5 min (κυανή γραμμή), 15 min (ρόδινη γραμμή) και 30 min (κόκκινη γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.80 κατά την παρασκευή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C. ....	134
Σχήμα 4.86 Φάσματα FTIR του pregel (πράσινη γραμμή), του δεκανοϊκού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου pregel-δεκανοϊκού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C. ....	135

Σχήμα 4.87 Φάσματα FTIR του pregel (πράσινη γραμμή), του μυριστικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου pregel-μυριστικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.86 κατά την παρασκευή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.....	135
Σχήμα 4.88 Φάσματα FTIR του pregel (πράσινη γραμμή), του παλμιτικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου pregel-παλμιτικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.86 κατά την παρασκευή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.....	136
Σχήμα 4.89 Φάσματα FTIR του pregel (πράσινη γραμμή), του στεατικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου pregel-στεατικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.86 κατά την παρασκευή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.....	136
Σχήμα 4.90 Φάσματα FTIR του pregel (πράσινη γραμμή), του ελαϊκού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου pregel-ελαϊκού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.86 κατά την παρασκευή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.....	137
Σχήμα 4.91 Φάσματα FTIR του στεατικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και των συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30°C όπου το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5 (κυανή γραμμή), 15 (πράσινη γραμμή) ή 30 min (κόκκινη γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.86 κατά την παρασκευή τους. ....	138
Σχήμα 4.92 Φάσματα FTIR συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος στα οποία το στεατικό οξύ προστέθηκε σε συγκεντρώσεις 6, 7, 8, 9 ή 10 % (w/w) του βάρους της αμυλόζης. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.86 κατά την παρασκευή τους. ....	139
Σχήμα 4.93 Φάσματα FTIR του Hylon VII (πράσινη γραμμή), του δεκανοϊκού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου Hylon VII-δεκανοϊκού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους. ....	141
Σχήμα 4.94 Φάσματα FTIR του Hylon VII (πράσινη γραμμή), του μυριστικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου Hylon VII-μυριστικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.93 κατά την παρασκευή τους. ....	141

Σχήμα 4.95 Φάσματα FTIR του Hylon VII (πράσινη γραμμή), του παλμιτικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου αμύλου Hylon VII-παλμιτικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.93 κατά την παρασκευή τους. ....	142
Σχήμα 4.96 Φάσματα FTIR του Hylon VII (πράσινη γραμμή), του στεατικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου Hylon VII-στεατικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.94 κατά την παρασκευή τους. ....	142
Σχήμα 4.97 Φάσματα FTIR του Hylon VII (πράσινη γραμμή), του ελαϊκού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου Hylon VII-ελαϊκού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.93 κατά την παρασκευή τους. ....	143
Σχήμα 4.98 Μικροφωτογραφίες CLSM αναδιεταγμένης αμυλόζης (α, β & γ) .....	144
Σχήμα 4.99 Μικροφωτογραφίες CLSM συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό οξύ (A1, A2 & A3) και μυριστικό οξύ (B1, B2 & B3). Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50). ....	144
Σχήμα 4.100 Μικροφωτογραφίες CLSM συμπλόκων αμυλόζης παλμιτικό (Γ1, Γ2 & Γ3) και με στεατικό οξύ (Δ1, Δ2 & Δ3). Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50). ....	145
Σχήμα 4.101 Μικροφωτογραφίες CLSM μιγμάτων αμυλόζης - δεκανοϊκού (E1, E2 & E3), - μυριστικού (ΣΤ1, ΣΤ2 & ΣΤ3), - παλμιτικού (Ζ1, Ζ2 & Ζ3) και - στεατικού οξέος (Η1, Η2 & Η3). Τα μίγματα παρασκευάστηκαν ύστερα από διασπορά της αμυλόζης και των λιπαρών οξέων σε νερό και δεν υπέστησαν κατεργασία με νερό και με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους. Τα βέλη συμβολίζουν περιοχές με κηλίδες λιπαρών οξέων. ....	146
Σχήμα 4.102 Μικροφωτογραφίες οπτικού μικροσκοπίου σάρωσης μιγμάτων αμυλόζης με μυριστικό (Θ1, Θ2 & Θ3) και με παλμιτικό οξύ (Ι1 & Ι2) που παρασκευάστηκαν στους 30°C. Τα βέλη συμβολίζουν περιοχές με κηλίδες λιπαρών οξέων. ....	147
Σχήμα 4.103 Μικροφωτογραφίες CLSM σταγονιδίων ελαϊκού οξέος (B1, B2) .....	147
Σχήμα 4.104 Μικροφωτογραφίες CLSM συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30°C (Γ1 & Γ2), 50 °C (Δ1 & Δ2) ή 70°C (E1 & E2). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.100 κατά την παρασκευή τους. ....	149
Σχήμα 4.105 Μικροφωτογραφίες CLSM μιγμάτων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30°C (ΣΤ1 & ΣΤ2), 50 °C (Ζ1 & Ζ2) ή 70°C (Η1 & Η2). Τα μίγματα παρασκευάστηκαν ύστερα από διασπορά της αμυλόζης και των λιπαρών οξέων σε νερό και κατόπιν δεν υπέστησαν	

κατεργασία με νερό και με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους. Τα βέλη συμβολίζουν περιοχές με κηλίδες λιπαρών οξέων. ....	150
Σχήμα 4.106 Μικροφωτογραφίες SEM συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό (A1, A2 & A3), μυριστικό (B1, B2 & B3), παλμιτικό (Γ1, Γ2 & Γ3) και στεατικό οξύ (Δ1, Δ2 & Δ3). Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους. Τα άσπρα βέλη συμβολίζουν τους σφαιρουλίτες ενώ τα κίτρινα βέλη τις λαμέλλες. ....	151
Σχήμα 4.107 Μικροφωτογραφίες SEM συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30°C (A1), 50°C (A2) ή 70°C (A3). Τα σύμπλοκα επεξεργάστηκαν όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.106 κατά την παρασκευή τους. Τα άσπρα βέλη συμβολίζουν τους σφαιρουλίτες ενώ τα κίτρινα βέλη τις λαμέλλες. ....	152
Σχήμα 4.108 Μικροφωτογραφίες SEM συμπλόκων αμυλόζης-λινελαϊκού οξέος (CLA) που παρασκευάστηκαν στους 30°C (A1), 50°C (A2) ή 70°C (A3). Τα σύμπλοκα επεξεργάστηκαν όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.106 κατά την παρασκευή τους. Τα άσπρα βέλη συμβολίζουν τους σφαιρουλίτες ενώ τα κίτρινα βέλη τις λαμέλλες. ....	153
Σχήμα 4.109 Μικροφωτογραφίες SEM pregel (α1, α2 & α3) ως έχει και μετά από διαλυτοποίησή τους στους 90° C για ~10 min σε αλκαλικό περιβάλλον (0,1N KOH) και ακόλουθη φυσική ξήρανσή σε ρεύμα αέρα (β1, β2 & β3). ....	155
Σχήμα 4.110 Μικροφωτογραφίες SEM pregel με μυριστικό (A1 & A2) και συμπλόκων pregel με παλμιτικό οξύ (B1 & B2) που παρασκευάστηκαν στους 30° C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και έπειτα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους. Τα άσπρα βέλη συμβολίζουν τους σφαιρουλίτες ενώ τα κίτρινα βέλη τις λαμέλλες. ....	156
Σχήμα 4.111 Μικροφωτογραφίες SEM φυσικού αμύλου Hylon VII (A1 & A2) ως έχει και μετά από διαλυτοποίησή τους στους 90° C για ~10 min σε αλκαλικό περιβάλλον (0,1N KOH) και ακόλουθη φυσική ξήρανσή σε ρεύμα αέρα (B1 & B2). ....	157
Σχήμα 4.112 Μικροφωτογραφίες SEM συμπλόκων Hylon VII με μυριστικό (A), παλμιτικό (B) και στεατικό οξύ (Γ) που παρασκευάστηκαν στους 30°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και έπειτα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν τη ξήρανσή τους. Τα μαύρα βέλη συμβολίζουν τους σφαιρουλίτες ενώ τα κίτρινα βέλη τις λαμέλλες. ....	158
Σχήμα 4.113 Καμπύλες θερμοσταθμικής ανάλυσης ελαϊκού οξέος και συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με	

νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.....	159
Σχήμα 4.114 Καμπύλες θερμοσταθμικής ανάλυσης λινελαϊκού οξέος (CLA) και συμπλόκων αμυλόζης-λινελαϊκού οξέος (CLA) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.....	160
Σχήμα 4.115 Καμπύλες θερμοσταθμικής ανάλυσης ελαϊκού οξέος σε ατμόσφαιρα αζώτου.....	161
Σχήμα 4.116 Καμπύλη θερμοσταθμικής ανάλυσης σε ρεύμα οξυγόνου συμπλόκου αμυλόζης-ελαϊκού οξέος (υγρασίας ~8%) που παρασκευάστηκαν στους 30°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.113 πριν την παρασκευή τους.....	162
Σχήμα 4.117 Καμπύλες θερμοσταθμικής ανάλυσης ελαϊκού οξέος και συμπλόκων pregel-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.....	163
Σχήμα 4.118 Καμπύλες θερμοσταθμικής ανάλυσης ελαϊκού οξέος και συμπλόκων αμύλου Hylon VII-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.....	163
Σχήμα 4.119 Ποσοστό συμπλεγμένων λιπαρών οξέων που παραλήφθηκαν μετά από ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ, σε τέσσερις διαφορετικούς χρόνους (30, 60, 90 ή 120 min).....	168
Σχήμα 4.120 Ηλεκτροφορητική κινητικότητα (μ/s)/(V/cm) αμυλόζης, συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό & λινελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30°C.....	176
Σχήμα 4.121 Ηλεκτροφορητική κινητικότητα (μ/s)/(V/cm) pregel, συμπλόκων pregel-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30°C.....	177
Σχήμα 4.122 Ηλεκτροφορητική κινητικότητα (μ/s)/(V/cm) Hylon VII και συμπλόκων Hylon VII-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30°C.....	179



Σχήμα 4.123 Διάμετρος σωματιδίων αμυλόζης (συγκέντρωση 1,5 %), συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30°C.....	181
Σχήμα 4.124 Διάμετρος σωματιδίων Hylon VII, συμπλόκων Hylon VII λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30°C.....	181
Σχήμα 4.125 Διάμετρος σωματιδίων αμυλόζης (συγκέντρωση 1 %), συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30°C.....	182
Σχήμα 4.126 (α) Διάγραμμα κατανομής μεγέθους σωματιδίων συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό και στεατικό οξύ. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C, (β) Διάγραμμα κατανομής μεγέθους σωματιδίων συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. ....	184
Σχήμα 4.127 Καμπύλες διεπιφανειακής τάσης ( $\gamma$ ) σε συνάρτηση με το χρόνο δεκανοϊκού οξέος (CA), μυριστικού οξέος (MA), ελαϊκού οξέος (OA) και καθαρής αμυλόζης στη διεπιφάνεια νερού/αέρα με τη μέθοδο της πλάκας Wilhelmy.....	187
Σχήμα 4.128 Καμπύλες διεπιφανειακής τάσης ( $\gamma$ ) σε συνάρτηση με το χρόνο, συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό (amylose-CA complex), μυριστικό (amylose-MA complex) και ελαϊκό οξύ (amylose-OA complex) στη διεπιφάνεια νερού/αέρα με τη μέθοδο της κρεμάμενης σταγόνας. Τα λιπαρά οξέα δεκανοϊκό οξύ (CA), μυριστικό οξύ (CA) και ελαϊκό οξύ (OA) προστέθηκαν σε συγκέντρωση 10 % του βάρους της αμυλόζης κατά το σχηματισμό των συμπλόκων.....	189
Σχήμα 4.129 Καμπύλες διεπιφανειακής τάσης ( $\gamma$ ) σε συνάρτηση με το χρόνο συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό οξύ (amylose-CA complex) και καθαρής αμυλόζης στη διεπιφάνεια νερού/αέρα με τη μέθοδο της πλάκας Wilhelmy. Για την παρασκευή των συμπλόκων το δεκανοϊκό οξύ (OA) προστέθηκε σε συγκέντρωση 0,1, 1 και 10 % του βάρους της αμυλόζης. ....	190
Σχήμα 4.130 Καμπύλες διεπιφανειακής τάσης ( $\gamma$ ) σε συνάρτηση με το χρόνο συμπλόκων αμυλόζης με μυριστικό (amylose-MA complex) και καθαρής αμυλόζης στη διεπιφάνεια νερού/αέρα με τη μέθοδο της πλάκας Wilhelmy. Το μυριστικό οξύ (MA) προστέθηκε σε συγκέντρωση 0,1, 1 και 10 % του βάρους της αμυλόζης κατά το σχηματισμό των συμπλόκων.....	190
Σχήμα 4.131 Καμπύλες διεπιφανειακής τάσης ( $\gamma$ ) σε συνάρτηση με το χρόνο των συμπλόκων αμυλόζης με ελαϊκό οξύ (amylose-OA complex) και της αμυλόζης στη διεπιφάνεια υγρού/αέρα με τη μέθοδο της πλάκας Wilhelmy. Το ελαϊκό οξύ (OA) προστέθηκε σε συγκέντρωση 0,1, 1 και 10 % του βάρους της αμυλόζης κατά το σχηματισμό των συμπλόκων.....	191

Σχήμα 4.132 Διεπιφανειακή τάση δυναμικής ισορροπίας ( $\gamma$ ) του δεκανοϊκού οξέος (CA), του μυριστικού οξέος (MA) και του ελαϊκού οξέος (OA) σε συνάρτηση με το λογάριθμο της συγκέντρωσης των λιπαρών οξέων ( $C_{FA}$ ). .....	192
Σχήμα 4.133 Περίσσεια λιπαρών οξέων (FA excess-ελεύθερα-μη συμπλεγμένα λιπαρά οξέα) σε συνάρτηση με την ολική συγκέντρωση των λιπαρών οξέων (FA total concentration-ελεύθερα και συμπλεγμένα λιπαρά οξέα) στο διάλυμα των συμπλόκων. CA: δεκανοϊκό οξύ, MA: μυριστικό οξύ & OA: ελαϊκό οξύ αντίστοιχα. ....	192
Σχήμα 4.134 Σχηματική απεικόνιση διαλύματος συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων όπου αναπαριστώνται τα μόρια ελεύθερων λιπαρών οξέων τα οποία προσροφώνται προς τη διεπιφάνεια νερού/αέρα και των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων στο εσωτερικό της έλικας της αμυλόζης.....	194
Σχήμα 4.135 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X αμυλόζης & πρωτεΐνης ορού γάλακτος. ....	195
Σχήμα 4.136 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X (α) συστήματος αμυλόζης-μυριστικού οξέος παρουσία πρωτεΐνης ορού γάλακτος, (β) συστήματος αμυλόζης-παλμιτικού οξέος παρουσία πρωτεΐνης ορού γάλακτος και (γ) συστήματος αμυλόζης-στεατικού οξέος παρουσία πρωτεΐνης ορού γάλακτος. Τα δείγματα υπέστησαν κατεργασία με νερό και κατόπιν με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανση τους. ....	196
Σχήμα 4.137 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X (α) συμπλόκων αμυλόζης-μυριστικού οξέος, (β) συμπλόκων αμυλόζης-παλμιτικού οξέος και (γ) συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος. Τα δείγματα υπέστησαν κατεργασία με νερό και κατόπιν με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανση τους. ....	196
Σχήμα 4.138 Θερμογραφήματα (α) συστημάτων αμυλόζης-μυριστικού οξέος-πρωτεΐνης ορού γάλακτος και (β) συμπλόκων αμυλόζης-μυριστικού οξέος. Τα δείγματα υπέστησαν κατεργασία με νερό και με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανση τους. ....	197
Σχήμα 4.139 Θερμογραφήματα (α) συστημάτων αμυλόζης-παλμιτικού οξέος-πρωτεΐνης ορού γάλακτος και (β) συμπλόκων αμυλόζης-παλμιτικού οξέος. Τα δείγματα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανση τους. ....	198
Σχήμα 4.140 Θερμογραφήματα (α) συστημάτων αμυλόζης-στεατικού οξέος-πρωτεΐνης ορού γάλακτος και (β) συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος. Τα δείγματα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανση τους. ....	198

Σχήμα 4.141 Στοιχειακή μικροανάλυση συστημάτων αμυλόζης με μυριστικό οξύ (α), παλμιτικό οξύ (β) και στεατικό οξύ (γ), παρουσία πρωτεΐνης ορού γάλακτος. Τα δείγματα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) κατά την παρασκευή τους.....	199
Σχήμα 4.142 Σχηματική απεικόνιση ξηραντηρίου με εκνέφωση.....	200
Σχήμα 4.143. Διάγραμμα κατανομής μεγέθους σωματιδίων συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-μυριστικού οξέος με διαφορετικό ποσοστό υγρασίας (Πίνακας 4.14).205	205
Σχήμα 4.144 Διάγραμμα κατανομής μεγέθους σωματιδίων συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικό ποσοστό υγρασίας (Πίνακας 4.15).205	205
Σχήμα 4.145 Διάγραμμα κατανομής μεγέθους σωματιδίων συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-μυριστικού οξέος με διαφορετικό ποσοστό υγρασίας (Πίνακας 4.16). .....	206
Σχήμα 4.146 Διάγραμμα κατανομής μεγέθους σωματιδίων συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικό ποσοστό υγρασίας (Πίνακας 4.17). .....	206
Σχήμα 4.147 Διάγραμμα κατανομής μεγέθους σωματιδίων συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικό ποσοστό υγρασίας (Πίνακας 4.18). .....	207
Σχήμα 4.148 Διάγραμμα κατανομής μεγέθους σωματιδίων συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (10%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικό ποσοστό υγρασίας (Πίνακας 4.19). .....	207
Σχήμα 4.149 Φαινομενική πυκνότητα συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%) με μυριστικό (α1) και με παλμιτικό οξύ (α2), των συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%) με μυριστικό (β1) και με παλμιτικό οξύ (β2) και των συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού 5% (γ1) και 10% (γ2) με παλμιτικό οξύ. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7: επαναλήψεις δειγμάτων (Πίνακες 4.14, 4.15, 4.16, 4.17, 4.18, 4.19) .....	211
Σχήμα 4.150 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X φυσικού αμύλου ταπιόκας και προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού. ....	212
Σχήμα 4.151 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X φυσικού αμύλου καλαμποκιού και αμύλου καλαμποκιού μετά από θέρμανση στους 70°C για 20 min. ....	212
Σχήμα 4.152 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-μυριστικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.14). 1, 2, 3, 4, 5: επαναλήψεις δειγμάτων.....	213
Σχήμα 4.153 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.15). 1, 2, 3, 4, 5: επαναλήψεις δειγμάτων.....	213

Σχήμα 4.154 Φάσματα περίθλασης ακτίνων συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-μυριστικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.16). 1, 2, 3, 4: επαναλήψεις δειγμάτων.....	214
Σχήμα 4.155 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.17). 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7: επαναλήψεις δειγμάτων .....	214
Σχήμα 4.156 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων φυσικού αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.18). 1, 2, 3, 4, 5: επαναλήψεις δειγμάτων .....	215
Σχήμα 4.157 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων φυσικού αμύλου καλαμποκιού (10%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.16). 1, 2, 3, 4, 5: επαναλήψεις δειγμάτων .....	216
Σχήμα 4.158 Βαθμός κρυσταλλικότητας (%) των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%) με μυριστικό (α) και με παλμιτικό (β) οξύ. 1, 2, 3, 4, 5: επαναλήψεις δειγμάτων .....	217
Σχήμα 4.159 Μέγεθος κρυστάλλων των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%) με μυριστικό οξύ (α) και με παλμιτικό οξύ (β). 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7: επαναλήψεις δειγμάτων ...	218
Σχήμα 4.160 Βαθμός κρυσταλλικότητας (%) των συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%) με μυριστικό (α) και με παλμιτικό (β) οξύ. 1, 2, 3, 4, 5, 6: επαναλήψεις δειγμάτων .....	218
Σχήμα 4.161 Μέγεθος κρυστάλλων των συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%) με μυριστικό οξύ (α) και με παλμιτικό οξύ (β). 1, 2, 3, 4, 5, 6: επαναλήψεις δειγμάτων.....	218
Σχήμα 4.162 Βαθμός κρυσταλλικότητας (%) των συμπλόκων φυσικού αμύλου καλαμποκιού (5%) με μυριστικό (α) και με παλμιτικό (β) οξύ. 1, 2, 3, 4, 5, 6: επαναλήψεις δειγμάτων .....	219
Σχήμα 4.163 Μέγεθος κρυστάλλων των συμπλόκων φυσικού αμύλου καλαμποκιού (10%) με μυριστικό οξύ (α) και με παλμιτικό οξύ (β). 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7: επαναλήψεις δειγμάτων .....	219
Σχήμα 4.164 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X (α) συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου (5%)-μυριστικού οξέος και (β) συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου (5%)-παλμιτικού οξέος πριν τη διεργασία της ξήρανσής με ψεκασμό. ....	220
Σχήμα 4.165 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X (α) συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-μυριστικού οξέος και (β) συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-παλμιτικού οξέος πριν τη διεργασία της ξήρανσής με ψεκασμό.....	220

Σχήμα 4.166 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων (α) φυσικού αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος και (β) συμπλόκων φυσικού αμύλου καλαμποκιού (10%)-παλμιτικού οξέος πριν τη διεργασία της ξήρανσής με εκνέφωση .....	221
Σχήμα 4.167 Σχήμα 4.167 Μικροφωτογραφίες SEM συμπλοκών φυσικού αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος πριν και μετά τη ξήρανσή με εκνέφωση .....	224



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της επίδρασης της θερμοκρασίας παρασκευής των συμπλόκων αμυλόζης και συστημάτων αμύλου με διάφορα λιπαρά οξέα καθώς και η επίδραση του μήκους αλυσίδας και του βαθμού ακορεστότητας των φιλοξενούμενων μορίων στα δομικά χαρακτηριστικά, στις θερμικές ιδιότητες και στα μορφολογικά χαρακτηριστικά των συμπλόκων. Επίσης, σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η *in vitro* μελέτη των προϊόντων αυτών αναφορικά με τη βιοδιαθεσιμότητά τους, καθώς και επίσης η μελέτη της θερμοκρασιακής και οξειδωτικής σταθερότητας των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων κάτω από δυσμενείς συνθήκες που συνήθως επικρατούν στη βιομηχανία, ώστε να διαπιστωθεί αν αυτά τα λιπαρά οξέα προστατεύονται επαρκώς με τη μορφή συμπλόκων. Για την παρασκευή των συμπλόκων, χρησιμοποιήθηκε αμυλόζη που παραλήφθηκε από άμυλο αρακά, προζελατινοποιημένο άμυλο φυσικού καλαμποκιού και άμυλο καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης (~70%), ενώ τα κορεσμένα και τα ακόρεστα λιπαρά οξέα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το δεκανοϊκό οξύ (C10:0), το μυριστικό οξύ (C14:0), το παλμιτικό οξύ (C16:0), το στεατικό οξύ (C18:0) το ελαϊκό οξύ (C18:1) και το συζευγμένο λινελαϊκό οξύ (C18:2). Ως θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων επιλέχτηκαν οι θερμοκρασίες 30, 50 ή 70°C. Επιπλέον, επιχειρήθηκε ο σχηματισμός ενός τριμερούς συμπλόκου αμυλόζης-λιπαρού οξέος-πρωτεΐνης (πρωτεΐνης ορού γάλακτος). Τέλος, μελετήθηκε η συμπλοκοποίηση σε πιλοτική βιομηχανική κλίμακα, με τη χρήση αμύλου ταπιόκας, προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού και αμύλου φυσικού καλαμποκιού με λιπαρά οξέα (μυριστικό και παλμιτικό οξύ) σε ξηραντήριο με εκνέφωση (spray drier).

Τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X κατέδειξαν ότι όλα τα σύμπλοκα εμφάνιζαν ημικρυσταλλική δομή, ενώ στην περίπτωση της συμπλοκοποίησης των αμύλων με τα λιπαρά οξέα, η παρουσία της αμυλοπηκτίνης παρεμπόδιζε τη δημιουργία των κρυστάλλων. Ο βαθμός κρυσταλλικότητάς των συμπλόκων ήταν ανάλογος της θερμοκρασίας παρασκευής τους. Η θερμοκρασία διάσπασης των συμπλόκων αυξήθηκε με αύξηση του μήκους αλυσίδας του λιπαρού οξέος και με αύξηση της θερμοκρασίας παρασκευής των συμπλόκων. Η ενδόθερμη κορυφή διάσπασης των συμπλόκων ήταν ευρεία κάτι που οφείλεται στην οργάνωση της δομής των συμπλόκων. Η μελέτη συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα με την τεχνική της φασματοσκοπίας υπερύθρου επιβεβαίωσε τον επιτυχή σχηματισμό των συμπλόκων. Η συνεστιακή μικροσκοπία με ακτίνες λέιζερ έδειξε ομοιογενή κατανομή των λιπαρών οξέων σε όλη τη μήτρα της αμυλόζης που αποτελεί ένδειξη

επιτυχούς συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα. Σύμφωνα με την ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης, η μορφολογία της επιφάνειας των συμπλόκων παρουσίασε διατεταγμένη δομή με τη εμφάνιση ραβδώσεων και σφαιρικών εξάρσεων. Ο εγκλεισμός των λιπιδίων στην έλικα της αμυλόζης τα προστατεύσε αποτελεσματικά έναντι της οξειδωσης σε συνθήκες θέρμανσης.

Το ποσοστό των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων που παραλήφθηκε με εκχύλιση με υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub> ύστερα από ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων, κυμαινόταν μεταξύ 88-95%. Η ηλεκτροφορητική κινητικότητα της αμυλόζης, των αμύλων και των αντίστοιχων συμπλόκων με τα λιπαρά οξέα σχετίζονται με τη διαμόρφωση των μορίων στο χώρο. Η διάμετρος των σωματιδίων των συμπλόκων σε pH=12,7 εμφανίστηκε να είναι κατά πολύ μικρότερη από τις αντίστοιχες σε pH=4,6. Η αύξηση της επιφανειακής τάσης των συμπλόκων αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα απέδειξε ότι τα λιπαρά οξέα εγκλείονται στο εσωτερικό της έλικας της αμυλόζης, με αποτέλεσμα να μην είναι διαθέσιμα για προσρόφηση στη διεπιφάνεια υγρού/αέρα. Η σύνθεση ενός τριαδικού συμπλόκου αμύλου-λιπιδίου-πρωτεΐνης δεν ήταν εφικτή. Η παραγωγή συμπλόκων σε πιλοτική κλίμακα σε ξηραντήριο με εκνέφωση οδήγησε στη δημιουργία συμπλόκων με χαμηλό βαθμό κρυσταλλικότητάς.



## ABSTRACT

The present work was initiated to explore in a systematic way the effect of preparation temperature of complexes of amylose and starch systems with various fatty acids and the effect of the chain length and the degree of unsaturation of guest molecules, on their structural, morphological characteristics and their thermal properties as well. Moreover, the aim of this work was to investigate the complex bioavailability using enzyme hydrolysis and their oxidation stability under adverse conditions usually prevailing in industry to explore whether these fatty acids are effectively protected from oxidation when they are complexed with amylose or not. The preparation of the complexes was carried out using purified and characterized amylose extracted from dry pea seeds, pregelatinized native maize starch and maize starch with a high amylose content (~ 70%) (amylomaize-Hylon VII) whereas the saturated and unsaturated fatty acids employed were decanoic acid (C10: 0), myristic acid (C14: 0), palmitic acid (C16: 0), stearic acid (C18: 0) oleic acid (C18: 1) and conjugated linoleic acid (C18: 2). The selected temperatures of complex formation were 30, 50 and 70°C. Furthermore, the possibility of a three way interaction among amylose, fatty acid and whey protein was investigated. Finally, the spray drying technique was used in order to produce dried starch-fatty acid complexes in powder form. For this purpose, pregelatinized starch, tapioca starch and normal maize starch were employed as host molecules and fatty acids with different chain lengths (myristic acid C14:0 and palmitic acid C16:0) were used as guest molecules.

X-ray diffractograms showed that all complexes were semicrystalline regardless of the temperature of their preparation. Nevertheless, the X-ray spectra revealed that the presence of amylopectin in the starch system hindered to certain degree the formation of crystalline complexes. The degree of crystallinity of the complexes was proportional to the temperature at which it was formed. The dissociation temperature of the complexes increased with the increase in the preparation temperature and the fatty acid chain length. FT-IR spectroscopy confirmed the successful formation of complexes. Confocal Laser Scanning Microscopy images showed a uniform distribution of fatty acids throughout the matrix of the amylose. SEM microscopy revealed that the morphology of the complexes was either in the form of spherulites which protrude from the surface of the particles or in the form of elongated lamellae, which have cylindrical shape and are closely aggregated parallel to each other. Unsaturated fatty acids were effectively protected from thermal degradation when they are in the form of molecular inclusion complexes with amylose.

The percentage of fatty acid extracted using super critical CO<sub>2</sub> from enzymically hydrolyzed amylose-fatty acid complexes ranged from 90-95%. The electrophoretic mobility of amylose, starches and the corresponding complexes with the fatty acids was affected by the conformation of molecules in space. The particle size diameter of the complexes at pH = 12.7 was much smaller than that of the size of the suspensions of the complexes at pH = 4.6. The dynamic interfacial tension of the mixed amylose – fatty acid solution was significantly higher than that of the fatty acid solution, showing that some of the fatty acid was no longer available to adsorb at the interface and implied its molecular inclusion in the complex. The formation of a ternary starch-lipid-protein complex was not feasible. The production of complexes on a pilot scale using spray dryer led to the formation of complexes with a low degree of crystallinity.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παραγωγή διατροφολογικών τροφίμων (functional foods) και ιδιαίτερα η δημιουργία νανοφορέων για τη στοχευόμενη και ελεγχόμενη πρόσληψη βιοδραστικών ουσιών από τον άνθρωπο αποτελεί την αιχμή της σύγχρονης τεχνολογίας στο τομέα των βιοεπιτημών σε παγκόσμιο επίπεδο. Η εισαγωγή αυτών των βιοδραστικών ουσιών στα τρόφιμα αποτελεί μεγάλη τεχνολογική πρόκληση εξαιτίας του γεγονότος ότι πολλές από τις ουσίες αυτές παρουσιάζουν μικρή σταθερότητα στις συνθήκες που επικρατούν κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας των τροφίμων, όπως και κατά την αποθήκευση και κατανάλωσή τους, δηλ. στις ακραίες συνθήκες που επικρατούν στο πεπτικό σύστημα. Σήμερα, η βιομηχανία αντιμετωπίζει την πρόκληση να αναπτύξει νέα, εύγευστα, υψηλής διατροφικής αξίας τρόφιμα εμπλουτισμένα σε βιοδραστικές ουσίες, π.χ. λιπαρά οξέα, τα οποία μπορούν να προσδώσουν ευεξία και να μειώσουν τον κίνδυνο ανάπτυξης χρόνιων παθήσεων. Το φυσικό άμυλο παρουσιάζει μια πολύ ελκυστική εναλλακτική λύση για να χρησιμοποιηθεί ως ένας φορέας για την προστασία των ευαίσθητων και ασταθών ουσιών. Είναι άφθονο στη φύση, αρκετά φθινό, διατίθεται στο εμπόριο σε μεγάλες ποσότητες και είναι πλήρως βιοδιασπώμενο. Επιπλέον, το πιο σημαντικό χαρακτηριστικό του αμύλου, καθιστώντας το ιδανικό για ενθυλάκωση, είναι η αμυλόζη, η οποία έχει την μοναδική ιδιότητα μεταξύ των άλλων βιοπολυμερών να αλληλεπιδρά φυσικά με πολικές και μη πολικές ενώσεις, όπως λιπαρά οξέα, και να σχηματίσει σύμπλοκα εγκλεισμού.

Πρόσφατα, υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για την έρευνα σχετικά με τα σύμπλοκα αμυλόζης για τη χρήση τους ως πιθανών μικρο- ή νανοφορέων βιοδραστικών ενώσεων που είναι ευαίσθητα στη θερμότητα και στην οξειδωτική. Η δημοφιλία τους στηρίζεται στο γεγονός ότι τα σύμπλοκα είναι ενώσεις μοριακού εγκλεισμού που θα μπορούσαν να προστατεύσουν πολύ πιο αποτελεσματικά τις ευαίσθητες ουσίες σε σύγκριση με τις υπάρχουσες συμβατικές τεχνικές ενθυλάκωσης.

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η διερεύνηση της επίδρασης της θερμοκρασίας κατά την παρασκευή των συμπλόκων αμυλόζης και συστημάτων αμύλου με διάφορα λιπαρά οξέα καθώς και της επίδρασης του μήκους αλυσίδας και του βαθμού ακορεστότητας των φιλοξενούμενων μορίων στα δομικά χαρακτηριστικά, στις θερμικές ιδιότητες και στα μορφολογικά χαρακτηριστικά των συμπλόκων. Επιπλέον, σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η *in vitro* μελέτη των προϊόντων αυτών αναφορικά με τη βιοδιαθεσιμότητά τους και επίσης η μελέτη της θερμοκρασιακής και οξειδωτικής σταθερότητας των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων κάτω από δυσμενείς συνθήκες που συνήθως επικρατούν στη βιομηχανία, για να διαπιστωθεί αν αυτά τα λιπαρά οξέα προστατεύονται επαρκώς με τη μορφή συμπλόκων, ώστε να μπορεί η εργαστηριακή τους παρασκευή να επεκταθεί σε βιομηχανική κλίμακα για χρήση τους ως νανοφορέων.

Το αντικείμενο της παρούσας διδακτορικής διατριβής, πέρα από το καθαρά επιστημονικό ενδιαφέρον που παρουσιάζει, είναι ιδιαίτερης καινοτομικής τεχνολογικής σημασίας, γιατί τα προϊόντα που παρασκευάστηκαν προήλθαν από χαμηλού κόστους φυσικές και βρώσιμες πρώτες ύλες, που αποτελούν συστατικά βασικών αγροτικών προϊόντων της Ελλάδας (καλαμπόκι) και είναι δυνατό να βρουν εφαρμογές σε στρατηγικούς οικονομικούς τομείς της βιομηχανίας, όπως είναι η παραγωγή διατροφολογικών τροφίμων, φαρμάκων κλπ.

# 1. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

## 1.1. ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΑΜΥΛΟΥ

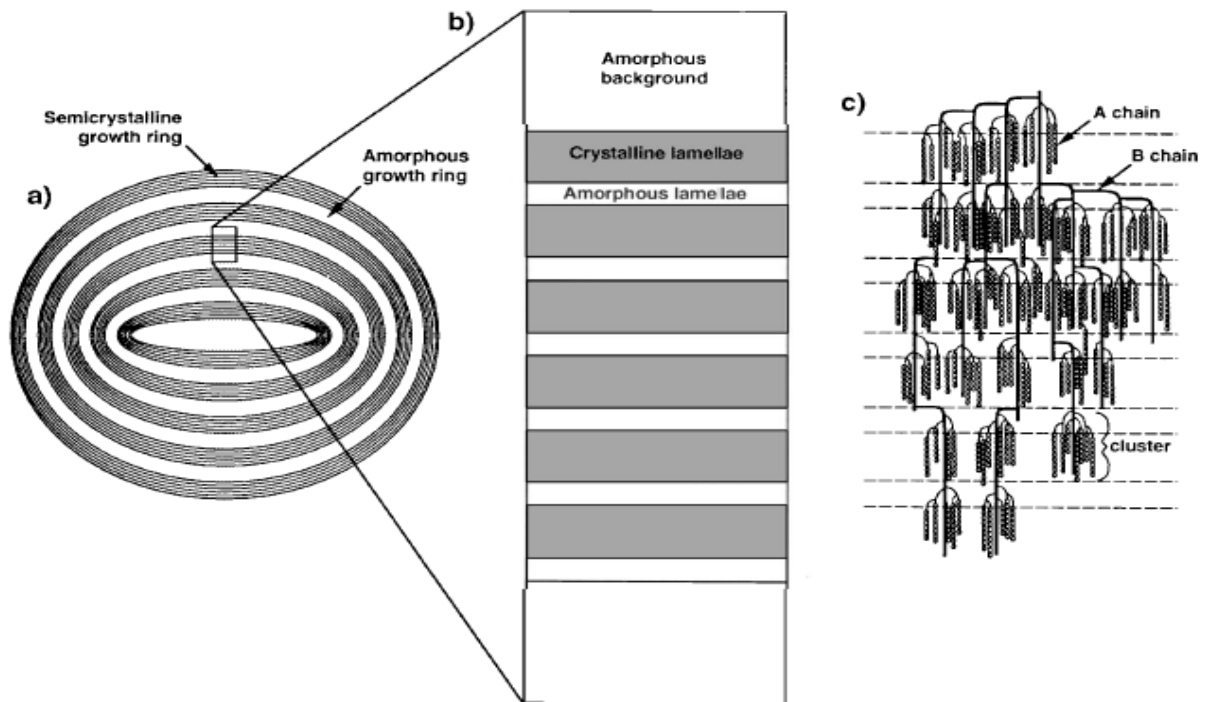
Το άμυλο είναι ένας πολυσακχαρίτης που βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες στα δημητριακά, στα όσπρια, στους κόνδυλους (πατάτα) και στους ξηρούς καρπούς. Το άμυλο αποτελεί σημαντικό απόθεμα των πράσινων φυτών και θεωρείται το δεύτερο ενεργειακό απόθεμα στη φύση μετά την κυτταρίνη (Belitz et al., 2007). Είναι μίγμα δύο ομοπολυμερών, την αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη, με δομικό μόριο την άνυδρη γλυκόζη. Η αμυλόζη είναι ευθύγραμμο πολυμερές, ενώ η αμυλοπηκτίνη είναι διακλαδισμένο πολυμερές.

Το καλαμπόκι θεωρείται η πιο σημαντική πηγή αμύλου στον κόσμο, συμβάλλοντας σχεδόν στο 80% της παγκόσμιας παραγωγής αμύλου, και ακολουθούν το σιτάρι (>8%), η πατάτα (>5%), και η μανιόκα ή ταπιόκα (cassava) (>5%). Άμυλα από ρύζι, κριθάρι, βρώμη, γλυκοπατάτα, σάγο (sago), κλπ, συμβάλλουν επίσης στην παγκόσμια παραγωγή αμύλου σε μικρότερες όμως ποσότητες. Άμυλα διαφορετικής προέλευσης έχουν μοναδικές χαρακτηριστικές ιδιότητες που αφορούν στη μορφή, το μέγεθος, την κατανομή του μεγέθους, τη σύνθεση και την κρυσταλλικότητά των κόκκων (Belitz et al., 2007).

Το άμυλο αποτελεί κύρια τροφή για τον άνθρωπο, ενώ η κατανάλωση αμυλούχων τροφών εξασφαλίζει περίπου το 50-55% της απαραίτητης καθημερινής ενέργειας. Το άμυλο χρησιμοποιείται σε πολλές βιομηχανικές εφαρμογές, και αυτό οφείλεται στις λειτουργικές του ιδιότητες, καθώς επίσης και στο γεγονός ότι είναι μια εύκολα διαθέσιμη, ασφαλής και χαμηλού κόστους πρώτη ύλη. Στα δημητριακά (σιτάρι, καλαμπόκι, βρώμη) το άμυλο περιέχεται σε ποσοστό 60-80%, στα όσπρια σε ποσοστό 50-60% και στις πατάτες και στην ταπιόκα σε ποσοστό 16-20%. Τα πλέον εμπορικά διαθέσιμα άμυλα που χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων είναι το άμυλο φυσικού καλαμποκιού, το κηρώδες άμυλο υβριδίου καλαμποκιού, το άμυλο υβριδίου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό σε αμυλόζη (70%), άμυλο ταπιόκας και το άμυλο σιταριού.

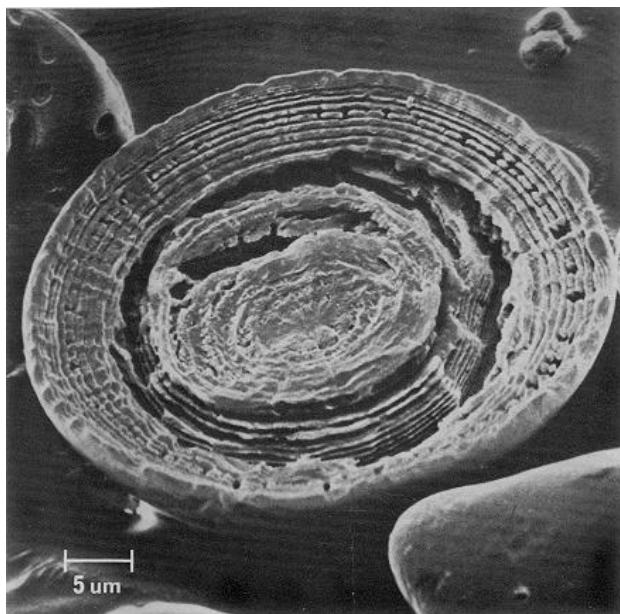
Το άμυλο βρίσκεται στα φυτά με τη μορφή κόκκων, των οποίων το μέγεθος και το σχήμα διαφέρει ανάλογα με το είδος και την ποικιλία. Οι αμυλόκκοκοι στη φυσική τους κατάσταση παρουσιάζουν διαδοχικές ομόκεντρες στοιβάδες υψηλής πυκνότητας που εναλλάσσονται με ομόκεντρες στοιβάδες χαμηλής πυκνότητας (Σχήματα 1.1 & 1.2). Οι στοιβάδες υψηλής πυκνότητας σχηματίζονται κατά τη

διάρκεια της ημέρας, ενώ οι στοιβάδες χαμηλής πυκνότητας σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της νύχτας. Είναι ποικίλου μεγέθους (2-150  $\mu\text{m}$ ), και χαρακτηρίζονται από μερική κρυσταλλικότητα (περίπου 70% της μάζας ενός αμυλοκόκκου θεωρείται ότι είναι άμορφο και 30% θεωρείται ότι είναι κρυσταλλικό). Οι άμορφες περιοχές περιέχουν τη κύρια ποσότητα της αμυλόζης, αλλά και ένα σημαντικό μέρος της αμυλοπηκτίνης. Η κρυσταλλικότητα οφείλεται αποκλειστικά στην αμυλοπηκτίνη. Στο πολωτικό μικροσκόπιο οι αμυλόκοκκοι δίνουν χαρακτηριστική διπλή διάθλαση με τη μορφή σταυρού της Μάλτας.



Σχήμα 1.1 Απεικόνιση της ημικρυσταλλικής δομής του αμυλοκόκκου (Waigh et al., 1996).

Η αναλογία αμυλόζης προς αμυλοπηκτίνη σε ένα φυσικό άμυλο είναι περίπου 1:3, ενώ η ακριβής τιμή εξαρτάται από την βοτανική προέλευση του αμύλου (Buléon et al., 1998; Jane, 2004; Singh, et al, 2003; Tester et al., 2004). Η αναλογία στην οποία αυτά τα δύο πολυμερή βρίσκονται στους κόκκους του αμύλου επηρεάζει σημαντικά τις λειτουργικές του ιδιότητες (Charley & Weaver, 1998; Autio, 1996).



Σχήμα 1.2 Μικροφωτογραφία αμυλοκόκκων όπου διακρίνονται οι ομόκεντρες στοιβάδες

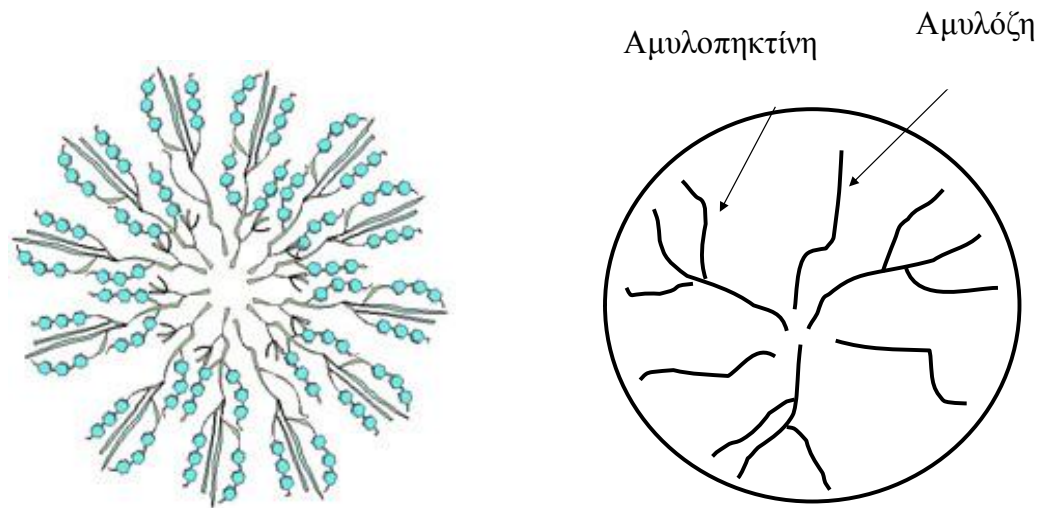
Στα περισσότερα είδη αμύλου, η περιεκτικότητά σε αμυλόζη κυμαίνεται από 25 έως και 30% και το υπόλοιπο είναι αμυλοπηκτίνη. Ωστόσο, υπάρχουν είδη αμύλου με πολύ χαμηλή ή μηδενική περιεκτικότητά σε αμυλόζη, όπως οι κηρώδεις ποικιλίες (υβρίδια) αμύλου που περιέχουν λιγότερο από 1% αμυλόζη, ενώ υπάρχουν υβρίδια φυτών τα οποία έχουν την ικανότητα να σχηματίσουν αμυλοκόκκους με υψηλό ποσοστό σε αμυλόζη. Έτσι, για παράδειγμα, στο καλαμπόκι υψηλής περιεκτικότητάς σε αμυλόζη (amylomaize) το ποσοστό της αμυλόζης είναι 30 ή 70 ή 90% (Tester et al., 2004).

Τα άμυλα από όσπρια χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητά σε αμυλόζη (24-65%) (Hoover & Sosulski, 1991). Για παράδειγμα, η περιεκτικότητά σε αμυλόζη στον αρακά με λείο σπέρμα (smooth seed) κυμαίνεται γύρω στο 20% (Nielsen & Gleason, 1945), 36% (Kooistra, 1962; Biliaderis et al., 1979; Colonna et al., 1982), 38% (Kellenberger et al., 1951) και στο 35% (Schneider, 1951), ενώ στον αρακά με συρρικνωμένο σπέρμα (wrinkled seed) στο 60,5–88%, (Praznik et al., 1991; Vose, 1977).

### 1.1.1. Δομή αμύλου

Οι αμυλόκοκκοι συντίθενται από μόρια α-D-γλυκόζης και μικρές ποσότητες από άλλα συστατικά, κυρίως λιπίδια, πρωτεΐνες και φώσφορο, τα οποία μπορούν να επηρεάσουν τις λειτουργικές ιδιότητες του αμύλου (Galliard & Bowler, 1987; Gracza, 1965; Lineback & Rasper, 1988). Οι λειτουργικές ιδιότητες του αμύλου οφείλονται στα δύο κύρια υψηλού μοριακού βάρους συστατικά,

την αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη, καθώς και στην οργάνωση αυτών των μακρομορίων στη δομή των αμυλοκόκκων (Paredes-Lopez et al., 1994). Μέσα στους κόκκους του αμύλου, τα μόρια της αμυλόζης και της αμυλοπηκτίνης μαζί με περιορισμένη ποσότητα νερού οργανώνονται σε μικύλλια. Η αμυλόζη είναι σχετικά ευθύγραμμο πολυμερές, ενώ η αμυλοπηκτίνη είναι διακλαδισμένο πολυμερές (Σχήμα 1.3). Η αμυλόζη και η αμυλοπηκτίνη έχουν διαφορετική διαμόρφωση και διαφορετικές ιδιότητες οι οποίες έχουν μελετηθεί εκτενώς από πολλούς ερευνητές (French, 1972; Banks & Greenwood, 1975; Lineback, 1984, 1986; Morrison & Karkalas, 1990; Kent & Evers, 1994; Seib, 1994, Zobel & Stephen, 1995; Tester & Karkalas, 2002).



Σχήμα 1.3 Σχηματική απεικόνιση των δύο συστατικών του αμύλου: αμυλόζη, το σχετικά γραμμικό πολυμερές της α-D-γλυκόζης και αμυλοπηκτίνη, το πολυδιακλαδισμένο πολυμερές της α-D-γλυκόζης.

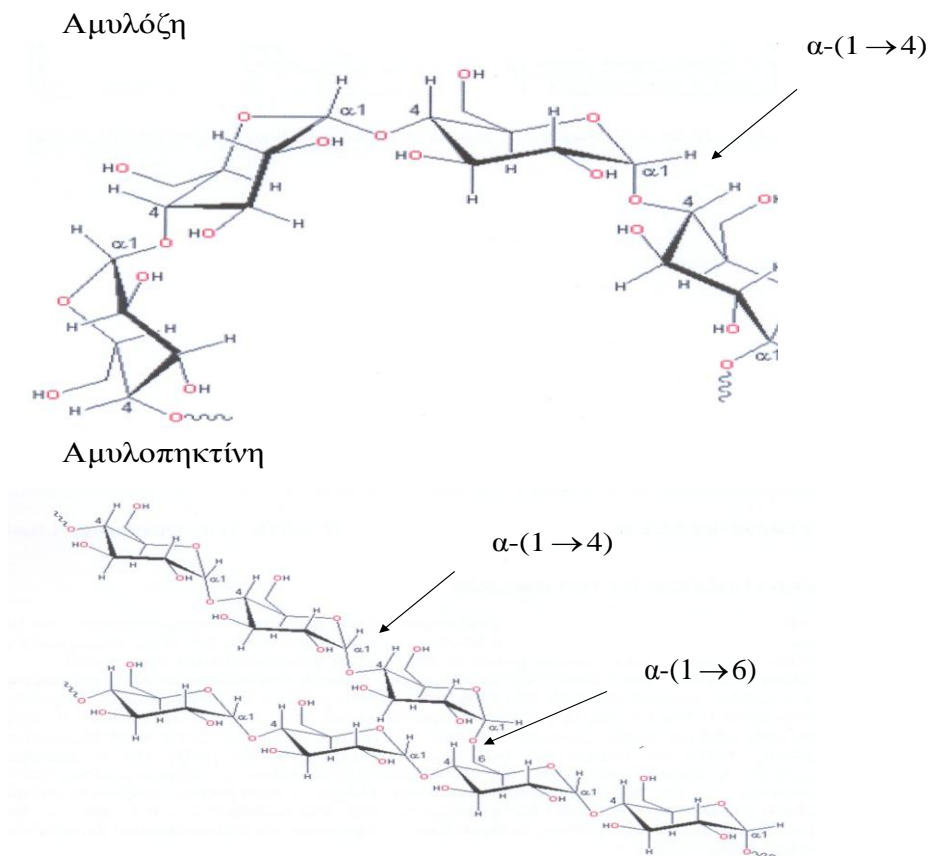
Η αμυλόζη είναι ένα σχετικά γραμμικό πολυμερές της α-D-γλυκόζης με α-(1→4) γλυκοζιτικούς δεσμούς και με ελάχιστο αριθμό διακλαδώσεων (~1%) (Bulèon et al., 1998; Hizukuri, 1986; Lineback, 1986; Manners, 1985; Tester et al., 2004) που συνδέονται με την κύρια αλυσίδα με α-(1→6) γλυκοζιτικούς δεσμούς (Tester & Karkalas, 2002) (Σχήμα 1.4). Ανάλογα με την προέλευση του αμύλου, το μόριο της αμυλόζης αποτελείται από 200-700 μόρια γλυκόζης (Tester & Karkalas, 2002) με μοριακό βάρος  $1 \times 10^5$ - $1 \times 10^6$  (Mua & Jackson, 1997; Bulèon et al., 1998). Η ενζυμική υδρόλυση της αλυσίδας επιτυγχάνεται με α-αμυλάση, β-αμυλάση και γλυκοαμυλάση. Η β-αμυλάση δεν αποικοδομεί πλήρως το μόριο σε μαλτόζη, αλλά τερματίζει στις διακλαδώσεις κατά μήκος της αλυσίδας με α-(1→6) γλυκοζιτικούς δεσμούς.

Η αμυλοπηκτίνη, σε αντίθεση με την αμυλόζη, είναι ένα πολυδιακλαδισμένο πολυμερές της α-D-γλυκόζης (Σχήμα 1.4). Ο γλυκοζιτικός δεσμός στην αλυσίδα είναι α-(1→4) και η διακλάδωση συνδέεται με την αλυσίδα με δεσμό α-(1→6). Κάθε διακλάδωση έχει περίπου 15-25 μόρια

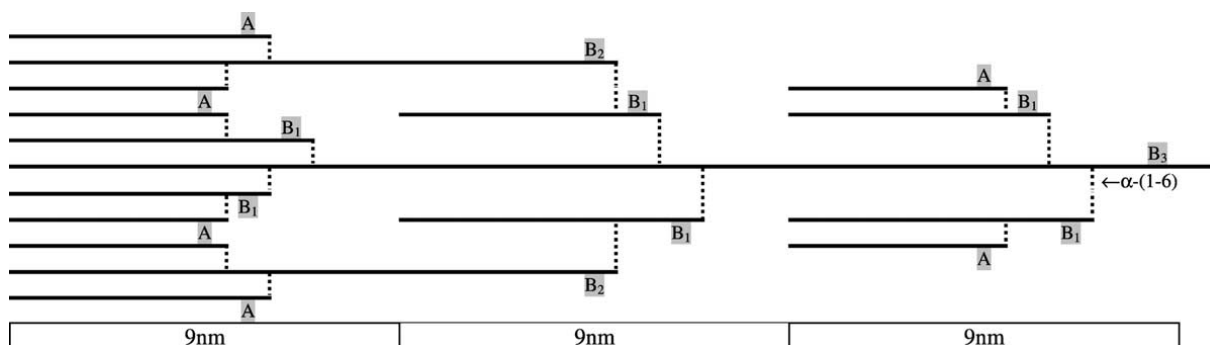


γλυκόζης (Σχήμα 1.5). Η αμυλοπηκτίνη είναι πολύ μεγαλύτερο μόριο από την αμυλόζη με μοριακό βάρος  $1 \times 10^7$ - $1 \times 10^9$  (Bulèon et al., 1998; Morrison & Karkalas, 1990; Mua & Jackson, 1997). Το μόριο της αμυλοπηκτίνης αποτελείται από τρεις τύπους αλυσίδων. Το μήκος της αλυσίδας τους είναι περίπου 12-24 μονάδων D-γλυκόζης, ανάλογα με τη βοτανική προέλευση του αμύλου (Franco et al., 2002; Hizukuri, 1985; Li et al., 2001; Mua & Jackson, 1997).

Εκτός από την αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη, το άμυλο περιέχει και άλλα συστατικά. Στο άμυλο δημητριακών υπάρχουν λιπίδια σε ποσοστό 0,5 με 1%, ενώ στο άμυλο που δεν προέρχεται από τα δημητριακά το ποσοστό των λιπιδίων είναι ελάχιστο. Επιπλέον, υπάρχουν και άλλα συστατικά, όπως πρωτεΐνες σε ποσοστό λιγότερο από 0,5% που βρίσκονται κυρίως στην επιφάνεια των αμυλοκόκκων και επηρεάζουν τη λειτουργικότητά του (Collado & Corke, 2003) και ιχνοστοιχεία όπως ασβέστιο, κάλιο, μαγνήσιο, νάτριο και φώσφορος σε ποσοστό μικρότερο από 0,4% (Galliard & Bowler, 1987; Tester et al., 2004). Το άμυλο αρακά θεωρείται ότι περιέχει σχεδόν μηδενική ποσότητα λιπιδίων. Οι Eliasson & Wahlgren (2004) αναφέρουν, ότι όσο μεγαλύτερο ποσοστό αμυλόζης περιέχεται σε ένα άμυλο δημητριακών τόσο περισσότερη είναι η περιεκτικότητά σε λιπίδια. Αυτό εξηγεί το λόγο που το άμυλο καλαμποκιού υψηλής



Σχήμα 1.4 Δομή αμυλόζης και αμυλοπηκτίνης



Σχήμα 1.5 Σχηματική απεικόνιση της αμυλοπηκτικής με  $\alpha$ -(1,4) γλυκοζιτικούς δεσμούς (A, B1–B3) στην αλυσίδα ενώ η διακλάδωση συνδέεται με την αλυσίδα με  $\alpha$ -(1,6) γλυκοζιτικούς δεσμούς (Hizukuri, 1986).

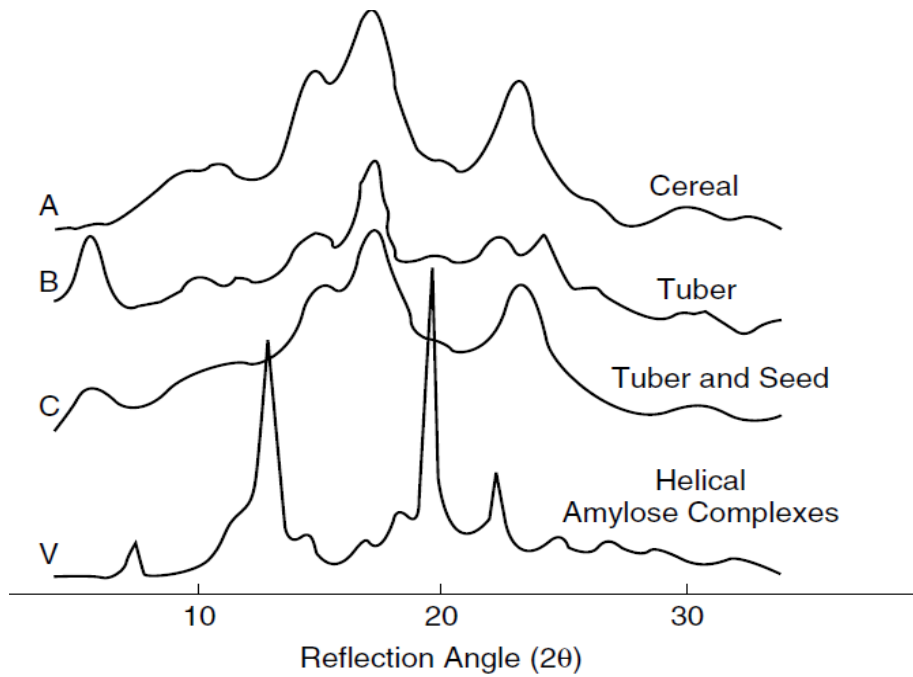
περιεκτικότητάς σε αμυλόζη έχει μεγαλύτερο ποσοστό λιπιδίων σε σχέση με το κανονικό άμυλο καλαμποκιού. Τα λιπίδια απαντούν στο άμυλο κυρίως με τη μορφή λυσοφωσfolιπιδίων και ελεύθερων λιπαρών οξέων (Bulèon & Colonna, 2007). Επίσης, στο άμυλο ανιχνεύονται χαμηλά ποσοστά φωσφόρου που βρίσκονται με τη μορφή φωσfolιπιδίων (Collado & Corke, 2003; Bulèon & Colonna, 2007), καθώς επίσης και άζωτο.

### 1.1.2. Κρυσταλλικότητα άμυλου

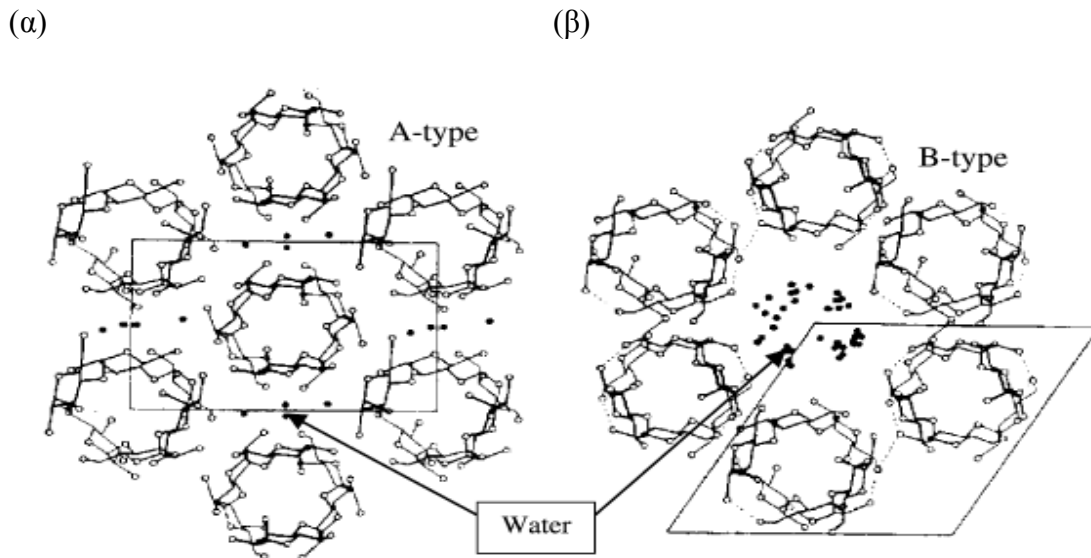
Οι αμυλόκοκκοι είναι εν μέρει κρυσταλλικοί και η κρυσταλλικότητά οφείλεται αποκλειστικά στην αμυλοπηκτίνη (Veregin et al., 1986). Η κρυσταλλική δομή των αμυλοκόκκων μπορεί να μελετηθεί με την τεχνική της περίθλασης ακτίνων X (X-ray Diffraction, XRD). Τα άμυλα εμφανίζονται με δύο κυρίως τύπους κρυσταλλικότητας ως Α-άμυλα (δημητριακών καρπών) και ως Β-άμυλα (κονδύλων). Ένας τρίτος τύπος C-άμυλου αποτελεί μίγμα των τύπων Α και Β (Banks & Greenwood, 1975; Wu & Sarko, 1978; Sevenou et al., 2002) και απαντά κυρίως στα όσπρια (Σχήμα 1.6). Ο βαθμός κρυσταλλικότητάς εξαρτάται από την περιεκτικότητά σε νερό. Για παράδειγμα, 24% είναι για το αφυδατωμένο στον αέρα άμυλο πατάτας (19,8% νερό), 26-35% για το ενυδατωμένο προϊόν (45-55% νερό) και μόνο 17% για άμυλο που έχει ξηρανθεί με  $P_2O_5$  και στη συνέχεια έχει επανυδατωθεί (Belitz et al., 2007).

Στην Α μορφή οι διπλές έλικες του μορίου αμυλοπηκτίνης παρουσιάζουν πιο συμπαγή διάταξη σε σχέση με αυτές της Β-μορφής, όπου εμφανίζονται με πιο ανοιχτή διευθέτηση στο χώρο και περιέχουν περισσότερα μόρια νερού (Σχήμα 1.7). Η Α-μορφή και η Β-μορφή χαρακτηρίζονται από

παράλληλες διπλές δεξιόστροφες (Lim et al., 1994) ή αριστερόστροφες έλικες (Imberty et al., 1988; Imberty et al., 1991). Σε αντίθεση με την παραπάνω παρατήρηση, αρκετοί ερευνητές αναφέρουν ότι τα σύμπλοκα αμυλόζης V-μορφής (Σχήμα 1.6) είναι αριστερόστροφα, ενώ οι διπλές έλικες (A- ή B-τύπος πολυμορφισμού) είναι δεξιόστροφες (Veregin et al., 1987).



Σχήμα 1.6 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X όπου εμφανίζονται οι A-, B-, C- και V- μορφές (Liu, 2005).



Σχήμα 1.7 Διευθέτηση των διπλών ελίκων αμυλοπηκτίνης στην A-μορφή (α) και στη B-μορφή (β). Τα μόρια νερού παρουσιάζονται με μαύρα σημεία (Wu & Sarko, 1978).

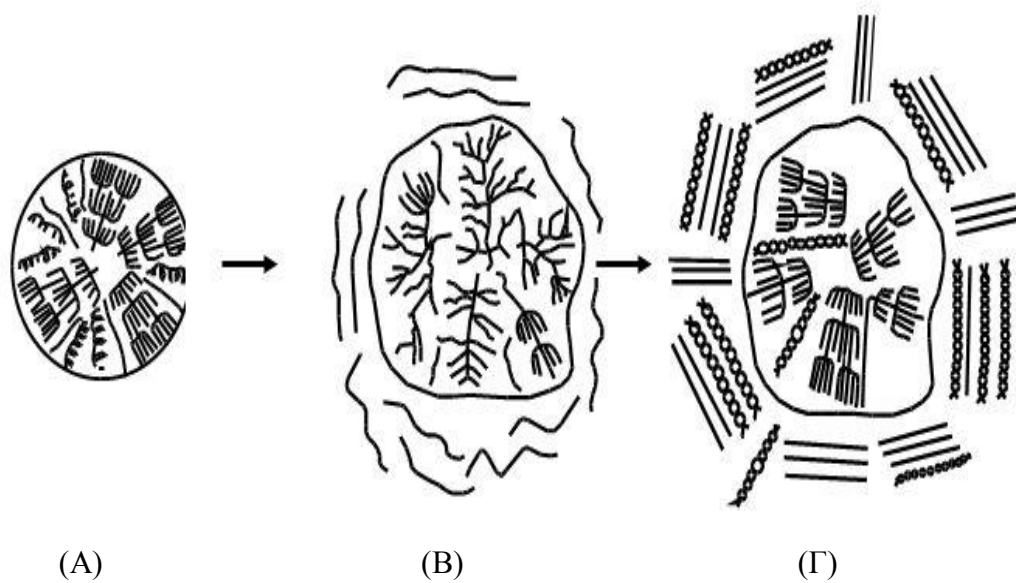
### 1.1.3. Ζελατινοποίηση και αναδιάταξη του αμύλου

Με τον όρο ζελατινοποίηση (gelatinization) του αμύλου εννοούμε τη μη αντιστρεπτή διόγκωση των κόκκων με νερό κατά τη θέρμανσή του πάνω από μια κρίσιμη θερμοκρασία (θερμοκρασία ζελατινοποίησης). Οι αμυλόκοκκοι είναι αδιάλυτοι σε κρύο νερό (Knight, 1965). Σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος, οι αμυλόκοκκοι απορροφούν νερό αντιστρεπτά (μέχρι 25%) και διογκώνονται ελαφρά (9-20%). Κατά τη θέρμανση με νερό σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από τη θερμοκρασία ζελατινοποίησης του αμύλου, οι αμυλόκοκκοι χάνουν τη κρυσταλλικότητά τους και διογκώνονται μη αντιστρεπτά (Cui, 2005; Debet & Gidley, 2006; Tester & Karkalas, 2002). Η πορεία της ζελατινοποίησης εξαρτάται από τη βοτανική προέλευση του αμύλου, τη θερμοκρασία που χρησιμοποιείται και την περιεκτικότητά σε νερό του αιωρήματος. Για παράδειγμα ξηρό άμυλο, με 1-3% υγρασία υπόκειται μόνο σε μικρές αλλαγές μέχρι θερμοκρασίας 180°C, ενώ άμυλο με 60% υγρασία ζελατινοποιείται εντελώς σε θερμοκρασίες περίπου 70°C (Belitz et al., 2007). Κάθε είδος αμύλου χαρακτηρίζεται από τη θερμοκρασία ζελατινοποίησής του, η οποία μπορεί και να μεταβληθεί με τις συνθήκες επεξεργασίας και σύστασης του τροφίμου.

Η θερμοκρασία ζελατινοποίησης, η οποία ουσιαστικά καλύπτει ένα εύρος θερμοκρασιών, επηρεάζεται κυρίως από την περιεκτικότητά του αιωρήματος σε νερό. Καθώς το νερό δρα ως πλαστικοποιητής για τους κρυσταλλίτες του αμύλου, η παρουσία του μειώνει τη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης και κατά συνέπεια τη θερμοκρασία στην οποία τήκονται οι κρυσταλλίτες. Αξίζει να σημειωθεί πως δεν είναι δυνατόν όλοι οι συνδυασμοί αμύλου, νερού και θερμοκρασίας να οδηγήσουν σε ζελατινοποίηση, αλλά υπάρχει μία ελάχιστη περιεκτικότητά νερού και μία συγκεκριμένη θερμοκρασία που οδηγούν στο φαινόμενο αυτό. Η θερμοκρασία αυτή εξαρτάται και από το είδος του αμύλου. Έτσι, ένα αιώρημα αμύλου από καλαμπόκι υψηλής περιεκτικότητάς σε αμυλόζη με συγκέντρωση 25% έχει θερμοκρασία ζελατινοποίησης τους 70°C, ενώ ένα αιώρημα αμύλου από ρύζι με συγκέντρωση 20% ζελατινοποιείται στους 60°C (Autio, 1996; Zobel & Stephen, 1995).

Οι Jenkins & Donald (1998) αναφέρουν ότι το νερό πρώτα εισέρχεται στις άμορφες περιοχές των κόκκων προκαλώντας τη διόγκωσή τους. Εφόσον, η περιεκτικότητά νερού στους αμυλοκόκκους είναι αρκετά μεγάλη, σπάζουν οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των μορίων στις κρυσταλλικές διπλές έλικες, στις άμορφες περιοχές των κόκκων, με συνέπεια την τήξη των κρυστάλλων. Με την συνεχιζόμενη διόγκωση των αμυλοκόκκων, τα συστατικά τους, όπως η αμυλόζη διαλυτοποιείται και εξέρχεται στη συνεχή υδατική φάση που την περιβάλλει, ενώ η αμυλοπηκτίνη παραμένει στους αμυλοκόκκους (Buléon & Colonna, 2007).

Οι διαφορετικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται καθορίζουν τη θερμοκρασία ζελατινοποίησης, επομένως οι τιμές που αναφέρονται στη βιβλιογραφία διαφέρουν αρκετά μεταξύ τους, ακόμη και για το ίδιο το άμυλο. Συμπερασματικά, κατά τη ζελατινοποίηση του αμύλου συμβαίνουν τα εξής φαινόμενα: ενυδάτωση και αρχική διόγκωση των αμυλοκόκκων, διαλυτοποίησή της αμυλόζης, απώλεια της διπλοδιαθλαστικότητας των αμυλοκόκκων και τέλος διάρρηξη των αμυλοκόκκων (Σχήμα 1.8).



Σχήμα 1.8. Ζελατινοποίηση και αναδιάταξη αμύλου. (Α): άμυλο, (Β) Ζελατινοποιημένο άμυλο, (Γ): Αναδεδιαταγμένο άμυλο

Με τον όρο αναδιάταξη (retrogradation) εννοείται η μη αντιστρεπτή μετάβαση από τη διαλυτοποιημένη ή ιδιαίτερα διογκωμένη κατάσταση σε μια αδιάλυτη, συρρικνωμένη, μικροκρυσταλλική κατάσταση. Όταν το ζελατινοποιημένο άμυλο ψυχθεί, με το χρόνο γίνεται συσσωμάτωση και καθίζηση. Πρόκειται για μια διαδικασία, κατά την οποία τα ζελατινοποιημένα μόρια του αμύλου επανασυνδέονται για να σχηματίζουν μια διπλή ελικοειδή κρυσταλλική δομή (Keetels et al., 1996). Η αναδιάταξη του αμύλου μπορεί να διαρκέσει από μερικές ώρες (στην περίπτωση αμύλου υψηλής περιεκτικότητάς σε αμυλόζη) μέχρι και αρκετές ημέρες (στην περίπτωση αμύλου υψηλής περιεκτικότητάς σε αμυλοπηκτίνη) (Σχήμα 1.8). Για παράδειγμα, η διάρκεια αναδιάταξης του αμύλου του αρακά είναι μεγαλύτερη σε σύγκριση από αυτή του αμύλου

από δημητριακά αλλά μικρότερη από αυτή του αμύλου της πατάτας. Σύμφωνα με τους Ratnayke et al. (2002), αυτό πιθανότατα οφείλεται στα διαφορετικά μήκη αλυσίδας της αμυλοπηκτίνης.

#### **1.1.4. Εξαγωγή αμύλου από φυτικές πηγές**

Η εξαγωγή του αμύλου σε βιομηχανική κλίμακα γίνεται κυρίως από καλαμπόκι, πατάτα (Β. Ευρώπη), σιτάλευρο (Καναδάς, ΗΠΑ και Αυστραλία), ρύζι (Νότια Αφρική και Νότια Ασία) καθώς και ταπιόκα (Νότια Αφρική). Η εξαγωγή του αμύλου από αρακά θεωρείται μια δύσκολη διαδικασία, εξαιτίας της παρουσίας αδιάλυτων πρωτεϊνών και φυτικών ινών (Schoch & Maywald, 1967) και ως εκ τούτου δεν διατίθεται εμπορικά.

Η παραγωγή κλασμάτων αμύλου μπορεί να γίνει είτε με ξηρή είτε με υγρή μέθοδο. Η ξηρή μέθοδος περιλαμβάνει την ξηρή άλεση και έπειτα την κοσκίνιση ή/και τον αεροδιαχωρισμό αυτών των κλασμάτων (air classification) (Schoch & Maywald, 1967; Reichert & Youngs 1978; Hoover & Sosulski, 1985; Ratnayke et al., 2001, Tyler et al., 1984). Η τεχνική του αεροδιαχωρισμού χρησιμοποιείται σήμερα ευρύτατα από τις βιομηχανίες. Με την ξηρή άλεση επιτυγχάνεται μείωση του μεγέθους των σωματιδίων ώστε οι αμυλόκοκκοι να διαχωριστούν αποτελεσματικά από το πρωτεϊνικό πλέγμα. Στη συνέχεια, επαναλαμβάνοντας την παραπάνω διαδικασία (ξηρή άλεση-αεροδιαχωρισμός), και έπειτα ξεπλύματα των παραλαμβανόμενων κλασμάτων του αμύλου, επιτυγχάνεται σχεδόν ολική απομάκρυνση των πρωτεϊνών. Η επιτυχής απομάκρυνση των πρωτεϊνών εξαρτάται από παραμέτρους, όπως το μέγεθος και η περιεκτικότητά σε πρωτεΐνη των κλασμάτων που θα υποστούν τον αεροδιαχωρισμό. Η τελική περιεκτικότητά της πρωτεΐνης στο παραλαμβανόμενο άμυλο ανέρχεται στο 0,25%.

Η υγρή μέθοδος περιλαμβάνει υγρή άλεση και επαναλαμβανόμενες διηθήσεις μέσω ηθμού από πολυπροπυλένιο με μέγεθος πόρων 20 και 70  $\mu\text{m}$ , σε συνδυασμό με διάφορα πρωτόκολλα εκχύλισης χρησιμοποιώντας διαλύτη 0,02% NaOH. Η παραπάνω διαδικασία συμβάλλει αποτελεσματικά στη παραλαβή αμύλου με μικρή περιεκτικότητά σε πρωτεΐνη (Hoover & Sosulski, 1985).

#### **1.1.5. Τεχνικές διαχωρισμού αμυλόζης και αμυλοπηκτίνης**

Για το διαχωρισμό της αμυλόζης, απαιτείται εκχύλιση με νερό σε περίσσεια σε θερμοκρασία ελαφρώς μεγαλύτερη από τη θερμοκρασία ζελατινοποίησης του αμύλου, με σκοπό να εκχυλιστεί η αμυλόζη σε όσο γίνεται μεγαλύτερη ποσότητα. Ωστόσο, είναι προτιμότερο η εκχύλιση να γίνεται σε

χαμηλότερες θερμοκρασίες από τη θερμοκρασία ζελατινοποίησης του αμύλου, διότι σε υψηλότερες θερμοκρασίες εξάγεται και η αμυλοπηκτίνη. Ωστόσο, καθαρή γραμμική αμυλόζη μπορεί να ληφθεί σε χαμηλότερες θερμοκρασίες, αλλά δεν ολοκληρώνεται η εξαγωγή της, με αποτέλεσμα τα μεγάλα μόρια να παραμένουν στους αμυλοκόκκους, ακόμα και αν η εκχύλιση πραγματοποιείται σε υψηλότερες θερμοκρασίες.

## 1.2. ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

### 1.2.1. Δομή λιπαρών οξέων

Τα λιπαρά οξέα αποτελούν μακριές αλυσίδες υδρογονανθράκων με μια μεθυλική ομάδα από τη μια πλευρά και μια καρβοξυλική ομάδα από την άλλη. Είναι αλειφατικά μονοκαρβονικά οξέα, που απαντούν στη φύση και έχουν σχεδόν πάντα άρτιο αριθμό ατόμων άνθρακα. Κάθε άτομο άνθρακα είναι συνδεδεμένο με μερικά άτομα υδρογόνου. Ο ακριβής αριθμός των ατόμων υδρογόνου εξαρτάται από το κατά πόσο ο κάθε άνθρακας είναι κορεσμένος ή όχι.

Τα λιπαρά οξέα αναλόγως του αν έχουν διπλούς δεσμούς ή όχι στην αλειφατική αλυσίδα διακρίνονται σε ακόρεστα (unsaturated fatty acids, UFA) και κορεσμένα λιπαρά οξέα (saturated fatty acids, SFA) αντίστοιχα (Choudhury & Juliano 1980; Fujino 1978). Αν διαθέτουν ένα διπλό δεσμό ονομάζονται μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (monounsaturated fatty acids, MUFA) και αν διαθέτουν δύο ή περισσότερους, ονομάζονται πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (polyunsaturated fatty acids, PUFA).

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα κατατάσσονται σε  $\omega$ -3,  $\omega$ -6 και  $\omega$ -9 λιπαρά οξέα. Η θέση του διπλού δεσμού ως προς το  $\omega$ μέγα-άκρο (αυτό που φέρει τη μεθυλοομάδα) καθορίζει αν ένα πολυακόρεστο λιπαρό οξύ είναι  $\omega$ -3 (n-3) ή  $\omega$ -6 (n-6).

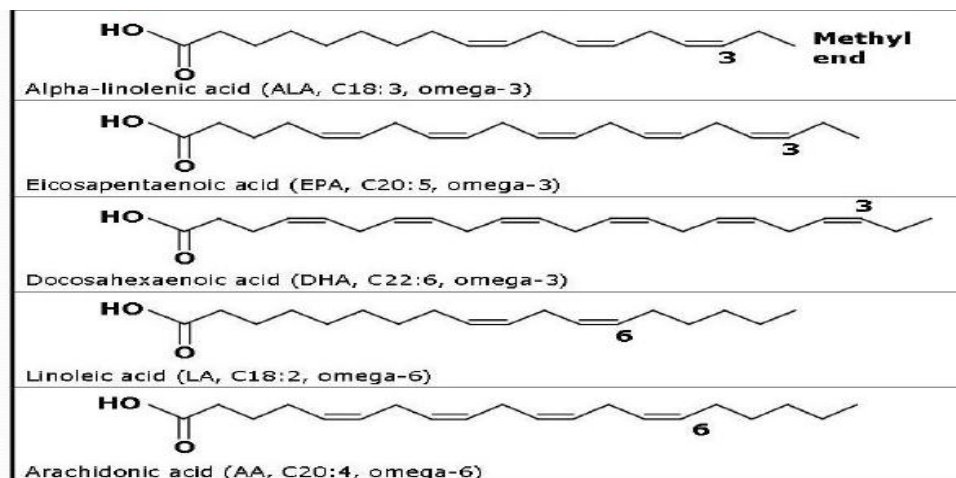
Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα συναντώνται κυρίως στα ζωικής προέλευσης προϊόντα, όπως το κρέας, τα ψάρια, το βούτυρο, το πλήρες γάλα και το τυρί (Hulshof et al., 1999; Hu et al., 1999), ενώ τα ακόρεστα λιπαρά οξέα συναντώνται κυρίως σε φυτικά προϊόντα και σε πολλούς ελαιούχους σπόρους, όπως στον ηλιόσπορο, στο καλαμπόκι καθώς και σε πολλούς ξηρούς καρπούς. Ορισμένα λιπαρά ψάρια περιέχουν σημαντικές συγκεντρώσεις ακόρεστων λιπαρών οξέων. Από τα κορεσμένα λιπαρά οξέα, αυτά που απαντούν σε υψηλή αναλογία είναι το παλμιτικό (16:0) και το στεατικό (18:0), ενώ σε ορισμένα φυτικά έλαια (φοινικοπυρηνέλαιο, κοκοφοινικέλαιο) απαντούν σε υψηλή αναλογία λιπαρά οξέα, όπως λαυρικό (12:0) και μυριστικό (14:0). Από τα ακόρεστα λιπαρά οξέα,

στα περισσότερα φυτικά έλαια υπάρχουν σε υψηλή αναλογία το ελαϊκό (18:1) και το λινελαϊκό (18:2). Στα ζωικά λίπη, σε υψηλό ποσοστό βρίσκεται μόνο το ελαϊκό οξύ, ενώ τα ιχθυέλαια χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητά σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Στον Πίνακα 2.1. παρουσιάζονται τα κυριότερα κορεσμένα και ακόρεστα λιπαρά οξέα, ενώ στα Σχήματα 1.9 & 1.10 οι δομές των ακόρεστων ω-3 και ω-6 λιπαρών οξέων και η σχηματική απεικόνιση μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, αντίστοιχα.

Οι Chayanoot et al. (2005) αναφέρουν ότι τα μικρής αλειφατικής αλυσίδας μήκους λιπαρά οξέα έχουν χαμηλότερο σημείο τήξης σε σύγκριση με τα μεγάλοι μήκους αλυσίδας λιπαρά οξέα, ενώ τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, σε σύγκριση με τα κορεσμένα λιπαρά οξέα ίδιου μήκους αλυσίδας, παρουσιάζουν χαμηλότερο σημείο τήξης.

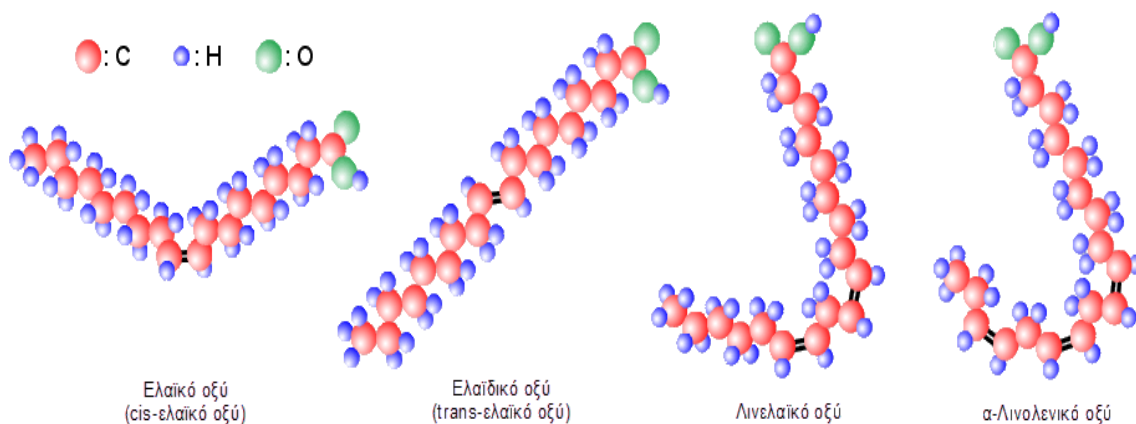
Πίνακας 1.1 Κορεσμένα (λαυρικό, παλμιτικό, στεατικό) και ακόρεστα (ελαϊκό, λινελαϊκό, λινολενικό, αραχιδονικό) λιπαρά οξέα.

Λιπαρό οξύ	Συντακτικός τύπος
Λαυρικό (12:0)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$
Παλμιτικό (16:0)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
Στεατικό (18:0)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
Ελαϊκό (18:1)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Λινελαϊκό (18:2)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$
Λινολενικό (18:3)	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$
Αραχιδονικό (20:4)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$



Σχήμα 1.9 ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα





Σχήμα 1.10 Σχηματική απεικόνιση μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων.

### 1.2.2. Διατροφική αξία πολυακόρεστων λιπαρών οξέων

Τα ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα είναι γνωστά για τις ευεργετικές τους ιδιότητες. Θεωρούνται απαραίτητα λιπαρά οξέα. Επειδή δεν μπορεί να τα συνθέσει ο ανθρώπινος οργανισμός, πρέπει να λαμβάνονται μέσω της τροφής (Assies et al., 2004; Ristic & Ristic, 2003). Πολλές έρευνες και κλινικές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί στα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και συγκεκριμένα στα ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα. Η δράση των ω-3 λιπαρών οξέων έχει μελετηθεί στον οργανισμό και έχει αποδειχθεί η θετική επίδρασή τους σε διάφορες ασθένειες (υπέρταση, διαβήτης, καρδιαγγειακές παθήσεις, καρκίνος) (Galli & Simopoulos, 1989; Salem et al., 1996). Συγκεκριμένα, η κατανάλωση των ω-3 λιπαρών οξέων έχει συσχετισθεί με τον μειωμένο κίνδυνο καρδιαγγειακών ασθενειών (Kris-Etherton et al., 2002). Τα μεγάλης αλυσίδας ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) συμβάλλουν στη μείωση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης στο πλάσμα του αίματος (Harris et al., 2008). Κλινικές έρευνες απέδειξαν τα ευεργετικά αποτελέσματα στο καρδιαγγειακό σύστημα των Εσκιμών Ινουί στη Γροιλανδία, όπου ψάρια, όπως μουρούνες και μπακαλιάρια, αποτελούν την κύρια τροφή τους (Bang & Dyeberg, 1980). Πολλές έρευνες δείχνουν ότι τα ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα έχουν αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και συμβάλλουν θετικά στην αντιμετώπιση χρόνιων ασθενειών, όπως τα κακοήθη νεοπλάσματα, ο διαβήτης, νευροεκφυλιστικές ασθένειες, η ασθένεια Alzheimer και η αρθρίτιδα (Karoor & Huang, 2006). Πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι πολυακόρεστα λιπαρά οξέα συμβάλλουν θετικά στη θεραπεία της κατάθλιψης και της σχιζοφρένειας (Schram et al., 2007).

### **1.2.3. Σταθερότητα πολυακόρεστων λιπαρών οξέων**

Η οξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων επηρεάζει την ποιότητα και τη θρεπτική αξία των τροφίμων (Dacaranhe & Terao, 2001). Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και γενικά όλες οι λιπαρές ύλες οξειδώνονται, υπό την επίδραση της θερμότητας παρουσία οξυγόνου. Η οξειδωση των λιπών οδηγεί στην καταστροφή των λιπαρών οξέων και στη διεξαγωγή πολλών δευτερευουσών αντιδράσεων, με προϊόντα ανεπιθύμητα όπως, αλδεΐδες, κετόνες κ.λ.π., τα οποία έχουν ενοχοποιηθεί (ειδικά οι αλδεΐδες) στη γήρανση, στη μεταλλαξογένεση και στην καρκινογένεση (Kampa et al., 2007).

Όσο μεγαλύτερος είναι ο βαθμός ακορεστότητας των λιπαρών οξέων τόσο πιο επιρρεπή είναι στην οξειδωση. Σύμφωνα με τους Miyashita et al. (1986) και Cho et al. (1987), η οξειδωτική σταθερότητα των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων γενικά μειώνεται με αύξηση του βαθμού ακορεστότητας (Miyashita et al., 1986; Cho et al., 1987). Εφόσον η ευαισθησία των ακόρεστων λιπαρών οξέων στην οξειδωση σχετίζεται με το βαθμό ακορεστότητας, τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) οξειδώνονται ευκολότερα από τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (MUFA) (Mottram, 1998).

## *1.3. ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΑΜΥΛΟΖΗΣ*

### **1.3.1. Μεθοδολογία παρασκευής συμπλόκων αμυλόζης-λιπιδίων**

Για την παρασκευή των συμπλόκων αμυλόζης-λιπιδίων, στη βιβλιογραφία αναφέρονται διάφορες μέθοδοι, με επικρατέστερες τις ακόλουθες δύο:

α) η μέθοδος του DMSO (Eliasson & Krog, 1985), σύμφωνα με την οποία, η αμυλόζη και το φιλοξενούμενο λιπαρό οξύ διαλύονται σε DMSO, αναμιγνύονται και μετά το σχηματισμό των συμπλόκων ακολουθεί αραίωση με νερό και παραλαβή των αδιάλυτων στο νερό συμπλόκων σε στερεή κατάσταση.

β) η αλκαλική μέθοδος (Karkalas et al., 1995) σύμφωνα με την οποία, η αμυλόζη και τα λιπαρά οξέα διαλύονται σε KOH και, μετά το σχηματισμό των συμπλόκων, το μίγμα εξουδετερώνεται με ένα οξύ, αδιαλυτοποιείται και λαμβάνεται σε στερεή κατάσταση.

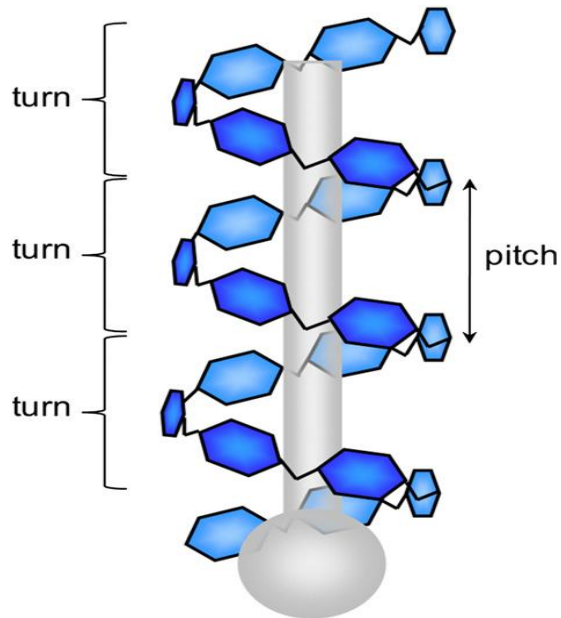
Επίσης, έχει γίνει προσπάθεια να παρασκευαστούν σύμπλοκα αμυλόζης βιοτεχνολογικά, χρησιμοποιώντας φωσφορυλάση της πατάτας (Gelders et al., 2005b). Το ένζυμο αυτό επιμηκώνει μια αρχική μικρού μήκους αλυσίδα, όπως η μαλτοεξόζη ή η μαλτοεπτόζη, με μεταφορά της

γλυκόζης της φωσφορικής-1-γλυκόζης στο μη αναγωγικό άκρο της αρχικής αλυσίδας. Όταν συμβαίνει αυτή η αντίδραση, παρουσία κατάλληλης συμπλεκόμενης ένωσης, οι αλυσίδες αμυλόζης που δημιουργούνται συμπλοκοποιούνται μαζί της και ακολουθεί καθίζηση.

### **1.3.2. Δομή συστημάτων εγκλεισμού αμυλόζης**

Η αμυλόζη σχηματίζει σύμπλοκα εγκλεισμού με διάφορες οργανικές και ανόργανες ενώσεις, όπως ιώδιο (Bates et al., 1943; Immel & Lichtenthaer, 2000), αλκοόλες (Whittam et al., 1989), λιπίδια (Biliaderis et al., 1985; Gelders et al., 2005a,b), λιπαρά οξέα (Karkalas et al., 1995; Raphaelides & Karkalas, 1988), διμεθυλοσουλφοξείδιο (Winter & Salko, 1974), υδροξείδιο του καλίου (Sarko & Biloski, 1990) σχηματίζοντας αδιάλυτες στο νερό κρυσταλλικές έλικες V-μορφής. Μέσα σε αυτήν την έλικα εισέρχεται και διατάσσεται το φιλοξενούμενο μόριο δημιουργώντας ένα σταθερό σύμπλοκο του οποίου η πολική κεφαλή βρίσκεται έξω από το σύμπλοκο, ενώ η αλειφατική αλυσίδα βρίσκεται στο εσωτερικό της ελικοειδούς κοιλότητας (Σχήμα 1.11). Η έλικα της αμυλόζης είναι υδρόφιλη στην εξωτερική επιφάνεια και υδρόφοβη στην εσωτερική της κοιλότητα (Immel & Lichtenthaer, 2000) ευνοώντας το σχηματισμό υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων (Winter & Sarko, 1974). Σύμφωνα με τους Carlson et al. (1979) και Godet et al. (1993), τα μόρια του λιπαρού οξέος οργανώνονται στο εσωτερικό της ελικοειδούς κοιλότητας ως μονομερή (κεφάλι με κεφάλι και ουρά με ουρά) (Σχήμα 1.12), ενώ οι καρβοξυλικές ομάδες των λιπαρών οξέων, λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης, παραμένουν εκτός της έλικας. Αντίθετα, οι Shogren et al. (2006) θεωρούν ότι οι καρβοξυλικές ομάδες των λιπιδίων εγκλείονται στο εσωτερικό της έλικας.

Όπως περιγράφεται για τα σύμπλοκα αμυλόζης με ιώδιο (Rundle & French, 1943), υδροξείδιο του καλίου (Sarko & Biloski, 1980) και διμεθυλο-σουλφοξείδιο (DMSO) (Winter & Salko, 1974), κάθε σύστημα παρουσιάζει τις δικές του συγκεκριμένες μορφές. Σύμφωνα με τους Valletta et al. (1964), η διάμετρος της έλικας και οι διαστάσεις της καθορίζονται τόσο από το μέγεθος της φιλοξενούμενης ένωσης όσο και από την ποσότητα του νερού, η οποία είναι δεσμευμένη στις δομικές μονάδες άνυδρης γλυκόζης. Οι Carlson et al. (1979) αναφέρουν ότι για τη συμπλοκοποίηση ενός μορίου λιπιδίου σε έλικα αμυλόζης, οργανωμένης σε τρεις στροφές, με το κάθε βήμα (η απόσταση μεταξύ ομοίων σημείων σε δύο διαδοχικές στροφές) να περιέχει 6 έως 8



Σχήμα 1.11 Η αριστερόστροφη έλικα της αμυλόζης με ένα φιλοξενούμενο μόριο του οποίου η πολική κεφαλή βρίσκεται έξω από το σύμπλοκο, ενώ η αλειφατική αλυσίδα βρίσκεται στο εσωτερικό της ελικοειδούς κοιλότητας (Putseys et al., 2010a).



Σχήμα 1.12 Σχηματική απεικόνιση συμπλόκου αμυλόζης-λιπαρών οξέων. Στο εσωτερικό της έλικας της αμυλόζης διατάσσονται τα μόρια του λιπαρού οξέος (κεφαλή με κεφαλή και ουρά με ουρά).

μόρια γλυκόζης, απαιτούνται 18 έως 24 μονάδες γλυκόζης. Συγκεκριμένα, λιπίδια και γραμμικές αλκοόλες σχηματίζουν σύμπλοκα με 6 μονάδες άνυδρης γλυκόζης ανά στροφή με εσωτερική διάμετρο 0,48nm, διακλαδισμένες αλκυλο-ενώσεις σχηματίζουν σύμπλοκα με 7 μονάδες άνυδρης γλυκόζης ανά στροφή (εσωτερική διάμετρο 0,63nm) ενώ πιο ογκώδεις ενώσεις σχηματίζουν σύμπλοκα με 8 μονάδες άνυδρης γλυκόζης ανά στροφή με εσωτερική διάμετρο 0,78nm (Rappenecker & Zugenmaier, 1981). Αυτά τα σύμπλοκα αναφέρονται ως V6, V7 και V8-αμυλόζη, αντιστοίχως (Rondeau-Mouro et al., 2004; Le Bail et al., 2005). Τα φιλοξενούμενα μόρια που βρίσκονται εξ' ολοκλήρου εντός της έλικας αναφέρονται ως V6-I, ενώ όταν βρίσκονται στους ενδιάμεσους χώρους αναφέρονται ως V6-II και V6-III (Biais et al., 2006). Αντίθετα, ορισμένοι

ερευνητές αναφέρουν ότι η V7 είναι μια μορφή της V6-III (Conde-Petit et al., 2006; Le Bail et al., 2005).

Όπως αναφέρεται από τους Biliaderis & Seneviratne (1990), η συμπλοκοποίηση μεταξύ αμυλόζης και ενός συμπλεκόμενου μορίου είναι αντιστρέψιμη διαδικασία. Η μελέτη των συμπλόκων με τη τεχνική της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC) δείχνει μια ενδόθερμη αντίδραση κατά την θέρμανση και μια εξώθερμη κατά την ψύξη. Σύμφωνα με τους Karkalas et al. (1995), Rappenecker & Zugenmaier (1981) και Yamashita & Monobe (1971), για τη διάσπαση του συμπλόκου μεταξύ της αμυλόζης και της φιλοξενούμενης ένωσης απαιτείται παροχή θερμότητας, γεγονός που υποδεικνύει την ύπαρξη συγκεκριμένων δυνάμεων για τη σταθεροποίηση της διαμόρφωσης της έλικας. Η σταθερότητα των συμπλόκων οφείλεται σε δεσμούς van der Waals, σε υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις και σε δεσμούς υδρογόνου (Rappenecker & Zugenmaier, 1981). Συγκεκριμένα, ενδομοριακοί δεσμοί, όπως δεσμοί van der Waals και υδρογόνου, αναπτύσσονται μεταξύ των στρωμάτων κατά μήκος της έλικας και τη σταθεροποιούν, ενώ, αντίθετα, διαμοριακές δυνάμεις σταθεροποιούν την αλληλεπίδραση μεταξύ της αμυλόζης και της φιλοξενούμενης ένωσης (Banks & Greenwood, 1971; Immel & Lichtenthaler, 2000; Karkalas et al. 1995).

Ο σχηματισμός των συμπλόκων και η μοριακή οργάνωση των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων επηρεάζονται από παραμέτρους, όπως η χημική δομή του λιπιδίου (μονογλυκερίδιο ή ελεύθερο λιπαρό οξύ) (Riisom et al., 1984; Kowblansky, 1985), το μήκος της αλυσίδας του λιπαρού οξέος, ο βαθμός ακορεστότητας του λιπαρού οξέος, ο βαθμός πολυμερισμού της αμυλόζης, και οι συνθήκες παρασκευής των συμπλόκων, όπως η θερμοκρασία και το pH του μέσου συμπλοκοποίησης.

Η δομή των συμπλόκων αμυλόζης-λιπιδίων έχει ερευνηθεί με τη χρήση περιθλασιμετρίας ακτίνων X. Οι θερμικές τους ιδιότητες έχουν εξετασθεί με τη χρήση διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (Stute & Konieczny-Janda, 1983) και ιξωδομετρία (Karkalas & Raphaelides, 1986). Η φασματοσκοπία υπεράυθρου με μετασχηματισμό Fourier έχει χρησιμοποιηθεί στη διερεύνηση της δημιουργίας των συμπλόκων, σε μοριακό επίπεδο, με τη μέτρηση της απορρόφησης χαρακτηριστικών ομάδων και στον ποσοτικό προσδιορισμό του λιπαρού οξέος που συμπλέκεται με την αμυλόζη (Biais et al., 2006; Fanta et al., 1999; Uchino et al., 2002; Lay Ma et al., 2011; Tozuka et al. 2006).

Οι Chang et al. (2013) χρησιμοποίησαν τη συνεστιακή μικροσκοπία σάρωσης για να μελετήσουν τη συμπλοκοποίηση μεταξύ του αμύλου και του λαυρικού οξέος κατά τη θέρμανση των αμυλοκόκκων, και έδειξαν ότι το λιπαρό οξύ διείσδυσε αποτελεσματικά στο εσωτερικό των αμυλοκόκκων. Οι ερευνητές θεώρησαν ότι αυτό αποδεικνύει την επιτυχή συμπλοκοποίηση μεταξύ του αμύλου και του

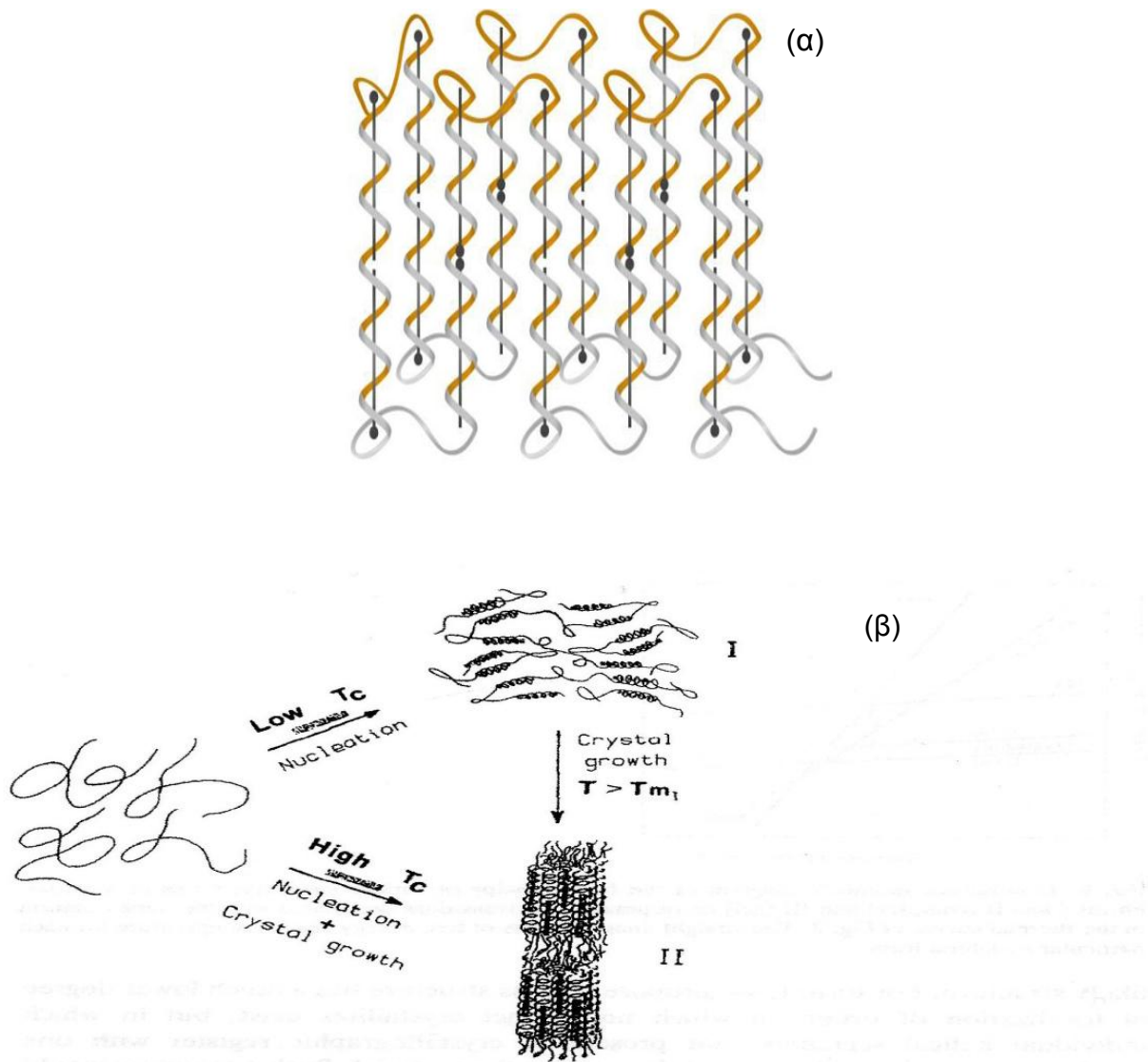
λαυρικού οξέος. Οι Bulpin et al. (1986 & 1987) και Raphaelides (1986) πραγματοποίησαν μετρήσεις μεταβολής της επιφανειακής τάσης κατά τη συμπλοκοποίηση της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα. Η μορφολογία και η τοπογραφία των συμπλόκων έχει μελετηθεί με τις τεχνικές της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης και της μικροσκοπίας ατομικής δύναμης (Lesmes et al., 2009), αντίστοιχα. Επίσης, οι Lebail et al. (2000) μελέτησαν τη δομή των συμπλόκων με την τεχνική του πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, ενώ η βιοδιαθεσιμότητα των προϊόντων έχει μελετηθεί εκτενώς από πολλούς ερευνητές (Jane & Robyt, 1984; Gelders et al., 2005a; Holm et al., 1983; Karkalas & Raphaelides, 1986).

### *1.3.2.1 Μορφές δομής και θερμοφυσικά χαρακτηριστικά συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων*

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται δύο τύποι συμπλόκων ανάλογα με τη θερμοκρασία παρασκευής τους: «Τύπος Ι» και «Τύπος ΙΙ» (Karkalas et al., 1995; Biliaderis & Seneviratne, 1990; Karkalas et al., 1995; Biliaderis & Galloway, 1989). Τα σύμπλοκα τύπου Ι σχηματίζονται σε θερμοκρασίες  $\leq 60^{\circ}\text{C}$  και χαρακτηρίζονται από τυχαία οργάνωση των ελίκων στο χώρο (άμορφα) (Biliaderis & Seneviratne, 1990; Karkalas et al., 1995; Biliaderis & Galloway, 1989). Τα σύμπλοκα τύπου ΙΙ σχηματίζονται σε θερμοκρασίες  $\geq 90^{\circ}\text{C}$  (Karkalas et al., 1995) και χαρακτηρίζονται από ημικρυσταλλική δομή (Biliaderis & Seneviratne, 1990).

Τα σύμπλοκα τύπου ΙΙ παρουσιάζουν χαρακτηριστικό φάσμα περίθλασης ακτίνων Χ με κορυφές στις  $7,5^{\circ}$ ,  $13^{\circ}$  και  $19,8^{\circ}$  ( $2\theta$ ). Ωστόσο, όπως αναφέρεται από τους (Buléon et al., 1998) σε συνθήκες χαμηλής υγρασίας και σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας, οι κορυφές μετατοπίζονται σε μικρότερες τιμές  $2\theta$  ( $6,9^{\circ}$ ,  $12^{\circ}$ ,  $18,5^{\circ}$ ), οδηγώντας στη δημιουργία μιας νέας εκδοχής V-αμυλόζης τη λεγόμενη «E-αμυλόζη». Σύμφωνα με τον Biaais et al. (2006), το φιλοξενούμενο μόριο μπορεί να βρίσκεται μέσα στην έλικα της αμυλόζης, ενδιάμεσα στις κρυσταλλικές περιοχές της έλικας ή να είναι διασπαρμένο στις άμορφες περιοχές της έλικας. Στις κρυσταλλικές περιοχές θεωρείται ότι οι έλικες της αμυλόζης διατάσσονται σε μορφή λαμέλλας, η οποία είναι αναδιπλωμένη (folded lamella) (Σχήμα 1.13α) και το πάχος της αναδίπλωσης είναι 7,5–10nm (Buléon et al., 1984; Jane & Robyt, 1984; Manley, 1964; Whittam et al., 1989; Yamashita, 1965; Yamashita & Monobe, 1971). Ωστόσο, δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί πώς αυτές οι δομές της λαμέλλας είναι οργανωμένες περαιτέρω, δηλ. εάν οι κρύσταλλοι είναι διετεταγμένοι σε εξαγωνικές δομές πάχους 10 nm (Buléon et al., 1984; Jane & Robyt, 1984; Whittam et al., 1989; Zobel et al., 1967) ή εάν είναι σφαιρικά ή ακτινικά πακτωμένες (Godet et al., 1996; Shogren et al., 2006; Stute & Konieczny-Janda, 1983). Τα άμορφα σύμπλοκα τύπου Ι αναφέρεται (Galloway et al., 1989; Karkalas et al., 1995) ότι διασπώνται

μεταξύ 95°C και 105°C. Τα ημικρυσταλλικά σύμπλοκα τύπου II διασπώνται σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 100°C (Raphaelides & Karkalas, 1988; Karkalas et al., 1985). Μια επιπλέον διάκριση γίνεται στον τύπο II, σε τύπους IIa και IIb των συμπλόκων αμυλόζης-λιπιδίων με βάση το βαθμό κρυσταλλικότητάς (Karkalas et al., 1995). Και οι δύο τύποι παρουσιάζουν σημείο τήξης μεγαλύτερο από 100°C (Biliaderis & Seneviratne, 1991; Biliaderis & Galloway, 1989). Ο τύπος IIb έχει υψηλότερη θερμοκρασία τήξης από τον τύπο IIa (Karkalas et al., 1995). Στο Σχήμα 1.13β παριστάνεται ο υποθετικός μηχανισμός της δημιουργίας των συμπλόκων τύπου I και II (Biliaderis & Galloway, 1989).



Σχήμα 1.13 Σχηματική απεικόνιση (α) ελίκων αμυλόζης που είναι διευθετημένες στο χώρο και σχηματίζουν διατεταγμένες δομές (αναδιπλωμένες λαμέλλες-folded lamellae), δηλ. κρυσταλλίτες, και (β) του μηχανισμού της δημιουργίας συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων των τύπων I και II (Biliaderis & Galloway, 1989).

### **1.3.3. Επίδραση του βαθμού πολυμερισμού της αμυλόζης, του μήκους αλυσίδας των λιπιδίων, του βαθμού ακορεστότητας και της συγκέντρωσης των λιπιδίων στις ιδιότητες των συμπλόκων**

#### *1.3.3.1 Βαθμός πολυμερισμού της αμυλόζης*

Ο βαθμός πολυμερισμού της αμυλόζης επηρεάζει σημαντικά τις ιδιότητες των συμπλόκων. Η θερμοκρασία διάσπασης, η σταθερότητα, ο βαθμός κρυσταλλικότητάς και το επίπεδο οργάνωσης των συμπλόκων αμυλόζης αυξάνεται γενικά με το μήκος της αλυσίδας της αμυλόζης (Gelders et al., 2004; Godet et al., 1995a, 1996). Σύμφωνα με τους Gelders et al. (2004), όσο αυξάνεται ο βαθμός πολυμερισμού της αμυλόζης τόσο μεγαλύτερη είναι η κρυσταλλικότητά των σχηματιζόμενων συμπλόκων. Οι Rutschmann et al. (1989) αναφέρουν ότι όσο μεγαλύτερη είναι η αλυσίδα της αμυλόζης τόσο πιο σταθερά σύμπλοκα σχηματίζονται. Όμως, εάν οι αλυσίδες είναι πολύ μακριές, τότε παρουσιάζονται δομικές διαταραχές οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα την παρουσία σφαλμάτων στην ημικρυσταλλική δομή. Αντιθέτως, εάν είναι πολύ κοντές μπορούν να διαταράξουν τον σχηματισμό των κρυστάλλων (Gelders et al., 2004). Οι Godet et al. (1993) μελέτησαν το σχηματισμό συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων με διαφορετικό μήκος αλυσίδας. Οι ερευνητές ανέφεραν ότι η θερμοκρασία διάσπασης των συμπλόκων αυξήθηκε με αύξηση του μήκους αλυσίδας της αμυλόζης. Η ενθαλπία διάσπασης αυξήθηκε με αύξηση του μήκους αλυσίδας των λιπαρών οξέων, ενώ μειώθηκε με αύξηση του βαθμού πολυμερισμού της αλυσίδας της αμυλόζης. Παρόμοια οι Godet et al. (1995a) μελέτησαν την επίδραση διαφορετικού μήκους αλυσίδας αμυλόζης (DP20, DP30, DP40, DP80 και DP900) στην κρυστάλλωση και στη θερμική σταθερότητα των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων και παρατήρησαν ότι η κρυσταλλικότητά των συμπλόκων αυξήθηκε με το μήκος αλυσίδας της αμυλόζης, ενώ οι αλυσίδες αμυλόζης με βαθμό πολυμερισμού 20 ήταν πολύ μικρές για να σχηματίσουν σύμπλοκο με λιπίδιο. Επιπλέον, οι Gelders et al. (2004) παρατήρησαν ότι αλυσίδες αμυλόζης με βαθμό πολυμερισμού 60 δεν μπορούν να σχηματίσουν ημικρυσταλλικό σύμπλοκο τύπου II.



### 1.3.3.2. Τύπος λιπιδίου, μήκος αλυσίδας και βαθμός ακορεστότητας λιπαρών οξέων

Το μήκος αλυσίδας του λιπιδίου, ο βαθμός ακορεστότητας, ο τύπος της πολικής κεφαλής του λιπιδίου καθώς και η παρουσία των ενδογενών λιπαρών οξέων επηρεάζουν σημαντικά τα χαρακτηριστικά των συμπλόκων εγκλεισμού αμυλόζης (Karkalas et al., 1995; Tufvesson et al., 2003a; Heinemann et al., 2005).

Λιπαρά οξέα, μονο- και δι-ακυλογλυκερόλες μπορούν να σχηματίσουν σύμπλοκα με την αμυλόζη, ενώ οι τριακυλογλυκερόλες δεν μπορούν να σχηματίζουν σύμπλοκα (Eliasson, 1994).

Συγκρίνοντας κορεσμένα και ακόρεστα μονογλυκερίδια του ίδιου μήκους αλυσίδας, διαπιστώνεται ότι τα trans-ακόρεστα μονογλυκερίδια έχουν μια θερμοκρασία διάσπασης παρόμοια με εκείνη του κορεσμένου αναλόγου, ενώ τα cis-ακόρεστα μονογλυκερίδια είναι λιγότερο σταθερά (Eliasson & Krog, 1985; Riisom et al., 1984). Οι Eliasson & Krog (1985) αναφέρουν ότι τα cis-ακόρεστα λιπαρά οξέα συμπλοκοποιούνται δύσκολα με την αμυλόζη δίνοντας χαμηλές αποδόσεις συμπλοκοποίησης και χαμηλές ενθαλπίες.

Οι Tufvesson et al. (2003 a, b) σύγκριναν την ικανότητα σχηματισμού συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων και αμυλόζης-μονοακυλογλυκερολών και ανέφεραν ότι τα σύμπλοκα αμυλόζης-λιπαρών οξέων ήταν πιο σταθερά στη θέρμανση από ότι τα σύμπλοκα αμυλόζης-μονοακυλογλυκερολών. Επιπλέον, οι ίδιοι συγγραφείς έδειξαν ότι τα λιπαρά οξέα σχηματίζουν πιο εύκολα σύμπλοκα από τα μονογλυκερίδια, άλλα τα μονογλυκερίδια σχηματίζουν σύμπλοκα τύπου II πιο εύκολα από τα λιπαρά οξέα, ειδικά στην περίπτωση των λιπιδίων με μικρότερο μήκος αλυσίδας. Παρόμοια, οι Gelders et al. (2005a), ανέφεραν ότι τα σύμπλοκα αμυλόζης-λιπαρών οξέων ήταν πιο σταθερά εμφανίζοντας υψηλότερες θερμοκρασίες διάσπασης από ότι τα σύμπλοκα αμυλόζης-μονοακυλογλυκερολών και απέδωσαν το γεγονός αυτό, στην ικανότητα των λιπαρών οξέων να εισχωρούν βαθύτερα στην εσωτερική κοιλότητα της έλικας, και να σταθεροποιούνται σε μεγαλύτερη έκταση από τις μονοακυλογλυκερόλες. Λιπαρά οξέα με μικρή αλειφατική αλυσίδα (10-12 άτομα άνθρακα) σχηματίζουν δύσκολα ημικρυσταλλικά σύμπλοκα τύπου II. Σε αντίθεση, τα αντίστοιχα μονογλυκερίδια σχηματίζουν εύκολα σύμπλοκα τύπου II. Σύμφωνα με τους Tufvesson et al. (2003b), αυτό οφείλεται στη στερεοχημική και ηλεκτροστατική άπωση της καρβοξυλικής ομάδας του λιπαρού οξέος, το οποίο είναι έξω από την έλικα της αμυλόζης.

Οι θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων αμυλόζης-λιπιδίων αυξάνονται με το μήκος της αλειφατικής αλυσίδας του λιπιδίου (Eliasson & Krog, 1985; Gelders et al., 2004, 2006; Godet et al., 1995a, 1996; Raphaelides & Papavergou, 1991; Stute & Konieczny-Janda, 1983; Tufvesson et al., 2003a, b). Αυτό οφείλεται στο χαμηλότερο υδρόφιλο χαρακτήρα που παρουσιάζουν οι μακριές

αλυσίδες λιπαρών, με αποτέλεσμα να ευνοείται περισσότερο ο εγκλεισμός του λιπιδίου μέσα στην υδρόφοβη κοιλότητα της έλικας. Όσο μεγαλύτερη είναι η ανθρακική αλυσίδα του λιπαρού οξέος τόσο περισσότερες υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις λαμβάνουν χώρα στο εσωτερικό της έλικας, απαιτώντας υψηλότερες θερμοκρασίες για τη διάσπαση αυτών των δεσμών (Raphaelides & Karkalas, 1988). Λιπίδια που η ανθρακική τους αλυσίδα αποτελείται από 10 ή λιγότερα άτομα άνθρακα είναι δύσκολο να σχηματίσουν σύμπλοκα (Godet et al., 1995b; 1986; Le Bail et al., 2000; Tufvesson et al., 2003b), επειδή είναι περισσότερο διαλυτά σε υδατικό περιβάλλον από αυτά με μακριά ανθρακική αλυσίδα και επίσης είναι περισσότερο ευκίνητα ώστε να μπορέσουν να διατηρηθούν κατάλληλα στο εσωτερικό της έλικας. Ορισμένοι ερευνητές, θεωρούν ότι οι ανθρακικές αλυσίδες λιπιδίων με 14 άτομα άνθρακα είναι οι πλέον ιδανικές για σχηματισμό συμπλόκων (Bhatnagar & Hanna, 1994; Hoover & Hadziyev, 1981; Krog, 1971). Οι Fanta et al. (1999) μελέτησαν την παραγωγή συμπλόκων αμύλου υψηλής περιεκτικότητάς σε αμυλόζη με λιπαρά οξέα (λαυρικό, μυριστικό, παλμιτικό ή στεατικό οξύ) χρησιμοποιώντας θέρμανση με έγχυση ζωντανού ατμού (live steam) στους 140°C στο αιώρημα αμύλου σε συνθήκες έντονης διάτμησης (Steam Jet Cooking) και σύγκριναν την ικανότητα συμπλοκοποίησης των λιπαρών οξέων, όταν βρίσκονταν σε ελεύθερη μορφή ή σε μορφή αλάτων με αλκάλια. Οι ερευνητές απέδειξαν ότι, ενώ το λαυρικό και μυριστικό οξύ συμπλοκοποιήθηκαν στον ίδιο βαθμό άσχετα με τη μορφή με την οποία χρησιμοποιήθηκαν, στην περίπτωση του στεατικού οξέος ο βαθμός συμπλοκοποίησης ήταν περίπου ο μισός, όταν προστέθηκε ως ελεύθερο οξύ, σε σχέση με την προσθήκη του με την μορφή αλάτων με αλκάλια.

Ο βαθμός ακορεστότητας των λιπαρών οξέων επηρεάζει τις θερμικές ιδιότητες των συμπλόκων. Όσο πιο μεγάλος είναι ο βαθμός ακορεστότητας, τόσο χαμηλότερη είναι η θερμική σταθερότητα του σχηματιζόμενου συμπλόκου (Eliasson & Krog, 1985; Karkalas et al., 1995; Krog, 1971; Lagendijk & Pennings, 1970; Raphaelides & Karkalas, 1988; Raphaelides & Papavergou, 1991; Stute & Konieczny-Janda, 1983; Yamada et al., 1998; Zabar et al., 2009). Οι Tufvesson et al. (2003b) μελέτησαν την ικανότητα λιπαρών οξέων με μήκος αλυσίδας 3–22 άτομα άνθρακα και με διαφορετικό βαθμό ακορεστότητας, να σχηματίζουν σύμπλοκα αμυλόζης-λιπιδίων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όλα τα λιπαρά οξέα σχημάτισαν σύμπλοκα με την αμυλόζη με εξαίρεση το προπιονικό και το βουτυρικό οξύ. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ο σχηματισμός συμπλόκων τύπου I και τύπου II, ενώ η θερμική τους σταθερότητα αυξήθηκε με αύξηση του μήκους της αλειφατικής αλυσίδας των λιπαρών οξέων και μειώθηκε με αύξηση του βαθμού ακορεστότητας. Οι Zabar et al. (2010) μελέτησαν τις θερμικές ιδιότητες συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων (ελαϊκό, λινελαϊκό ή στεατικό οξύ) που παρασκευάστηκαν σε τρεις θερμοκρασίες (30, 60 ή 90°C) και παρατήρησαν ότι η

θερμοκρασία διάσπασης αυξήθηκε με αύξηση της θερμοκρασίας παρασκευής των συμπλόκων, ενώ η ενθαλπία διάσπασης των συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος στους 60 και 90°C ήταν αρκετά μεγαλύτερη από ότι στη περίπτωση συμπλοκοποίησης με ελαιϊκό και με λινελαϊκό οξύ, γεγονός που υποδεικνύει υψηλότερο βαθμό κρυσταλλικότητάς. Αντίθετα, οι Raphaelides και Karkalas (1988) με τη τεχνική της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης μελέτησαν τη θερμική διάσπαση των συμπλόκων αμυλόζης και κορεσμένων λιπαρών οξέων με μήκος αλυσίδας 10-20 ατόμων άνθρακα και κατέληξαν ότι η θερμοκρασία διάσπασης των συμπλόκων αυξάνει με αύξηση του μήκους αλυσίδας των λιπαρών οξέων αλλά η ενθαλπία διάσπασης είναι ανεξάρτητη του μήκους της αλυσίδας.

### *1.3.3.3. Συγκέντρωση και διαλυτότητα φιλοξενούμενης ένωσης*

Η συγκέντρωση και η διαλυτότητα της φιλοξενούμενης ένωσης καθορίζουν το βαθμό συμπλοκοποίησης (Tang & Copeland, 2007). Η αναλογία λιπιδίου/αμυλόζης είναι ένας καθοριστικός παράγοντας που επηρεάζει τα χαρακτηριστικά του συμπλόκου. Αρκετοί ερευνητές (Eliasson, 1994; Raphaelides & Karkalas, 1988) αναφέρουν ότι ένα σύμπλοκο κατακρημνίζεται μόνο όταν η αλυσίδα της αμυλόζης είναι πλήρως κορεσμένη με λιπίδια. Οι Le Bail et al. (2000), αναφέρουν ότι μια αναλογία συγκέντρωσης λιπιδίου/αμυλόζης 1/10 είναι επαρκής για τον ποσοτικό σχηματισμό των συμπλόκων. Σε αυτή τη περίπτωση, τα λιπίδια που δεν συμπλοκοποιήθηκαν μπορούν να παγιδευτούν στον ενδιάμεσο χώρο ανάμεσα στις έλικες της αμυλόζης. Σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις λιπιδίων, τα μόρια της αμυλόζης που δεν συμπλέχθηκαν με τα λιπαρά για ενεργειακούς λόγους σχηματίζουν διπλή ελικοειδή δομή, που είναι αυτή της αναδιαταγμένης αμυλόζης. Επιπλέον, οι Rutschmann & Solms (1990) αναφέρουν ότι μεγάλες συγκεντρώσεις φιλοξενούμενης ένωσης έχουν ως αποτέλεσμα την πιθανή συμμετοχή της αμυλοπηκτίνης στην συμπλοκοποίηση.

Σύμφωνα με τους Conde-Petit et al. (2006), η κατάλληλη συγκέντρωση του λιπαρού οξέος που απαιτείται ώστε να κορεστεί πλήρως η έλικα της αμυλόζης σχετίζεται με τη διαλυτότητα και την κρίσιμη συγκέντρωση μικκυλίου (critical micellar concentration, CMC) του λιπιδίου, σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία. Οι ερευνητές αναφέρουν ότι πάνω από μια συγκεκριμένη συγκέντρωση τα μόρια του λιπιδίου τείνουν να συνδεθούν μεταξύ τους και να σχηματίσουν λαμέλλες (μεσοφάσεις) αντί να σχηματίσουν σύμπλοκα. Η κρίσιμη συγκέντρωση μικκυλίου και η διαλυτότητα μειώνονται καθώς αυξάνεται το μήκος της αλειφατικής αλυσίδας του λιπαρού οξέος, έτσι μικρότερη ποσότητα μεγάλου μήκους αλυσίδας λιπαρού οξέος απαιτείται για το σχηματισμό του συμπλόκου σε

σύγκριση με τα μικρότερου μήκους αλυσίδας λιπαρά οξέα κάτω από τις ίδιες συνθήκες, όπως αναφέρεται από τους Conde-Petit et al. (2006).

Οι Karkalas & Raphaelides (1986) μελέτησαν τις ποσοτικές σχέσεις που ισχύουν στη συμπλοκοποίηση αμυλόζης-λιπαρών οξέων. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι ο σχηματισμός των συμπλόκων μπορεί να γίνει στοιχειομετρικά μέχρι πλήρη κορεσμό της έλικας της αμυλόζης σε μια μοριακή αναλογία (molar ratio) αμυλόζης/λιπαρού οξέος, η οποία μπορεί να υπολογιστεί με ακρίβεια, λαμβάνοντας υπόψη το μήκος της αλυσίδας του λιπαρού οξέος.

#### **1.3.4. Ενζυμική υδρόλυση συμπλόκων αμυλόζης-λιπιδίων**

Η υδρόλυση των συμπλόκων αμυλόζης-λιπιδίων είναι μια διαδικασία που περιλαμβάνει δύο στάδια. Κατά το πρώτο στάδιο παρατηρείται μια γρήγορη υδρόλυση των άμορφων περιοχών των συμπλόκων (Jane & Robyt, 1984), ενώ κατά το δεύτερο στάδιο παρατηρείται πλήρης αποικοδόμηση των κρυσταλλικών περιοχών των συμπλόκων αμυλόζης. Οι Gelders et al. (2005a) αναφέρουν ότι η υδρόλυση των συμπλόκων επηρεάζεται από το μήκος αλυσίδας της αμυλόζης και του λιπιδίου, ενώ η αντοχή των συμπλόκων στην ενζυμική αποικοδόμηση από τα αμυλολυτικά ένζυμα, π.χ. τη παγκρεατική α-αμυλάση, αυξάνει με αύξηση του μήκους της αλυσίδας των λιπιδίων και της αμυλόζης.

Ο ρυθμός της *in-vitro* υδρόλυσης της αμυλόζης εξαρτάται από τη δραστηριότητα του ενζύμου. Ένζυμα που έχουν μικρή δραστηριότητα, όπως τα ένζυμα του σάλιου, υδρολύουν μόνο την άμορφη περιοχή, ενώ τα σύμπλοκα που δεν έχουν υδρολυθεί μπορούν να σχηματίσουν συσσωματώματα, καταλήγοντας σε μια πιο οργανωμένη δομή κρυσταλλιτών. Στο στομάχι, τα ένζυμα είναι περισσότερο δραστικά και υπάρχουν σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις από ότι στην στοματική κοιλότητα. Τα ένζυμα αυτά υδρολύουν κυρίως τα άμορφα σύμπλοκα τύπου I σε μεγαλύτερη έκταση (Heinemann et al., 2005; Seneviratne & Biliaderis, 1991). Στο λεπτό έντερο, η παγκρεατική α-αμυλάση υδρολύει επιτυχώς τόσο τις άμορφες όσο και τις κρυσταλλικές περιοχές των συμπλόκων.

Πολλές έρευνες πραγματοποιήθηκαν αναφορικά με την ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων αμυλόζης με τη χρήση αμυλολυτικών ενζύμων σε συγκεντρώσεις πολύ μικρότερες από ότι στις φυσιολογικές συνθήκες στο έντερο, όπου η αμυλολυτική δραστηριότητα κυμαίνεται από 35units/mL έως 120units/mL (Dahlqvist, 1962). Αυτές οι μελέτες έδειξαν ότι τα σύμπλοκα που περιείχαν *cis*-, μονο- ή δι-ακόρεστα μονογλυκερίδια ήταν λιγότερο σταθερά στην ενζυμική υδρόλυση από ότι τα σύμπλοκα τα οποία περιείχαν κορεσμένα μονογλυκερίδια (Eliasson & Krog

1985), ενώ τα σύμπλοκα αμυλόζης-ελαϊκού οξέος υδρολύθηκαν σε μεγαλύτερη έκταση από ότι τα σύμπλοκα αμυλόζης-παλμιτικού οξέος (Holm et al., 1983).

Οι Nebesny et al. (2004) αναφέρουν ότι, αν και παρατηρείται ότι τα σύμπλοκα υδρολύονται σε σημαντικό βαθμό, θεωρείται ότι είναι περισσότερο ανθεκτικά στην υδρόλυση από ότι η άμορφη αμυλόζη. Ωστόσο, παρουσία θερμοανθεκτικών ενζύμων και σε υψηλές θερμοκρασίες, τα σύμπλοκα υδρολύονται πλήρως, όπως επαληθεύθηκε και από *in vivo* μελέτες, στις οποίες όμως η υδρόλυση πραγματοποιήθηκε με βραδύτερο ρυθμό (Holm et al., 1983; Kwasniewska-Karolak et al., 2008).

Οι ιδιότητες των λιπιδίων επηρεάζουν τη πεπτικότητα των συμπλόκων αμυλόζης-λιπιδίων, καθώς η υδρόλυσή τους εξαρτάται από το μήκος της αλυσίδας των λιπιδίων και από το βαθμό ακορεστότητας (Eliasson & Krog, 1985; Holm et al., 1983; Raphaelides & Papavergou, 1991; Stute & Konieczny-Janda, 1983). Τα δομικά χαρακτηριστικά των συμπλόκων επίσης επηρεάζουν την υποβάθμιση των συμπλόκων αμυλόζης-λιπιδίων. Τα σύμπλοκα αμυλόζης-λιπιδίων που εμφανίζουν μεγαλύτερη κρυσταλλική δομή παρουσιάζουν χαμηλότερο βαθμό υδρόλυσης (Kwasniewska-Karolak et al., 2008; Seneviratne & Biliaderis, 1991). Ο ρυθμός και η έκταση της αποικοδόμησης του συμπλόκου με ένζυμα μειώνεται με βάση την ακόλουθη σειρά τύπος I > τύπος IIa > τύπος IIb. Αν και οι κρυσταλλικές μορφές αυτών των συμπλόκων μπορούν να υδρολυθούν μετά από παρατεταμένη επώαση και υψηλά επίπεδα ενζύμων, αυτά τα σύμπλοκα θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως συστατικά διαιτητικών ινών, καθώς παρατηρείται μείωση των επιπέδων γλυκόζης και ινσουλίνης στο πλάσμα του αίματος (Eliasson & Krog, 1985; Seneviratne & Biliaderis, 1991).

Η ελικοειδής διαμόρφωση της αμυλόζης περιορίζει το ρυθμό υδρόλυσής της, με αποτέλεσμα η γλυκόζη να απορροφάται στο πλάσμα του αίματος με βραδύτερο ρυθμό. Επομένως αυτά τα σύμπλοκα αμυλόζης-λιπιδίων θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν αποτελεσματικά στη διατροφή ασθενών με διαβήτη (Murray et al., 1998; Takase et al., 1994). Οι Holm et al. (1983) μελέτησαν την ενζυμική αντοχή των συμπλόκων αμυλόζης-λιπιδίων κάτω από *in vitro* και *in vivo* συνθήκες προσομοίωσης της διεργασίας της πέψης και κατέληξαν ότι τα σχηματιζόμενα σύμπλοκα υδρολύονται και απορροφούνται από το γαστρεντερικό σωλήνα στην ίδια έκταση, όπως και η αμυλόζη αλλά με βραδύτερο ρυθμό.

### **1.3.5. Επίδραση των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων στις ρεολογικές ιδιότητες του αμύλου**

Όταν ένα αιώρημα αμύλου θερμαίνεται με περίσσεια νερού, τότε ο βαθμός στον οποίο οι αμυλόκοκκοι διογκώνονται επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως είναι η ποσότητα του

διαθέσιμου νερού, η θερμοκρασία και ο χρόνος θέρμανσης, καθώς επίσης και η παρουσία άλλων συστατικών, όπως είναι τα λιπίδια, τα σάκχαρα και τα άλατα. Η προσθήκη των λιπαρών οξέων σε ένα τέτοιο σύστημα επηρεάζει τη ρεολογική του συμπεριφορά προκαλώντας μείωση ή αύξηση στο ιξώδες (Raphaelides & Georgiadis, 2006).

Τα λιπαρά οξέα τα οποία προστίθενται σε ένα αιώρημα φυσικού αμύλου πριν από τη θέρμανσή του, κατά τη διάρκεια της ζελατινοποίησης σχηματίζουν μία στοιβάδα, η οποία περιβάλλει τους αμυλόκοκκους. Η στοιβάδα αυτή αποτελείται από μόρια αμυλόζης συμπλεγμένα με μόρια λιπιδίων, με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η έξοδος των μορίων της αμυλόζης. Ο ρυθμός με τον οποίο οι αμυλόκοκκοι προσροφούν τα μόρια του νερού εξαρτάται από το ρυθμό με τον οποίο εξέρχονται τα μόρια της αμυλόζης από το εσωτερικό τους. Από τη στιγμή που η παρουσία των λιπαρών οξέων δεν επιτρέπει την έξοδο των μορίων της αμυλόζης, αυτό έχει ως αποτέλεσμα να περιορίζεται η προσρόφηση των μορίων του νερού και κατά συνέπεια η διόγκωση των αμυλοκόκκων (Raphaelides & Georgiadis, 2008). Με βάση τα αποτελέσματα της έρευνάς τους, όσο μεγαλύτερο ήταν το μήκος αλυσίδας του λιπαρού οξέος τόσο πιο αποτελεσματική ήταν η δράση του λιπαρού οξέος στην παρεμπόδιση της ζελατινοποίησης του αμύλου.

Οι Putseys et al. (2010b) αναφέρουν ότι η προσθήκη των λιπαρών οξέων σε ένα αιώρημα αμύλου μπορεί να προκαλέσει μείωση στο ιξώδες του συστήματος, η οποία οφείλεται στην παρεμπόδιση της διόγκωσης των αμυλοκόκκων. Σύμφωνα με τους Eliasson et al. (1988), ο σχηματισμός των συμπλόκων στην επιφάνεια των αμυλοκόκκων αποτρέπει την εξαγωγή της μη συμπλοκοποιημένης αμυλόζης από τον αμυλόκοκο και την εισαγωγή του νερού μέσα σε αυτόν. Οι Richardson et al. (2003) θεωρούν ότι η παρεμπόδιση της διόγκωσης των αμυλοκόκκων οφείλεται στη αυξημένη υδροφοβικότητα των αμυλοκόκκων, η οποία εμποδίζει την πρόσληψη του νερού και οδηγεί στη μείωση του ιξώδους. Οι Raphaelides & Georgiadis (2008), αναφέρουν ότι το ιξώδες μπορεί να αυξηθεί στην περίπτωση κατά την οποία τα σύμπλοκα που σχηματίζονται συμβάλλουν στη συνένωση των αμυλοκόκκων μεταξύ τους. Η συνένωση των αμυλοκόκκων μεταξύ τους πραγματοποιείται μέσω των δεσμών υδρογόνου με τους οποίους συνδέονται οι ομάδες καρβοξυλίου των λιπαρών οξέων, τα οποία ανήκουν σε γειτονικά σύμπλοκα. Με τον τρόπο αυτόν αυξάνεται ο υδροδυναμικός όγκος του συστήματος και, κατά συνέπεια το ιξώδες του (Putseys et al., 2010b; Raphaelides & Georgiadis, 2008).

### **1.3.6. Τεχνολογική σημασία συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων**

Ο σχηματισμός των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων κατά τη διάρκεια παραγωγής αμυλούχων τροφίμων τροποποιεί τα τεχνολογικά χαρακτηριστικά τους (Mercier et al., 1980; Hoover & Hadjiyev, 1981) και πιστεύεται ότι καθυστερεί το μαγιάτεμα σε αρτοσκευάσματα (Krog & NyboJensen, 1970). Η αλληλεπίδραση αμύλου-λιπιδίων μειώνει την διόγκωση του αμύλου (Biliaderis & Tonogai, 1991; Lauro et al., 2000; Mira et al., 2007; Tester & Morrison, 1990), τη διαλυτότητα των αμυλοκκόκων (Bhatnagar & Hanna, 1994; Eliasson et al., 1981b; Galloway et al., 1989; Larson, 1980) και αυξάνει τη θερμοκρασία ζελατινοποίησης (Eliasson et al., 1981a; Melvin, 1979).

Η προσθήκη λιπαρών στην παραγωγή των νιφάδων αραβοσίτου προκαλεί ελεγχόμενη ζελατινοποίηση του αμύλου των σπασμένων αποφυτρωμένων σπόρων (grits) του καλαμποκιού με αποτέλεσμα οι νιφάδες που δημιουργούνται στους κυλίνδρους νιφαδοποίησης (flakers) να μην κολλούν μεταξύ τους και να αποφεύγεται η συσσωμάτωσή τους κατά το ψήσιμο (toasting). Παρόμοια, η προσθήκη λιπαρών στην παραγωγή ζυμαρικών συμβάλλει στην αποφυγή της συγκόλλησης των μακαρονιών μεταξύ τους, ενώ οι Hoover & Hadziyev (1981) αναφέρουν ότι η προσθήκη λιπιδίων στην παραγωγή προϊόντων, όπως είναι ο πουρές πατάτας, έχει ως αποτέλεσμα το προϊόν να μην γίνεται κολλώδες. Τέλος, η τεχνολογική σημασία των συμπλόκων έγκειται στον εγκλεισμό διαφόρων διατροφολογικών και βιοδραστικών ουσιών, όπως των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, συμβάλλοντας στην προστασία τους και την ελεγχόμενη και στοχευμένη πρόσληψή τους από τον ανθρώπινο οργανισμό.

### **1.3.7. Σύμπλοκο αμυλοπηκτίνης-λιπαρών οξέων**

Οι Slade & Levine (1987) ανέφεραν ότι ορισμένα λιπίδια μπορούν να αλληλεπιδράσουν με την αμυλοπηκτίνη, επηρεάζοντας έτσι τις ιδιότητες του αμύλου. Ωστόσο, πιστεύεται ότι το μόριο της αμυλοπηκτίνης δεν πληροί όλες τις βασικές προϋποθέσεις για το σχηματισμό συμπλόκου.

Ο κύριος παράγοντας που παρεμποδίζει το σχηματισμό των συμπλόκων είναι η παρουσία των διακλαδώσεων στο μόριο της αμυλοπηκτίνης. Όπως προαναφέρθηκε, απαιτούνται 18 έως 24 μονάδες γλυκόζης για τη συμπλοκοποίηση ενός μορίου λιπιδίου οργανωμένο σε τρεις στροφές, με το κάθε βήμα (η απόσταση μεταξύ όμοιων σημείων σε δύο διαδοχικές στροφές) να περιέχει 6 έως 8 μόρια γλυκόζης. Κάποιες εξωτερικές διακλαδώσεις της αμυλοπηκτίνης έχουν μέσο μήκος αλυσίδας από 15 έως 25 μονάδες γλυκόζης και έτσι δυνητικά μπορούν μερικώς να συμμετάσχουν στο

σχηματισμό των συμπλόκων, όπως πιστεύεται ότι έχει παρατηρηθεί σε άμυλα χωρίς αμυλόζη (Slade & Levine, 1987). Ωστόσο, ο σχηματισμός και η διάσπαση ενός πιθανού συμπλόκου αμυλοπηκτικής-λιπαρού οξέος συμβαίνει σε ένα ευρύ θερμοκρασιακό φάσμα, χωρίς όμως την ύπαρξη διακριτών κορυφών στα θερμογραφήματα DSC (Evans, 1986; Gudmundsson & Eliasson, 1990; Silverio et al., 1996).

Έμμεση απόδειξη για το σχηματισμό ενός συμπλόκου αμυλοπηκτικής-λιπιδίου θεωρήθηκε η μείωση της ενθαλπίας ζελατινοποίησης του κηρώδους αμύλου καλαμποκιού, παρουσία λιπιδίων (Eliasson, 1994), ενώ οι Kaneda et al. (1996) ανέφεραν πιθανή αλληλεπίδραση μεταξύ της αμυλοπηκτικής με ελεύθερα λιπαρά οξέα κατά την προσθήκη του παλμιτικού οξέος σε κηρώδες άμυλο. Πρόσφατα, οι Debet & Gidley (2006) έδειξαν με τη βοήθεια φασματοσκοπίας NMR ότι κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες μπορεί να συμβεί πιθανή συμπλοκοποίηση του SDS (Sodium dodecyl sulphate) με την αμυλοπηκτική.

### **1.3.8. Σύμπλοκα αμυλόζης-λιπαρών οξέων-πρωτεϊνών**

Πρόσφατα, ένα υδατοδιαλυτό τριμερές σύμπλοκο, το οποίο υπήρξε αποτέλεσμα της αυτόοργάνωσης αμυλόζης, πρωτεΐνης και ελεύθερου λιπαρού οξέος, ανακαλύφθηκε από ομάδα ερευνητών, όταν η μέτρηση του ιξώδους κατά την ψύξη ενός τέτοιου συστήματος εμφάνισε ένα μέγιστο (Shah et al., 2011; Zhang et al. 2010; Zhang & Hamaker, 2004)

Περαιτέρω μελέτες που έγιναν, χρησιμοποιώντας χρωματογραφία μεγέθους αποκλεισμού και σύστημα σκέδασης ακτίνας λέιζερ πολλαπλών γωνιών, έδειξαν πιθανή παρουσία ενός διακριτού υδατοδιαλυτού τριαδικού συμπλόκου, το οποίο περιείχε αμυλόζη, πρωτεΐνη και ελεύθερο λιπαρό οξύ, με μοριακό βάρος της τάξης των  $10^6$  με  $10^7$  Da (Zhang et al., 2003).

### **1.3.9. Η ενθυλάκωση (encapsulation) ως τεχνική προστασίας των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων**

Η ενσωμάτωση βιοδραστικών ουσιών, όπως των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, στα τρόφιμα έχει αποδειχθεί ότι αποτελεί μεγάλη τεχνολογική πρόκληση, εξαιτίας του γεγονότος ότι πολλές από τις ουσίες αυτές παρουσιάζουν μικρή σταθερότητα στις συνθήκες που έρχονται αντιμέτωπες κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας των τροφίμων, όπως και κατά την αποθήκευση και κατανάλωσή τους, δηλ. στις ακραίες συνθήκες που επικρατούν στο στομάχι. Σήμερα, η βιομηχανία αντιμετωπίζει την πρόκληση να αναπτύξει νέα, εύγευστα, υψηλής διατροφικής αξίας τρόφιμα εμπλουτισμένα σε



βιοδραστικές ουσίες, π.χ. λιπαρά οξέα, τα οποία μπορούν να προσδώσουν ευεξία και να μειώσουν τον κίνδυνο ανάπτυξης χρόνιων παθήσεων. Η ενθυλάκωση θεωρείται μια αποτελεσματική μέθοδος για τη προστασία και επιβράδυνση της οξειδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (Barrow et al. 2007), ενώ ταυτόχρονα συμβάλλει στην ελεγχόμενη μεταφορά τους στο ανθρώπινο πεπτικό σύστημα (Weiss et al., 2006). Η ενθυλάκωση έχει ήδη χρησιμοποιηθεί ευρύτατα στην φαρμακευτική βιομηχανία τα τελευταία 30 χρόνια για στοχευμένη και ελεγχόμενη πρόσληψη των φαρμάκων από τον άνθρωπο (Rosinski et al., 2002).

Ωστόσο παρά την ευρεία χρήση της τεχνικής της ενθυλάκωσης, ως μεθόδου μεταφοράς και προστασίας ευαίσθητων συστατικών, οι περισσότερες μελέτες αναφέρονται στην ενθυλάκωση μεμονωμένων συστατικών και όχι πολύπλοκων εκχυλισμάτων φυσικών προϊόντων πλουσίων σε συστατικά με υψηλή βιολογική αξία και δράση. Τα βασικά μειονεκτήματα που παρουσιάζει η τεχνική της ενθυλάκωσης σχετίζονται με το υψηλό κόστος και τη διαθεσιμότητα των κατάλληλων φορέων, καθώς και τη δυσκολία επίτευξης των κατάλληλων συνθηκών για την εξασφάλιση αποτελεσματικής επικάλυψης της ένωσης που πρόκειται να προστατευθεί. Από την άλλη πλευρά, το φυσικό άμυλο παρουσιάζει μια πολύ ελκυστική εναλλακτική λύση για να χρησιμοποιηθεί ως ένας φορέας για την προστασία των ευαίσθητων και ασταθών ουσιών. Είναι άφθονο στη φύση, αρκετά φθινό, διατίθεται στο εμπόριο σε μεγάλες ποσότητες και είναι πλήρως βιοδιασπώμενο. Επιπλέον, το πιο σημαντικό χαρακτηριστικό του αμύλου, καθιστώντας το ιδανικό για ενθυλάκωση, είναι η αμυλόζη, η οποία έχει την μοναδική ιδιότητα μεταξύ των άλλων βιοπολυμερών να αλληλεπιδρά φυσικά με πολικές και μη πολικές ενώσεις, όπως λιπαρά οξέα, και να σχηματίζει σύμπλοκα εγκλεισμού.

Πρόσφατα, υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για την έρευνα σχετικά με τα σύμπλοκα αμυλόζης για τη χρήση τους ως πιθανών μικρο- ή νανοφορέων βιοδραστικών ενώσεων που είναι ευαίσθητα στη θερμότητα και την οξειδωση. Η δημοτικότητά τους στηρίζεται στο γεγονός ότι τα σύμπλοκα είναι ενώσεις μοριακού εγκλεισμού που θα μπορούσαν να προστατεύσουν πολύ πιο αποτελεσματικά τις ευαίσθητες ουσίες, σε σύγκριση με τις υπάρχουσες συμβατικές τεχνικές ενθυλάκωσης.



## **2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ**

Σκόπος της παρούσας διατριβής είναι η διερεύνηση της επίδρασης της θερμοκρασίας κατά την παρασκευή των συμπλόκων αμυλόζης και συστημάτων αμύλου με διάφορα λιπαρά οξέα, καθώς και την επίδραση του μήκους αλυσίδας και του βαθμού ακορεστότητας των φιλοξενούμενων μορίων στα δομικά χαρακτηριστικά, στις θερμικές ιδιότητες και στα μορφολογικά χαρακτηριστικά των συμπλόκων. Επιπλέον, σκοπός της παρούσας εργασίας αποτελεί και η *in vitro* μελέτη των προϊόντων αυτών αναφορικά με τη βιοδιαθεσιμότητά τους και επίσης η μελέτη της θερμοκρασιακής και οξειδωτικής σταθερότητας των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων κάτω από δυσμενείς συνθήκες που συνήθως επικρατούν στη βιομηχανία, για να διαπιστωθεί αν αυτά τα λιπαρά οξέα προστατεύονται επαρκώς με τη μορφή συμπλόκων, ώστε, να μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες καταλληλότητας της μεθόδου παραγωγής των συμπλόκων για πιθανή εφαρμογή της στη βιομηχανική παραγωγή τους ως ναοφορέων.



### **3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

#### *3.1. ΥΛΙΚΑ*

##### **3.1.1. Άμυλο**

Για το σχηματισμό των συμπλόκων εγκλεισμού αμυλόζης-λιπαρών οξέων, χρησιμοποιήθηκε αμυλόζη από άμυλο αρακά, προζελατινοποιημένο άμυλο φυσικού καλαμποκιού, άμυλο υβριδίου καλαμποκιού με υψηλή περιεκτικότητά σε αμυλόζη (70% Hylon VII), άμυλο φυσικού καλαμποκιού και άμυλο ταπιόκας. Το άμυλο από αρακά παραλήφθηκε από ξηρούς καρπούς μπιζελιών διαχωρισμένους στις δύο κοτυλιδόνες (προέλευσης Καναδά) που αγοράστηκαν από την τοπική αγορά της Θεσσαλονίκης (Ελλάδα). Το προζελατινοποιημένο άμυλο φυσικού καλαμποκιού παράχθηκε στις εγκαταστάσεις του Βιομηχανικού Εργαστηρίου του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων του ΑΤΕΙΘ. Για την παραλαβή του προζελατινοποιημένου αμύλου, χρησιμοποιήθηκε ξηραντήριο διπλών τυμπάνων (double drum-drier, της εταιρείας G.M.F. Gouda, Ολλανδία), εξοπλισμένο με όργανα καταγραφής θερμοκρασιών. Οι διαστάσεις των τυμπάνων ήταν 0,5m η διάμετρος και 0,5m το μήκος. Οι συνθήκες λειτουργίας ήταν: ταχύτητα περιστροφής των τυμπάνων 4 rpm, πίεση ατμού θέρμανσης των τυμπάνων 6 bar και συγκέντρωση του φυσικού αμύλου καλαμποκιού στη δεξαμενή τροφοδοσίας του ξηραντηρίου 10%.

Η προμήθεια του αμύλου φυσικού καλαμποκιού έγινε από την εταιρεία Tate & Lyle, του αμύλου ταπιόκας και του αμύλου καλαμποκιού υψηλής περιεκτικότητάς σε αμυλόζη έγινε από την εταιρεία National Starch & Chemical Co (USA).

##### **3.1.2. Λιπαρά οξέα**

Για την συμπλοκοποίηση χρησιμοποιήθηκαν έξι διαφορετικά λιπαρά οξέα: το δεκανοϊκό οξύ (C10:0), το μυριστικό οξύ (C14:0), το παλμιτικό οξύ (C16:0), το στεατικό οξύ (C18:0), το ελαϊκό οξύ (C18:1) και το συζευγμένο λινελαϊκό οξύ (C18:2) (CLA). Η προμήθεια όλων των λιπαρών οξέων (καθαρότητας>95%) έγινε από την εταιρεία Sigma Chemical Co (Gillingham, Dorset).

### 3.1.3. Άλλα αντιδραστήρια

Το διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) ήταν της εταιρείας BDH, Chemicals, (UK). Τα χημικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για τις χημικές αναλύσεις ήταν της εταιρείας Sigma Chemical Co (Gillingham, Dorset) και ήταν αναλυτικής καθαρότητας (AR). Κατά τη διεξαγωγή όλων των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε απεσταγμένο και υπερκάθαρο νερό.

### 3.1.4. Ένζυμα

Τα ένζυμα βακτηρική  $\alpha$ -αμυλάση (A 3403, from *Bacillus Licheniformis*, 21.7 mg protein/mL, 848 U/mg protein) και αμυλογλυκοσιδάση (10115 from *Aspergillus niger*, lyophilized powder ~70 U/mg solid) που χρησιμοποιήθηκαν κατά την ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων ήταν της εταιρείας Sigma Chemical Co (Gillingham, Dorset).

## 3.2. ΜΕΘΟΔΟΙ

### 3.2.1. Εξαγωγή αμυλόζης

Ζυγίστηκε 1 kg αρακά και στη συνέχεια προστέθηκαν 3 L νερό και 15 g υποθειώδες νάτριο (0,5%) και αφέθηκαν σε θάλαμο επώασης στους 37°C για 48 h. Μετά το πέρας των 48 h, το δείγμα αλέσθηκε σε σφυρόμυλο υγρής άλεσης (Apex LTP, type 3.14, Dart Ford Kent, UK) δύο φορές, με ταυτόχρονη προσθήκη επιπλέον απαιτούμενου νερού, ώστε ο βαθμός κατάτμησης του αρακά να είναι ικανοποιητικός. Η καταστροφή των αμυλοκόκκων βρέθηκε να είναι αμελητέα μετά την δοκιμή με ερυθρό του Κονγκό. Αφού ολοκληρώθηκε η άλεση του αρακά, ακολούθησε κοσκίνιση με κόσκινο βροχίδων διαμέτρου 152  $\mu\text{m}$  από το οποίο πέρασαν το άμυλο και μια ποσότητα πρωτεΐνης, ενώ κατακρατήθηκαν οι φυτικές ίνες και η υπόλοιπη ποσότητα της πρωτεΐνης.

Το υδατικό αιώρημα με το άμυλο και την πρωτεΐνη αποθηκεύτηκε υπό ψύξη για 24 h ώστε να κατακρημνιστεί το άμυλο με την πρωτεΐνη και να συσσωρευτεί στον πυθμένα του δοχείου. Μετά το πέρας των 24 h ακολούθησε απόχυση, ώστε να απομακρυνθεί μικρή ποσότητα πρωτεΐνης και στη συνέχεια έγινε φυγοκέντρηση στα 4200  $\times$  g για 30 min για τον διαχωρισμό του αμύλου από την πρωτεΐνη. Η επάνω στοιβάδα του ιζήματος, που είχε γκρίζο χρώμα και περιείχε την περισσότερη πρωτεΐνη, απομακρύνθηκε με τη βοήθεια σπάτουλας. Η κάτω στοιβάδα, που περιείχε το άμυλο (βαριά φάση) και είχε λευκό χρώμα, αραιώθηκε σε νερό, κοσκινίστηκε με κόσκινο βροχίδων

διαμέτρου 75  $\mu\text{m}$  και επαναφυγοκεντρήθηκε, ώστε να απομκρυνθεί η πρωτεΐνη. Το καθαρό άμυλο ξεπλύθηκε με ακετόνη και διηθήθηκε μέσω ηθμού gooch (N<sup>o</sup>2). Στη συνέχεια, αφέθηκε να στεγνώσει στους 25°C υπό την διοχέτευση συνεχούς ρεύματος αέρα για 24 h. Το επόμενο βήμα ήταν η ζελατινοποίηση του αμύλου που έγινε στο δειγματοφορέα του ρεόμετρου TR-1 RHEOMETER (ιδιοκατασκευή, Xu & Raphaelides, 1998; Raphaelides & Georgiadis, 2006), στους 75°C για 30 min. Με κριτήριο τη χωρητικότητα του δοχείου του δειγματοφορέα, αναμίχθηκαν 60 g αμύλου με 1200 mL νερού και θερμάνθηκαν υπό συνεχή ανάδευση (50 rpm). Αμέσως μετά τη ζελατινοποίηση, το μίγμα μεταφέρθηκε ποσοτικά σε περιέκτες φυγοκέντρου (χωρητικότητας 250 mL) της εταιρείας Sorval, (USA) ακολούθησε φυγοκέντρωση του θερμού αιωρήματος στα 4200  $\times$  g για 30 min με σκοπό το διαχωρισμό της αμυλοπηκτικής (στερεή φάση) και της αμυλόζης (υγρή φάση). Το διάλυμα της αμυλόζης, αφού διήλθε από κόσκινο με άνοιγμα βροχίδων διαμέτρου 75  $\mu\text{m}$  για την κατακράτηση μικρών σωματιδίων αμυλοπηκτικής, αποθηκεύτηκε στους 4°C για 24 h, ώστε να καθιζάνει η αμυλόζη. Κατόπιν, φυγοκεντρήθηκε στα 4200  $\times$  g για 30 min, και η αμυλόζη παραλήφθηκε ως ίζημα. Στη συνέχεια, η αμυλόζη ξεπλύθηκε με ακετόνη, διηθήθηκε μέσω ηθμού gooch (N<sup>o</sup>2) και αφέθηκε να ξηραθεί στους 25°C υπό την διοχέτευση συνεχούς ρεύματος αέρα, όπως και στην περίπτωση του αμύλου, ώστε να παραληφθεί σε ξηρή μορφή, μετά από 48 h. Η απόδοση της μεθόδου που εφαρμόστηκε για την εξαγωγή του αμύλου ήταν  $\sim$  15%, ενώ στην περίπτωση της αμυλόζης κυμαινόταν από 2 έως 4% κατά παρτίδα.

### 3.2.2. Προσδιορισμός υγρασίας των αμύλων και αμυλόζης

Η περιεκτικότητά σε υγρασία προσδιορίστηκε σταθμικά, με ξήρανσή των δειγμάτων στους 130°C για 1 h (AOAC, 1990). Σύμφωνα με τη μέθοδο, 1-1,5 g δείγματος ζυγίστηκαν σε προζυγισμένο τρυβλίο Petri και έπειτα το τρυβλίο τοποθετήθηκε σε πυριαντήριο, όπου παρέμεινε για 1 h. Ο προσδιορισμός έγινε εις τριπλούν. Η περιεκτικότητά του αμύλου και της αμυλόζης σε υγρασία (%) υπολογίστηκε ως εξής:

$$\text{Υγρασία (\%)} = \frac{B_2 - B_3}{B_2 - B_1} \times 100$$

όπου:

$B_1$  - το βάρος του τρυβλίου (g)

$B_2$  - το βάρος του τρυβλίου και του δείγματος πριν την ξήρανσή (g)

$B_3$  - το βάρος του τρυβλίου και του δείγματος μετά την ξήρανσή (g)

Ο προσδιορισμός της υγρασίας έγινε εις τριπλούν.

### 3.2.3. Προσδιορισμός πρωτεΐνης των αμύλων και της αμυλόζης

Η περιεκτικότητά σε άζωτο προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Kjeldahl (AOAC, 1990), και το τελικό αποτέλεσμα πολλαπλασιάστηκε με το συντελεστή 6,25 για να καθοριστεί η περιεκτικότητά του αμύλου σε πρωτεΐνη. Η περιεκτικότητά σε πρωτεΐνη εκφράστηκε ως ποσοστό επί ξηρού βάρους δείγματος.

### 3.2.4. Προσδιορισμός φαινομενικής και ολικής αμυλόζης

Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητάς του αμύλου σε αμυλόζη προσδιορίστηκε με τη μέθοδο των Morrison και Laignelet (1983). Σύμφωνα με τη μέθοδο, περίπου 20 mg αμυλόζης ζυγίστηκαν σε σωλήνα PYREX των 10 ml, με βιδωτό καπάκι επενδυμένο με τεφλόν (PTFE). Στους σωλήνες προστέθηκαν 10 ml διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO), ακολούθησε έντονη ανάδευση και έπειτα τοποθέτηση σε υδατόλουτρο στους 90°C για διάστημα 15-20 min. Μετά το πέρας των 20 min και αφού η αμυλόζη διαλυτοποιήθηκε, οι σωλήνες τοποθετήθηκαν σε κλίβανο στους 100°C όπου παρέμειναν για 60 min, ώστε η διαλυτοποίησή να ολοκληρωθεί. Μετά από ψύξη στους 20°C, ποσότητα 1 ml από το κάθε δείγμα (αμυλόζη-DMSO) τοποθετήθηκε σε ογκομετρικές φιάλες των 100 ml (εις τριπλούν) και προστέθηκαν 95 ml απεσταγμένου νερού και 2 ml ιωδιούχου καλίου (2 mg I<sub>2</sub>, 20 mg KI/ml). Το περιεχόμενο της κάθε φιάλης συμπληρώθηκε με απεσταγμένο νερό στα 100 ml. Παράλληλα παρασκευάστηκε σε μια ογκομετρική φιάλη διάλυμα 2 ml ιωδιούχου καλίου και 98 ml απεσταγμένου νερού. Η ογκομετρική φιάλη αυτή αποτέλεσε το λευκό προσδιορισμό (χωρίς δείγμα). Στη συνέχεια όλες οι ογκομετρικές φιάλες τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο στους 20°C όπου παρέμειναν για 15 min, ώστε να αναπτυχθεί πλήρως η εμφάνιση του κυανού χρώματος. Έπειτα μετρήθηκε η απορρόφηση σε φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 635 nm. Ο μηδενισμός του φασματοφωτομέτρου έγινε με το διάλυμα του μάρτυρα.

Η τιμή της Blue Value εκφράστηκε σε περιεκτικότητά (%) φαινομενικής (ελεύθερης) αμυλόζης χρησιμοποιώντας την εξίσωση:

$$\text{Ελεύθερη αμυλόζη (\%)} = (28,414 \times \text{Blue Value}) - 6,2$$

$$\text{όπου Blue Value} = (\text{Απορρόφηση} \times 10) / \text{βάρος δείγματος (g)}$$



Για τον προσδιορισμό της ολικής αμυλόζης (ελεύθερη και συμπλεγμένη αμυλόζη), ποσότητα 1 ml διαλύματος αμύλου-DMSO τοποθετήθηκε σε σωλήνα PYREX των 10 ml, προστέθηκαν 9 ml αιθανόλης και ακολούθησε έντονη ανάδευση. Μετά το πέρας των 15 min, τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν ( $3250 \times g$  για 10 min) και το υπερκείμενο διάλυμα απομακρύνθηκε. Στη συνέχεια με σκοπό την επαναδιαλυτοποίησή του αμύλου προστέθηκαν επιπλέον 1 ml DMSO και ακολούθησε έντονη ανάδευση. Η πλήρης διαλυτοποίησή του αμύλου επιτεύχθηκε με την τοποθέτηση των δειγμάτων σε κλίβανο  $100^{\circ}\text{C}$  για 15-30 min. Έπειτα το διάλυμα αμύλου-DMSO διηθήθηκε γρήγορα μέσω διηθητικού ηθμού gooch ( $\text{N}^{\circ}2$ ) σε ογκομετρική φιάλη των 100ml χρησιμοποιώντας περίπου 95 ml νερό. Κατόπιν προστέθηκαν 2 ml διαλύματος  $\text{I}_2\text{-KI}$  και το περιεχόμενο της φιάλης αναδεύτηκε αμέσως, συμπληρώθηκε στα 100 ml και μετρήθηκε η απορρόφηση στα 635 nm μετά από 15 min. Η περιεκτικότητά του αμύλου σε ολική αμυλόζη προσδιορίστηκε από την τιμή της Blue Value σύμφωνα με την παραπάνω διαδικασία, διορθωμένη στους  $20^{\circ}\text{C}$ , χρησιμοποιώντας την ανωτέρω γενική εξίσωση.

### **3.2.5. Προσδιορισμός του μέσου μοριακού βάρους κατά ιξώδες (viscosity average molecular weight) της αμυλόζης**

Το μέσο μοριακό βάρος της αμυλόζης προσδιορίστηκε με τριχοειδές ιξωδόμετρο τύπου Ubbelohde (διάμετρος τριχοειδούς 0,7 mm) σε θερμοστατούμενο υδατόλουτρο στους  $20 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  (Greenwood, 1964). Ως διαλύτης για την αμυλόζη χρησιμοποιήθηκε υδατικό διάλυμα KOH 0,15M.

Αρχικά, 432 mg αμυλόζης διαλύθηκαν με 7,5 ml KOH 0,5M σε κλειστή κωνική φιάλη με συνεχή ανάδευση για 24 h στους  $25^{\circ}\text{C}$ . Αυτό το διάλυμα αραιώθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 25 ml συμπληρώνοντας ως τη χαραγή με νερό, ώστε το διάλυμα να γίνει 0,15M KOH. Στη συνέχεια, το διάλυμα διηθήθηκε μέσω ηθμού gooch ( $\text{N}^{\circ}2$ ) για τη κατακράτηση τυχόν μη διαλυτοποιημένων τμημάτων της αμυλόζης τα οποία θα παρεμπόδιζαν τη ροή. Ποσότητα 18 ml διαλύματος της αμυλόζης τοποθετήθηκε σε τριχοειδές ιξωδόμετρο και μετρήθηκε ο χρόνος ροής του διαλύματος. Ακολούθως, το διάλυμα αραιώθηκε με την προσθήκη 1 ml διαλύματος 0,15M KOH και μετρήθηκε πάλι ο χρόνος ροής τους στο ιξωδόμετρο. Παρόμοια μετρήθηκε και ο χρόνος ροής για τις αραιώσεις στα 20, 21 και 22 ml του διαλύματος αμυλόζης. Επιπλέον μετρήθηκε και ο χρόνος που απαιτείται για τη ροή ίσου όγκου διαλύτη στο ίδιο ιξωδόμετρο.

Το εσωτερικό ιξώδες (intrinsic viscosity,  $[\eta]$ ) του διαλύματος υπολογίστηκε γραφικά από καμπύλη με συντεταγμένες τον αριθμό ιξώδους ( $\eta_{sp}/c$ ) και τη συγκέντρωση ( $c$ ) της αμυλόζης στο διάλυμα

στις διάφορες αραιώσεις. Το μοριακό βάρος της αμυλόζης υπολογίστηκε από την εξίσωση των Mark-Houwink.

$$[\eta] = KM_w^a$$

όπου  $K (8,36 \times 10^{-3})$  και  $a (0,77)$  είναι παράμετροι Mark-Houwink, για την αμυλόζη σε νερό στους  $20\text{ }^\circ\text{C}$ .

### **3.2.6. Μεθοδολογία παρασκευής συμπλόκων αμυλόζης και αμύλων με τα λιπαρά οξέα**

Η παρασκευή των συμπλόκων αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα πραγματοποιήθηκε με βάση τη μέθοδο των Karkalas et al. (1995), με ορισμένες τροποποιήσεις. Αναλυτικά, 600 mg αμυλόζης διαλύθηκαν σε 40 ml 0,1N KOH. Η διαλυτοποίησή της αμυλόζης πραγματοποιήθηκε αρχικά στους  $25\text{ }^\circ\text{C}$  υπό συνεχή ανάδευση για 24 ώρες. Μετά το πέρας των 24 ωρών, ακολούθησε αύξηση της θερμοκρασίας στους  $90\text{ }^\circ\text{C}$  για 2-3 min ώστε να ολοκληρωθεί η πλήρης διαλυτοποίησή της αμυλόζης. Στη συνέχεια το διάλυμα της αμυλόζης ψύχθηκε στην επιλεγμένη θερμοκρασία συμπλοκοποίησης ( $30, 50$  ή  $70\text{ }^\circ\text{C}$ ). Όσον αφορά τη διαλυτοποίησή των λιπαρών οξέων, 60 mg λιπαρού οξέος διαλύθηκαν σε 0,1N KOH (60 ml) υπό συνεχή ανάδευση στους  $90\text{ }^\circ\text{C}$  μέχρις ότου να διαλυτοποιηθούν πλήρως. Στη συνέχεια, το διάλυμα του λιπαρού οξέος ψύχθηκε στην επιλεγμένη θερμοκρασία συμπλοκοποίησης ( $30, 50$  ή  $70\text{ }^\circ\text{C}$ ). Έπειτα, ακολούθησε ανάμειξη των δύο διαλυμάτων (αμυλόζης και λιπαρού οξέος) και κατόπιν ρύθμιση του pH στο 4,6 αρχικά με 5M υδροχλωρικό οξύ (HCl) και έπειτα με 2M HCl. Ακολούθησε φυγοκέντρηση του διαλύματος σε φυγόκεντρο (GallenKamp, England) στα  $4200 \times g$  για 30min, με σκοπό την παραλαβή των σχηματισθέντων συμπλόκων. Κατόπιν, τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν με νερό και επαναφυγοκεντρήθηκαν στα  $4200 \times g$  για 30 min. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε μια επιπλέον φορά. Έπειτα, για τη αφαίρεση της περίσσειας των λιπαρών οξέων που δεν συμπλοκοποιήθηκαν με την αμυλόζη, τα σύμπλοκα αναμίχθηκαν με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) ώστε να απομακρυνθούν τα λιπαρά και επαναφυγοκεντρήθηκαν στα  $4200 \times g$  για 30min. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε 3 φορές. Μετά το πέρας της όλης διαδικασίας, τα σύμπλοκα τοποθετήθηκαν σε τρυβλία και αφέθηκαν να ξηρανθούν σε ρεύμα αέρα,  $25\text{ }^\circ\text{C}$ .

Για την παρασκευή των συμπλόκων με το προζελατινοποιημένο άμυλο καλαμποκιού και με το άμυλο Hylon VII ακολούθησε η διαδικασία που περιγράφεται παραπάνω λαμβάνοντας υπόψη όμως το ποσοστό της διαθέσιμης αμυλόζης που περιέχεται στα άμυλα, προσθέτοντας την ανάλογη

ποσότητα λιπαρών οξέων που απαιτείται ώστε να σχηματισθούν πλήρως κορεσμένες έλικες αμυλόζης (10 % w/w)

### 3.2.6.1 Μεθοδολογία παρασκευής συμπλόκων αμύλων-λιπαρών οξέων με την τεχνική της ξήρανσής με εκνέφωση (*spray drier*)

Υδατικά διαλύματα αμύλου, συγκέντρωσης για το προζελατινοποιημένο άμυλο καλαμποκιού, άμυλο ταπιόκας και φυσικό άμυλο φυσικού αμύλου καλαμποκιού 5%, και επιπλέον για φυσικό άμυλο καλαμποκιού 10% θερμάνθηκαν σε διπλότοιχη θερμαινόμενη δεξαμενή στους 72-74 °C για διάστημα 1 ώρας. Η δεξαμενή συνδέθηκε μέσω αντλίας τύπου mono με πιλοτικό ξηραντήριο εκνέφωσης (*spray drier*) της εταιρείας Niro Atomizer, Κοπεγχάγη, Δανία, type production minor, με εξατμιστική ικανότητα 50 L/h νερού. Έπειτα προστέθηκε στη δεξαμενή υδατικό διάλυμα άλατος καλίου με μυριστικό ή με παλμιτικό οξύ και τα δείγματα παρέμειναν σε αυτήν την θερμοκρασία υπό συνεχή ανάδευση για 20 min ώστε να επιτευχθεί η πλήρης συμπλοκοποίηση της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα. Η συγκέντρωση του λιπαρού οξέος ήταν σε ποσοστό 8% επί της ελεύθερης (μη συμπλεγμένης) αμυλόζης. Μετά το πέρας των 20 min, ακολούθησε η ξήρανσή των συμπλόκων στο ξηραντήριο εκνέφωσης το οποίο ήταν εφοδιασμένο με κεφαλή εκνέφωσης τύπου περιστρεφόμενου δίσκου (*centrifugal disc atomizer*). Η θέρμανση του αέρα ξήρανσής γινόταν με καύση βουτανίου στον καυστήρα του ξηραντηρίου. Η συλλογή των αφυδατωμένων συμπλόκων γινόταν από τον αεροκυκλώνα που ήταν συνδεδεμένος με το ξηραντήριο. Τα πολύ λεπτά σωματίδια (*finest*) που μεταφέρονταν με τον αέρα εκτός του συστήματος του ξηραντηρίου παγιδεύονταν σε πλυντρίδα νερού (*wet scrubber*) κυκλώνα.

Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση της διαδικασίας της ξήρανσής με εκνέφωση στη δομή των συμπλόκων, ποσότητα δείγματος ~ 200 g συλλέχθηκε αμέσως από τη διπλότοιχη θερμαινόμενη δεξαμενή δηλ προτού ξηρανθεί, ως υλικό τροφοδοσίας, και έπειτα φυγοκεντρήθηκε στα 4200 g x 30min. Κατόπιν τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν με νερό και επαναφυγοκεντρήθηκαν στα 4200 x g για 30min. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε μια επιπλέον φορά. Έπειτα, για τη αφαίρεση της περίσσειας των λιπαρών οξέων που δεν συμπλοκοποιήθηκαν με την αμυλόζη, τα σύμπλοκα αναμίχθηκαν με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) ώστε να απομακρυνθούν τα λιπαρά και επαναφυγοκεντρήθηκαν στα 4200 x g για 30min. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε 3 φορές. Μετά το πέρας της όλης διαδικασίας, τα σύμπλοκα τοποθετήθηκαν σε τρυβλία και αφήθηκαν να ξηρανθούν σε ρεύμα αέρα, 25 °C.

### 3.2.7. Περίθλαση ακτίνων X (XRD)

Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το περιθλασίμετρο ακτίνων X (X' Pert PRO model MPD PANalytical, the Netherlands). Το όργανο ήταν εξοπλισμένο με κρύσταλλο γραφίτη ως μονοχρωμάτωρα, ενώ η λυχνία παραγωγής ακτίνων X περιείχε άνοδο  $\text{CuK}\alpha_1$  και κάθοδο βολφραμίου, και το μήκος κύματος των ακτίνων που παράγονταν ήταν  $\text{K}\alpha=1,5405980 \text{ \AA}$ . Τα προς ανάλυση δείγματα (200 mg), τοποθετήθηκαν σε ειδικούς υποδοχείς. Ο συνολικός χρόνος μέτρησης των δειγμάτων ήταν 1 ώρα. Οι συνθήκες πειραματικής διαδικασίας που εφαρμόστηκαν αναφέρονται αναλυτικά στον Πίνακα 3.1.

Πίνακας 3.1 Συνθήκες πειραματικής διαδικασίας των συμπλόκων με την τεχνική της περίθλασης ακτίνων X

Εύρος	6°- 36° (2θ)
Τάση	45 kV
Ένταση	40 mA
Μήκος κύματος	1,5405980 Å
Step size	0,04°
Time per step	5s
Scan speed	0,008°/s
Divergence slit	1°
Anti-scatter slit	2°
Mask	10mm
Receiving slit	0,4mm
Soller slit	0,04 rad

#### 3.2.7.1 Επεξεργασία φασμάτων περίθλασης ακτίνων X

Η επεξεργασία των δεδομένων έγινε με τη βοήθεια του λογισμικού προγράμματος X'Pert High Score PANalytical, με το οποίο υπολογίστηκαν το υπόβαθρο (background), ενώ τα εμβαδά των κορυφών υπολογίστηκαν με τη βοήθεια του λογισμικού SigmaPlot 10. Για τον υπολογισμό της % κρυσταλλικότητας, αφαιρέθηκαν από τα δεδομένα οι τιμές που ήταν εκτός του εύρους 9-30° (2θ). Το ποσοστό κρυσταλλικότητας ( $X_c$ ) προσδιορίστηκε σύμφωνα με την εξίσωση (Stribeck, 2007):

$$X_c = \frac{I_{cr}}{I_{cr} + I_{am}}$$

όπου:

$I_{cr}$  είναι το εμβαδόν που περικλείεται μεταξύ της γραμμής του φάσματος περίθλασης ακτίνων X και του υποβάθρου (background) και ορίζει την κρυσταλλική περιοχή και  $I_{am}$  είναι το εμβαδόν ανάμεσα στο υπόβαθρο και τη γραμμή βάσης (baseline) και ορίζει την άμορφη περιοχή.

Το μέγεθος των κρυστάλλων προσδιορίστηκε με τη χρήση της σχέσης του Scherrer (Brundle et al., 1992):

$$L \approx \frac{\lambda}{FWHM \times \cos \theta}$$

όπου:

$L$  είναι το μέγεθος των κρυστάλλων σε Å,  $\lambda$  είναι το μήκος κύματος σε Å και FWHM είναι το μέγιστο πλάτος στο μισό του μέγιστου ύψους της κορυφής. Η κορυφή του φάσματος περίθλασης ακτίνων X, στην οποία έγινε ο υπολογισμός ήταν η χαρακτηριστική για όλα τα δείγματα στις 19,8° (2θ). Το λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν το OriginPro 7.

### 3.2.8. Διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC)

Οι μετρήσεις διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (Differential Scanning Calorimetry, DSC) πραγματοποιήθηκαν σε θερμιδόμετρο Perkin-Elmer (Model DSC 6, Connecticut, USA). Η ρύθμιση του οργάνου έγινε με πρότυπο δείγμα καθαρού ινδίου (In). Ποσότητα δείγματος (~6mg επί ξηρού) τοποθετήθηκε σε προζυγισμένους περιέκτες αλουμινίου (volatile aluminum pans, της εταιρείας Perkin-Elmer) χωρητικότητας 20 μl. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 10 μl απεσταγμένου νερού με τη χρήσης μικροσύριγγας. Τα δείγματα σφραγίστηκαν με τη βοήθεια κατάλληλου κλειστικού της εταιρείας Perkin-Elmer. Τα δείγματα θερμάνθηκαν κάτω από συνεχή ροή αερίου N<sub>2</sub> από τους 15 έως τους 130°C, με σταθερό ρυθμό 10°C/min.

### **3.2.9. Φασματοσκοπία υπερέυθρου με μετασχηματισμό Fourier (FTIR)**

Τα δείγματα μελετήθηκαν με φασματοσκοπία υπερέυθρου με μετασχηματισμό Fourier (FT-IR), χρησιμοποιώντας φασματόμετρο Nicolet 380 FT-IR με συναρμολογημένο διαμάντι έξυπνης τροχιάς ATR (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στην περιοχή κυματαρίθμων από 1000-4000  $\text{cm}^{-1}$  με διακριτική ικανότητα 4  $\text{cm}^{-1}$  και αριθμό σαρώσεων 100.

### **3.2.10. Συνεστιακό μικροσκόπιο σάρωσης (CLSM)**

Η μορφολογία των συμπλόκων μελετήθηκε με τη χρήση συνεστιακού μικροσκοπίου σάρωσης με λέιζερ (CLSM) (LSM 700, Carl Zeiss Micro Imaging GmbH, Jena, Germany). Ποσότητα 20 mg δείγματος χρωματίστηκε με διάλυμα χρωστικής Nile red (1 ml, 1g/l σε μεθανόλη). Το δείγμα αφέθηκε όλη τη νύκτα στους 4°C και ακολούθησε φυγοκέντρηση, για την απομάκρυνση του υπερκείμενου υγρού (4200 × g για 30 λεπτά). Μετά το τέλος της διαδικασίας, τα χρωματισμένα δείγματα τοποθετήθηκαν σε τρυβλία και αφέθηκαν να ξηραθούν στους 25°C σε ρεύμα αέρα. Ως δείγμα αναφοράς (control) χρησιμοποιήθηκε μίγμα αμυλόζης και λιπαρού οξέος σε στερεή κατάσταση, ακολουθώντας την ίδια διαδικασία παρασκευής των συμπλόκων, όπως περιγράφεται αναλυτικά παραπάνω (Ενότητα 3.2.6) με τη διαφορά ότι η αμυλόζη και το λιπαρό οξύ διασπάρθηκαν σε νερό πριν την ανάμιξη τους και το μίγμα δεν υπέστη κτεργασία με νερό και με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν τη ξήρανσή του.

### **3.2.11. Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM)**

Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης που χρησιμοποιήθηκε ήταν της εταιρείας Carl Zeiss, SMT, Ltd, UK (model Zeiss EVO 50 VP). Η παραγωγή της δέσμης ηλεκτρονίων έγινε χρησιμοποιώντας νήμα βολφραμίου, ενώ για τη συλλογή των δευτερογενών ηλεκτρονίων χρησιμοποιήθηκε ανιχνευτής μεταβλητής πίεσης (Variable Pressure Secondary Electron detector). Το συγκεκριμένο όργανο λειτουργεί υπό καθεστώς μεταβλητής πίεσης (Variable Pressure Mode) με τη χρήση κατάλληλου διαφράγματος. Αυτό σημαίνει ότι υπάρχει η δυνατότητα ύπαρξης διαφορετικής πίεσης στο θάλαμο, από αυτήν της στήλης του μικροσκοπίου. Έτσι καθίσταται δυνατή η παρατήρηση μη αγωγίων δειγμάτων χωρίς τη χρήση επικάλυψης (coating) με ατμούς μετάλλων, άνθρακα, κ.ά. Παράλληλα, χρησιμοποιήθηκε και άζωτο για την εξουδετέρωση του φορτίου που δημιουργείται επιφανειακά στο δείγμα κατά τη σάρωση της δέσμης ηλεκτρονίων. Τα δείγματα στερεώθηκαν σε υποδοχείς αλουμινίου με τη χρήση κολλητικής ταινίας άνθρακα διπλής όψης και τοποθετήθηκαν σε

δειγματοφορέα πολλαπλών θέσεων (9-stub carousel). Κατά την εξέταση των δειγμάτων στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο εφαρμόστηκε τάση επιτάχυνσης 5 kV, και πίεση 30 Pa.

#### *3.2.11.1. Στοιχειακή μικροανάλυση (EDS)*

Η στοιχειακή μικροανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια της ανάλυσης διασποράς ενέργειας ακτίνων X (Energy Dispersive Spectrometer, EDS) χρησιμοποιώντας ανιχνευτή BrukerAXS Quantax 200 (Bruker, Madison, WI) που συνδεόταν με τη συσκευή SEM.

#### **3.2.12. Θερμοσταθμική ανάλυση (TGA)**

Η οξειδωτική σταθερότητα των συμπλόκων μελετήθηκε με TGA όργανο TAQ50 (TA Instruments, USA). Με σκοπό την απομάκρυνση του μεγαλύτερου ποσοστού υγρασίας στα σύμπλοκα, πριν τη μελέτη τους, πραγματοποιήθηκε ξήρανσή υπό κενό για 48 h. Περίπου 60 mg δείγματος (επί ξηρού) ζυγίστηκαν σε δειγματοφορείς λευκοχρύσου, ενώ ένας άδειος δειγματοφορέας χρησιμοποιήθηκε ως δείγμα αναφοράς. Κατά τη μέτρηση, το δείγμα θερμάνθηκε με ρυθμό 5°C/min από τους 30 έως τους 50°C, όπου παρέμεινε για 1 min, και στη συνέχεια θερμάνθηκε έως τους 130°C με ρυθμό 0,3°C/min. Όλα τα πειράματα διεξήχθησαν σε ατμόσφαιρα οξυγόνου με ροή 60 ml/min.

#### **3.2.13. Εξαγωγή της ποσότητας των μη συμπλεγμένων λιπαρών οξέων με τη αμυλόζη και ποσοτικός προσδιορισμός με αέρια χρωματογραφία**

Η εξαγωγή της ποσότητας των μη συμπλεγμένων λιπαρών οξέων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση διαιθυλαιθέρα και προσδιορίστηκε ποσοτικά με αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή FID της εταιρείας Thermo Scientific (model Focus, Italy). Σε σωλήνες Pyrex, χωρητικότητας 10ml προστέθηκαν 200mg συμπλόκου και 6ml διαιθυλαιθέρα και ακολούθησε έντονη ανάδευση (swirl mixing) για διάστημα 2 min. Έπειτα το δείγμα αφέθηκε για κατακρήμνιση για 10 min. Ποσότητα 2ml από το υπερκείμενο υγρό μεταφέρθηκε σε άλλο σωλήνα. Στους αρχικούς σωλήνες προστέθηκαν 2ml διαιθυλαιθέρα και η διαδικασία επαναλήφθηκε άλλες δύο φορές. Τα εκχυλίσματα του διαιθυλαιθέρα φυγοκεντρήθηκαν ( $4200 \times g$  για 30 min) και 5 ml από αυτά μεταφέρθηκαν σε άλλο σωλήνα. Έπειτα ο διαλύτης απομακρύνθηκε με τη βοήθεια αερίου αζώτου. Στους σωλήνες προστέθηκε προζυγισμένη ποσότητα δεκαεπτανοϊκού οξέος το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικό πρότυπο. Ακολούθησε ο σχηματισμός των μεθυλεστέρων με μεθανολικό διάλυμα BF<sub>3</sub>

(Morisson & Smith 1964) και ο προσδιορισμός των λιπαρών οξέων με αέρια χρωματογραφία. Ο αέριος χρωματογράφος που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από :

- Στήλη (AT-5, 60 m x 0,25 mm ID)
- Ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID)
- Εισαγωγή με διαχωρισμό (split ratio:30)

Για την ανάλυση, ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε το ήλιο με ροή 1,2 ml/min. Οι πειραματικές συνθήκες ήταν: Αρχική θερμοκρασία της στήλης 130°C και ρυθμό αύξησης 5°C/min, με τελική θερμοκρασία τους 220°C, θερμοκρασία συστήματος ανιχνευτή 250°C, θερμοκρασία του εισαγωγέα 220°C. Τα χρωματογραφήματα αναλύθηκαν με τη χρήση του λογισμικού EZCHROM.

### **3.2.14. Ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων, παραλαβή των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων με εκχύλιση με υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub> και ποσοτικό προσδιορισμό με αέρια χρωματογραφία**

Τα συμπλόκα αμυλόζης-λιπαρών οξέων που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C και υπέστησαν επανεκατεργασία με διαιθυλαιθέρα για την απομάκρυνση των ελεύθερων λιπαρών οξέων (όπως περιγράφεται στην Ενότητα 3.2.13) υδρολύθηκαν ενζυμικά με βάση τη μέθοδο των Karkalas (1985) και (Karkalas & Raphelides, 1986). Συνοπτικά, ~80 mg συμπλόκων τοποθετήθηκαν σε σωλήνες Pyrex χωρητικότητας 20 ml και προστέθηκε 1 ml νερό. Τα δείγματα παρέμειναν για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου και έπειτα προστέθηκε 1 ml KOH 2N και ακολούθησε έντονη ανάδευση. Τα δείγματα παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου για 30 min και ακολούθησε εξουδετέρωση του διαλύματος με HCl 1N και ρύθμιση του pH στο 7,2 με tris buffer. Έπειτα τα δείγματα επώαστηκαν πρώτα με α-αμυλάση (0,2 ml, 85°C για 30 min) και στη συνέχεια με αμυλογλυκοσιδάση (20 mg σε 10 ml ρυθμιστικό διάλυμα citrate buffer, pH 4,6, στους 60°C για 120 min). Στη συνέχεια, τα δείγματα αφυδατώθηκαν σε λυοφιλιωτή Martin Christ (model Gamma 1-20, Germany) και ακολούθησε εκχύλιση των δειγμάτων (σε μορφή σκόνης) με υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub> σε εκχυλιστήρα (SFT-110 Supercritical Fluid Extractor) με σκοπό τη ποσοτική παραλαβή της ποσότητας του λιπαρού οξέος που είχε συμπλοκοποιηθεί με την αμυλόζη. Όλες οι εκχυλίσεις έγιναν σε πίεση 200 bar, θερμοκρασία 50°C, και ροή CO<sub>2</sub> με 15 ml/min, σε εκχυλιστήρα χωρητικότητας 50 ml. Έπειτα, ακολούθησε ο σχηματισμός των μεθυλεστέρων με μεθανολικό διάλυμα BF<sub>3</sub> (Morisson & Smith 1964) και ο προσδιορισμός των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων με αέρια χρωματογραφία όπως περιγράφεται αναλυτικά παραπάνω (Ενότητα 3.2.13). Ως εσωτερικό πρότυπο χρησιμοποιήθηκε δεκαεπτανοϊκό οξύ.



### **3.2.15. Μετρήσεις ηλεκτροφορητικής κινητικότητας και μεγέθους σωματιδίων (DLS)**

Οι μετρήσεις ηλεκτροφορητικής κινητικότητας και κατανομής μεγέθους σωματιδίων πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση συσκευής ανάλυσης ζ-δυναμικού και μεγέθους σωματιδίων (Particle Size Analyzer, NanoBrook 90 Plus) της εταιρείας Brookhaven Instruments Corporation (USA). Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με λογισμικό της ίδιας εταιρείας. Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε ποσότητα δείγματος 2 - 5ml (συγκέντρωσης αμυλόζης 1,5%). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν, αμέσως μετά την ανάμιξη των αλκαλικών διαλυμάτων της αμυλόζης και των λιπαρών οξέων σε pH 12,7, και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

### **3.2.16. Κοκκομετρική ανάλυση με σκέδαση του φωτός**

Η κοκκομετρική ανάλυση των διαλυμάτων της αμυλόζης, των λιπαρών οξέων και των σχηματιζόμενων συμπλόκων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση οργάνου σκέδασης φωτός με ακτίνα laser Malvern, model Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, U.K.). Για την κοκκομετρική ανάλυση 5 - 15ml δείγματος (συγκέντρωσης αμυλόζης 1,5%) προστέθηκε στο δειγματοφορέα του οργάνου που περιείχε 600 ml νερό απιονισμένο νερό. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν αμέσως μετά την ανάμιξη των αλκαλικών διαλυμάτων της αμυλόζης και των λιπαρών οξέων στους 30, 50 ή 70° C και ρύθμισης του pH στο 4,6.

### **3.2.17. Μετρήσεις επιφανειακής τάσης με τη μέθοδο της κρεμάμενης σταγόνας (pendant drop) και με χρήση της μεθόδου πλακιδίου (Wilhelmy plate)**

Χρησιμοποιήθηκαν δύο μέθοδοι για τη μέτρηση της επιφανειακής τάσης: η μέθοδος της κρεμάμενης σταγόνας και η μέθοδος του πλακιδίου Wilhelmy. Στην πρώτη περίπτωση χρησιμοποιήθηκε όργανο της εταιρείας KSV (Cam 200, KSV Instruments LTD, Finland). Η βαθμονόμηση του οργάνου έγινε με σφαίρα γνωστής διαμέτρου (4,0 mm, μέγεθος αναφοράς) και για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση Young-Laplace μέσω του λογισμικού της εταιρείας one attension (Version 1.8, Biolon Scientific). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν για χρόνο από 1 sec έως 800s. Σε ότι αφορά τις μετρήσεις με τη μέθοδο του Wilhelmy, χρησιμοποιήθηκε το όργανο (Sigma 701-OneAttension) ενώ εφαρμόθηκε συνεχής καταγραφή του βάρους. Ο χρόνος της πρώτης μέτρησης με αυτό το όργανο ήταν 10 s, ενώ οι μετρήσεις είχαν διάρκεια 5000 s έτσι ώστε να είναι βέβαιη η λήψη τιμών ισορροπίας.

Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε διαλύματα συμπλόκων όπου τα λιπαρά οξέα προστέθηκαν σε αναλογίες 10%, 1% και 0,1% του βάρους της αμυλόζης. Επιπλέον, ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν τα αντίστοιχα διαλύματα τριών διαφορετικών λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό και ελαϊκό οξύ) στις αντίστοιχες αναλογίες που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των συμπλόκων (10%, 1% και 0,1%). Για λόγους σύγκρισης έγιναν μετρήσεις σε διάλυμα καθαρής αμυλόζης (pH 12,7) και σε διάλυμα 0,1N KOH.

#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Όπως αναφέρθηκε στη παρούσα εργασία, για την παρασκευή των συμπλόκων χρησιμοποιήθηκαν αμυλόζη που λήφθηκε από άμυλο αρακά, προζελατινοποιημένο άμυλο φυσικού καλαμποκιού (pregel), άμυλο φυσικού καλαμποκιού, άμυλο καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό σε αμυλόζη (~70%) (amylo maize, Hylon VII) και άμυλο ταπιόκας. Η επιλογή των αμύλων έγινε με βάση το ποσοστό αμυλόζης που περιείχαν.

Η επιλογή του αρακά για την εξαγωγή της αμυλόζης έγινε λαμβάνοντας υπόψη ότι το άμυλο του αρακά περιέχει μεγάλο ποσοστό αμυλόζης (~36%), και είναι πρακτικώς ελεύθερο από λιπίδια (Raphaelides & Georgiadis, 2007). Το γεγονός αυτό είναι πολύ σημαντικό για τη μελέτη της συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με διάφορα μόρια, γιατί δεν επηρεάζεται από τη παρουσία ενδογενών λιπιδίων που είναι δυνατό να συμπλοκοποιηθούν και αυτά ή είναι ήδη συμπλεγμένα με μόρια αμυλόζης. Ο πλέον πειστικός μάρτυρας για το εάν υπάρχουν ενδογενή σύμπλοκα είναι ο προσδιορισμός της ολικής (total amylose) και της φαινομενικής αμυλόζης (apparent amylose), όπου η φαινομενική αμυλόζη είναι η διαθέσιμη για συμπλοκοποίηση αμυλόζη ενώ η ολική αμυλόζη περιλαμβάνει, εκτός από την ελεύθερη, και τη συμπλεγμένη. Αν το ποσοστό των δύο κατηγοριών αμυλόζης είναι περίπου το ίδιο, αυτό σημαίνει ότι δεν υπάρχουν ενδογενή σύμπλοκα (Morrison & Laignelet, 1983). Επιπλέον, το μόριο της αμυλόζης από αρακά είναι πρακτικώς ευθύγραμμο, δηλ. δεν φέρει διακλαδώσεις. Συγκεκριμένα, η γραμμικότητα της αμυλόζης από αρακά προσεγγίζει το 100%, ενώ για παράδειγμα το μόριο της αμυλόζης από πατάτα έχει γραμμικότητα μικρότερη από 90%, γεγονός που έχει επίπτωση στο βαθμό συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με τα λιπαρά. Επίσης, η αμυλόζη από άμυλο αρακά παράχθηκε εργαστηριακά καθώς το κόστος αγοράς της εμπορικά διαθέσιμης αμυλόζης από πατάτα, υπερβαίνει τα 900 ευρώ/g, πράγμα απαγορευτικό για τη διεξαγωγή μεγάλης σειράς πειραμάτων.

Το φυσικό άμυλο καλαμποκιού επιλέχθηκε γιατί χρησιμοποιείται ευρύτατα στη βιομηχανία, έχει χαμηλό κόστος αγοράς και δεν περιέχει ενδογενή λιπίδια στο ίδιο βαθμό που περιέχει το άμυλο σιταριού.

Η επιλογή του αμύλου ταπιόκας έγινε με γνώμονα ότι η ταπιόκα ανήκει στους κόνδυλους και, όπως όλοι οι κόνδυλοι, το άμυλο τους είναι πρακτικώς ελεύθερο λιπιδίων και επίσης βρίσκει πολλές εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων.

Το προζελατινοποιημένο άμυλο φυσικού καλαμποκιού (pregel) επιλέχθηκε γιατί λόγω της καταστροφής των αμυλοκόκκων που έχει υποστεί κατά τη ξήρανσή του στο ξηραντήριο τυμπάνων, η αμυλόζη είναι άμεσα διαθέσιμη για να συμπλοκοποιηθεί με τα λιπαρά οξέα. Το προζελατινοποιημένο άμυλο καλαμποκιού (pregel) δεν είναι εμπορικά διαθέσιμο ακόμη και ως αντιδραστήριο, καθώς δεν βρίσκει εφαρμογές, σε αντίθεση με το προζελατινοποιημένο κηρώδες άμυλο καλαμποκιού (waxy maize starch) που είναι πρακτικά καθαρή αμυλοπηκτίνη, και βρίσκει εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων και ιδιαίτερα για τη παραγωγή στιγμιαίων παιδικών τροφών. Για αυτό το λόγο παράχθηκε σε πιλοτική κλίμακα στο Βιομηχανικό Εργαστήριο του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων του ΑΤΕΙΘ, ως εξής: Αιώρημα φυσικού αμύλου καλαμποκιού 10% σε νερό παράχθηκε σε δεξαμενή χωρητικότητας 190 L υπό συνεχή ανάδευση με πτερυγιοφόρο αναδευτήρα υπό κλίση. Το αιώρημα μεταφέρθηκε με τη βοήθεια γραναζωτής αντλίας σε ξηραντήρα περιστρεφόμενων διπλών τυμπάνων (double drum drier) της εταιρείας G.M.F. Gouda, The Netherlands) που θερμανόταν με υπέρθερμο ατμό στους 160°C. Οι διαστάσεις των τυμπάνων ήταν μήκους 50 cm and διαμέτρου 50 cm. Η ταχύτητα περιστροφής τους ήταν 4 rpm. Το παραγόμενο φύλλο ζελατινοποιημένου και αφυδατωμένου αμύλου μετά από άλεση σε μηχανήμα κοπής υψηλής ταχύτητας (high speed rotating cutter) αποθηκεύτηκε σε μορφή σκόνης (8,0% υγρασία) σε μικρά βαρέλια από PVC. Για την παραγωγή της αμυλόζης από άμυλο αρακά επιχειρήθηκε να χρησιμοποιηθεί η απλούστερη δυνατή διαδικασία, τόσο από άποψη χρόνου όσο και κόστους, χωρίς όμως αυτό να σημαίνει υποβάθμιση της ποιότητας της παραληφθείσας αμυλόζης αναφορικά με την καθαρότητά της. Από τις τεχνικές που αναφέρονται στη βιβλιογραφία (Everett & Foster 1959; Killion & Foster 1960), αποκλείστηκε η χρήση ως διαλύτη του αμύλου το DMSO τόσο από άποψη κόστους όσο και κυρίως από άποψη επικινδυνότητας, μιας και το DMSO είναι γνωστό μεταλλαξιογόνο. Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί ότι όταν στο διάλυμα του αμύλου με DMSO προστεθεί κάποια ουσία που αντιδρά με την αμυλόζη όπως η n-βουτανόλη (Schoch, 1942) ή η θυμόλη δεν καταβυθίζεται υπό τη μορφή συμπλόκου μόνο η αμυλόζη αλλά και ένα μεγάλο ποσοστό της αμυλοπηκτίνης (Meyer & Gibbons, 1951; Haworth et al., 1946) και επομένως δεν μπορούν τα δύο ομοπολυμερή να διαχωριστούν. Έχοντας υπόψη τη θερμοκρασία ζελατινοποίησης του αμύλου αρακά (Πίνακας 4.2), προφανώς η πλέον ενδεδειγμένη μέθοδος για την παραλαβή της αμυλόζης, είναι η ελεγχόμενη ζελατινοποίηση του αμύλου αναφορικά τόσο με τη θερμοκρασία όσο και το χρόνο θέρμανσης. Για τη παραλαβή όσο γίνεται περισσότερο καθαρής αμυλόζης από άμυλο αρακά θα πρέπει η θερμοκρασία θέρμανσης του αιωρήματος του αμύλου να είναι σχεδόν αυτή της ζελατινοποίησης (όπως προσδιορίζεται με DSC) και η θέρμανση αυτή δεν θα πρέπει να είναι παρατεταμένη ώστε να αποφευχθεί η τυχόν εκχύλιση μορίων αμυλοπηκτίνης. Για το λόγο αυτό,

επιλέχθηκε η θερμοκρασία των 70°C που είναι υψηλότερη από τη θερμοκρασία ζελατινοποίησης του αμύλου κατά 1,5°C, ώστε να επιταχυνθεί η παραγωγή της αμυλόζης και ως χρόνος θέρμανσης του αιωρήματος του αμύλου ορίστηκαν τα 30 min που θεωρήθηκε επαρκής για την εκχύλιση της αμυλόζης χωρίς όμως να επιμολυνθεί με σημαντικό ποσοστό αμυλοπηκτίνης. Η απόδοση της μεθόδου που εφαρμόστηκε για την παραγωγή του αμύλου ήταν ~ 15%, ενώ στην περίπτωση της αμυλόζης κυμαινόταν από 2 έως 4% κατά παρτίδα.

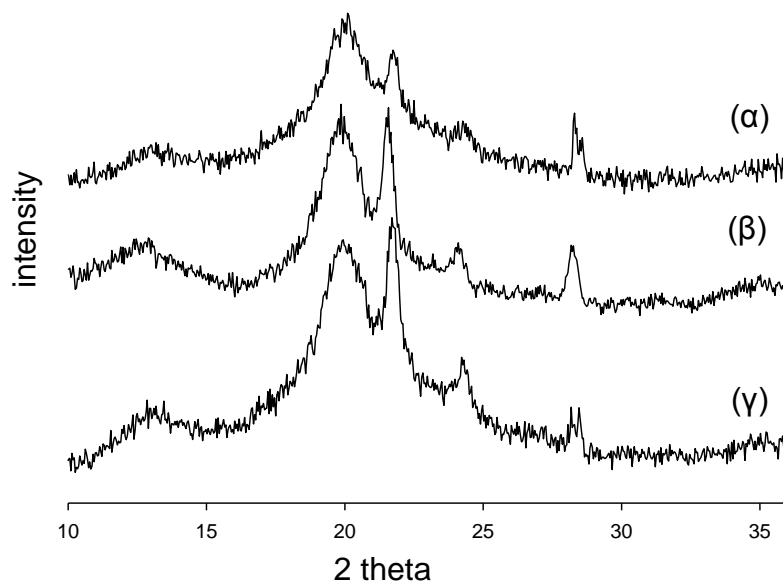
Όσον αναφορά τη διαλυτοποίησή της αμυλόζης, επιλέχθηκε υδατικό διάλυμα KOH (0,1N) γιατί είναι καλός διαλύτης και δεν ανταγωνίζεται τα φιλοξενούμενα μόρια για να συμπλεχθεί με την αμυλόζη σε αντίθεση με το DMSO το οποίο, ενώ θεωρείται εξαιρετικός διαλύτης για την αμυλόζη, σχηματίζει σύμπλοκα μαζί της (Winter & Sarko, 1974; Nakanishi et al., 1993; Cheetham & Tao, 1998; Cheetham & Tao, 1997; Radosta et al. 2001).

Οι ποσότητες των λιπαρών οξέων που χρησιμοποιήθηκαν αντιστοιχούσαν σε αυτές που απαιτούνται ώστε να αντιδράσουν ποσοτικά με τη διαθέσιμη (μη συμπλεγμένη) αμυλόζη που υπάρχει σε κάθε είδος αμύλου και να σχηματίσουν πλήρως κορεσμένες με λιπαρά οξέα έλικες αμυλόζης (Karkalas & Raphaelides, 1986). Η επιλογή των έξι λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό & λινελαϊκό οξύ, CLA) έγινε με γνώμονα το μήκος της ανθρακικής τους αλυσίδας και το βαθμό ακορεστότητάς τους. Ως θερμοκρασίες παρασκευής των συμπλόκων επιλέχθηκαν οι 30, 50 ή 70 °C γιατί, όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία (Karkalas et al., 1995; Biliaderis & Galloway 1989; Biliaderis & Seneviratne, 1990), τα σύμπλοκα αμυλόζης ανάλογα με τη θερμοκρασία παρασκευής τους μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο ξεχωριστές δομές: στην άμορφη δομή τύπου I και στη διατεταγμένη (ημικρυσταλλική) δομή τύπου II.

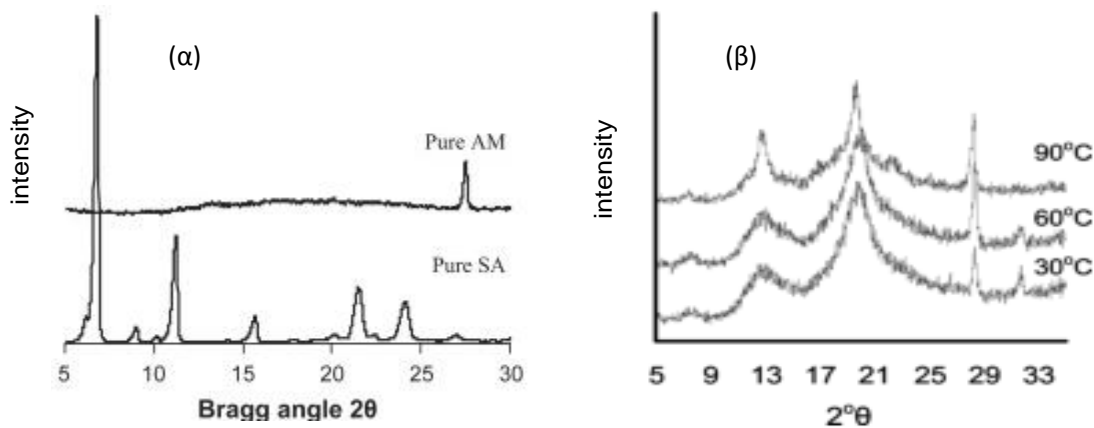
*Προκαταρκτικές μελέτες διερεύνησης και επιλογής πειραματικών συνθηκών παρασκευής των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων*

Στο Σχήμα 4.1 απεικονίζονται τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X των συμπλόκων αμυλόζης με μυριστικό, παλμιτικό και στεατικό οξύ που παρασκευάστηκαν στους 30°C. Τα σύμπλοκα κατά τη παρασκευή τους δεν ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό, όπως περιγράφεται στην Ενότητα 3.2.6, αλλά μόνο με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν τη ξήρανσή τους. Παρατηρώντας τα φάσματα, διαπιστώνεται ότι τα σύμπλοκα εμφάνισαν τη V-δομή της συμπλεγμένης αμυλόζης, με τις χαρακτηριστικές κορυφές σε τιμές  $2\theta=13,2^\circ$  και  $19,8^\circ$  (Biais et al., 2006; Jouquand et al., 2006; Le Bail et al., 2005). Επίσης, τα σύμπλοκα εμφάνισαν μια επιπλέον κορυφή στη τιμή  $2\theta=28,2^\circ$ . Οι Lesmes et al. (2009) που μελέτησαν τη συμπλοκοποίηση της αμυλόζης από άμυλο πατάτας με

διάφορα λιπαρά οξέα, ανέφεραν ότι η κορυφή αυτή οφείλεται στην αμυλόζη (μάρτυρας) (Σχήμα 4.2α). Αντίθετα, οι Lalush et al. (2005) που μελέτησαν τον σχηματισμό συμπλόκων αμυλόζης-λινελαϊκού οξέος (CLA) παρασκευασμένων με τη μέθοδο του KOH/HCl (Karkalas et al., 1995) και με την μέθοδο του DMSO (Eliasson & Krog, 1985) (Σχήμα 4.2β), ανέφεραν ότι εφαρμόζοντας τη μέθοδο

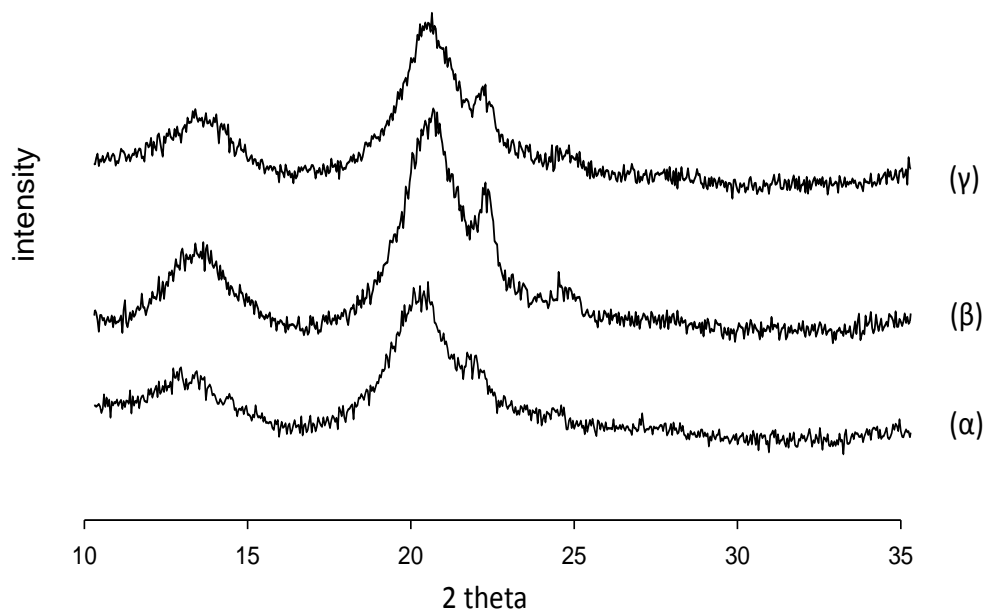


Σχήμα 4.1 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X (α) συμπλόκων αμυλόζης-μυριστικού οξέος, (β) συμπλόκων αμυλόζης-παλμιτικού οξέος, (γ) συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30°C. Τα σύμπλοκα δεν ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό πριν την ξήρανσή τους.



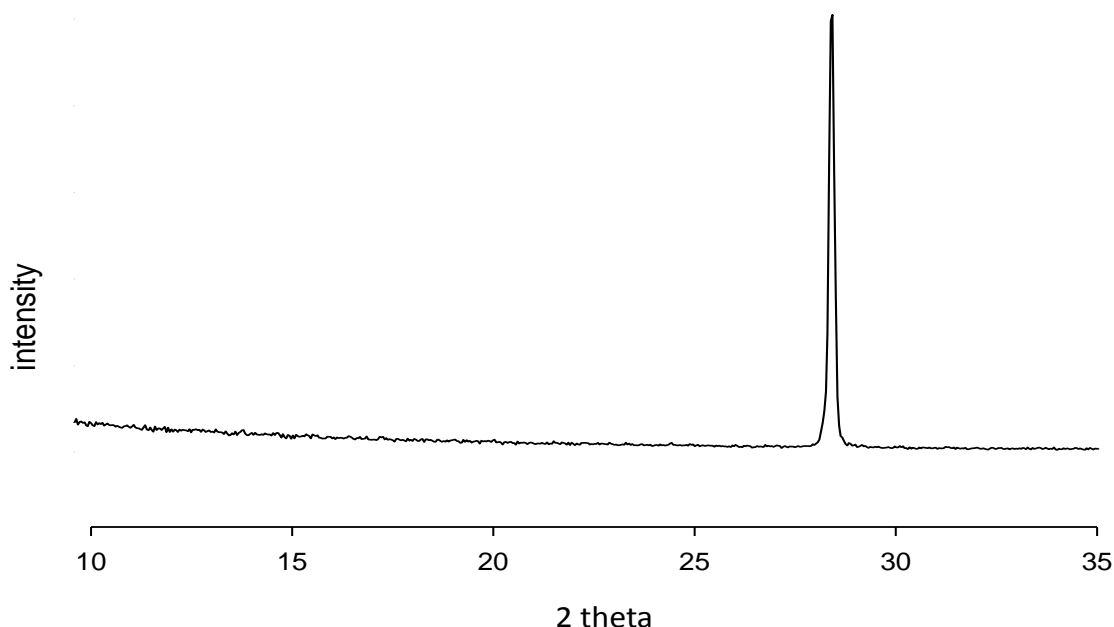
Σχήμα 4.2 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X (α) αμυλόζης (Lesmes et al., 2009) και (β) συμπλόκων αμυλόζης-λινελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν με τη μέθοδο KOH/HCl (Lalush et al., 2005).

του KOH/HCl παρατήρησαν την παρουσία κορυφής στη τιμή  $2\theta=28,2^\circ$  ενώ εφαρμόζοντας τη μέθοδο του DMSO διαπίστωσαν την απουσία της συγκεκριμένης κορυφής. Οι ερευνητές απέδωσαν την κορυφή αυτή σε μια άλλη μορφή του συμπλόκου. Με σκοπό να διαπιστωθεί η φύση της συγκεκριμένης κορυφής ( $2\theta=28,2^\circ$ ), τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία δύο φορές με νερό και έπειτα με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) (Σχήμα 4.3). Παρατηρώντας τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X των συμπλόκων διαπιστώνεται η απουσία της κορυφής στην τιμή  $2\theta=28,2^\circ$  (Σχήμα 4.3). Στο Σχήμα 4.4. παρουσιάζεται το φάσμα περίθλασης ακτίνων X του χλωριούχου καλίου (KCl), με τη χαρακτηριστική κορυφή του στην τιμή  $2\theta=28,2^\circ$ . Συγκρίνοντας τα φάσματα των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων (μυριστικό, παλμιτικό και στεατικό οξύ) που δεν ξεπλύθηκαν με νερό πριν τη ξήρασή (Σχήμα 4.1) και του φάσματος του χλωριούχου καλίου (Σχήμα 4.3), αποδεικνύεται ότι η κορυφή αυτή πιθανότατα οφείλεται σε περίσσεια χλωριούχου καλίου (KCl), που σχηματίστηκε κατά την εξουδετέρωση του διαλύματος KOH με HCl. Με βάση τα παραπάνω, συμπεραίνεται ότι, ξέπλυμα με νερό (δύο φορές) μετά τη καθίζηση και φυγοκέντρηση των συμπλόκων και πριν τη ξήρασή είχε ως αποτέλεσμα την παραλαβή συμπλόκων απαλλαγμένων από υπολείμματα χλωριούχου καλίου.



Σχήμα 4.3 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X (α) συμπλόκων αμυλόζης-μυριστικού οξέος, (β) συμπλόκων αμυλόζης-παλμιτικού οξέος & (γ) συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος. Τα σύμπλοκα κατά την παρασκευή τους υπέστησαν κατεργασία δύο φορές με νερό.

Όπως προαναφέρθηκε, τα δεδομένα αυτά έρχονται σε αντίθεση με τους Lesmes et al. (2009) και Lalush et al. (2005), οι οποίοι κατά την παρασκευή των συμπλόκων με τη μέθοδο KOH/HCl δεν



Σχήμα 4.4 Φάσμα περίθλασης ακτίνων X χλωριούχου καλίου (KCl)

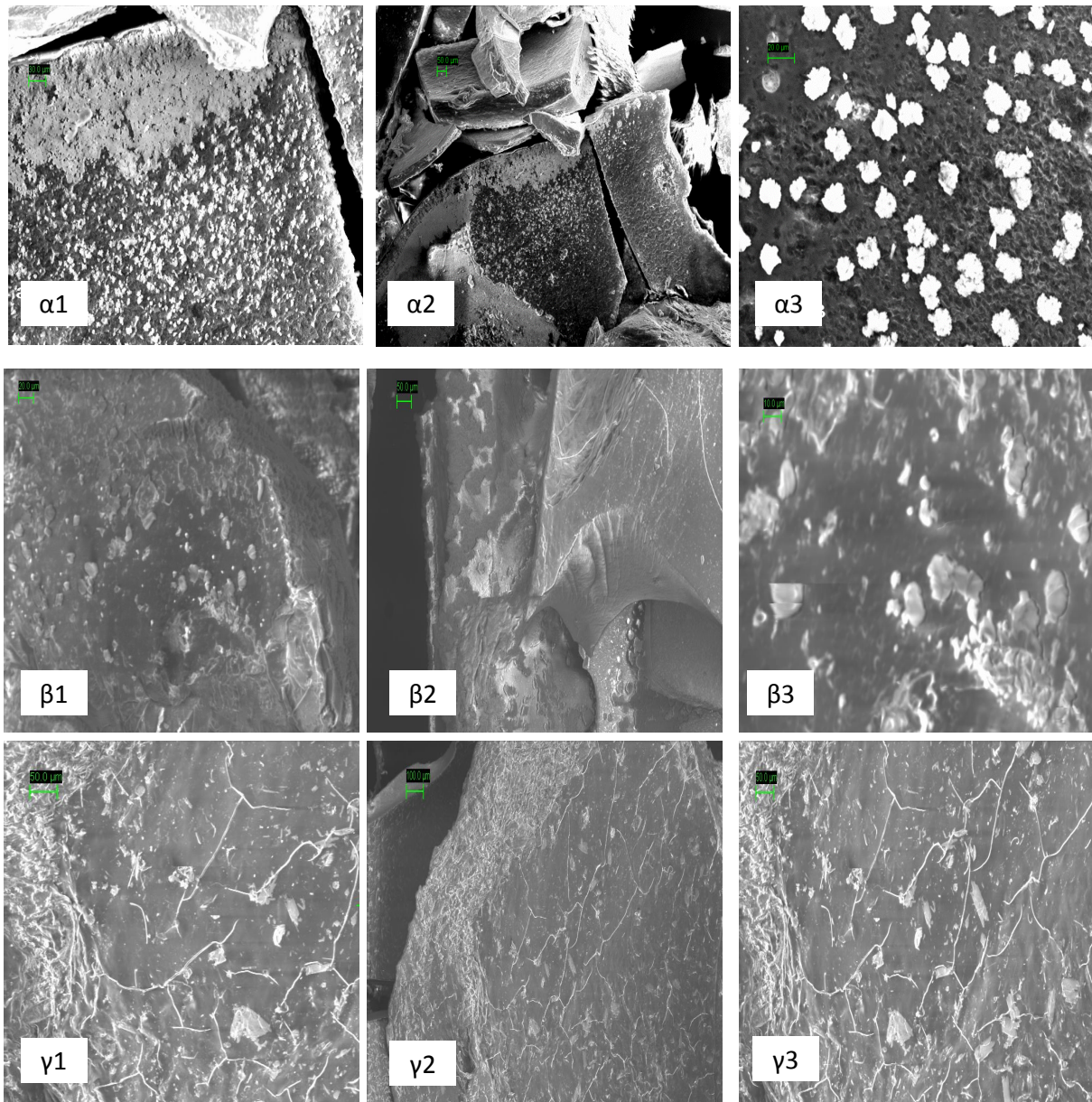
υπέστησαν κατεργασία τα δείγματα των συμπλόκων με νερό (δύο τουλάχιστον διαδοχικές εκπλύσεις), όπως συνιστάται από τους Karkalas et al (1995). Αντίθετα, οι ερευνητές αυτοί, υπέστησαν κατεργασία τα δείγματα μόνο με διάλυμα αιθανόλης-νερού (50/50) με σκοπό την απομάκρυνση της περίσσειας ελεύθερων λιπαρών οξέων, θεωρώντας ότι το διάλυμα αιθανόλης νερού θα απομάκρυνε αποτελεσματικά όχι μόνο τα ελεύθερα λιπαρά οξέα αλλά και υπολείμματα KCl.

Για περαιτέρω διερεύνηση, τα σύμπλοκα εξετάστηκαν και με ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM). Στο Σχήμα 4.5 παρουσιάζονται μικροφωτογραφίες των συμπλόκων αμυλόζης με μυριστικό, παλμιτικό και με στεατικό οξύ που κατά την παρασκευή τους δεν υπέστησαν κατεργασία με νερό. Σε όλες τις μικροφωτογραφίες των συμπλόκων διαπιστώνεται η παρουσία του χλωριούχου καλίου (KCl) που είναι τα λευκά σωματίδια που εμφανίζονται στην επιφάνεια των συμπλόκων και προφανώς πρόκειται για κρυστάλλους KCl, που προέκυψαν από την εξουδετέρωση του KOH με το HCl και σχηματίστηκαν κατά την αφυδάτωση του δείγματος.

Στοιχειακή μικροανάλυση με φασματοσκοπία EDS των συμπλόκων κατέδειξε την παρουσία του KCl σε όλα σύμπλοκα. Στο Σχήμα 4.6 παρουσιάζονται τα στοιχεία από τα οποία αποτελούνται τα σύμπλοκα αμυλόζης-λιπαρών οξέων που δεν υπέστησαν κατεργασία με νερό κατά την παρασκευή



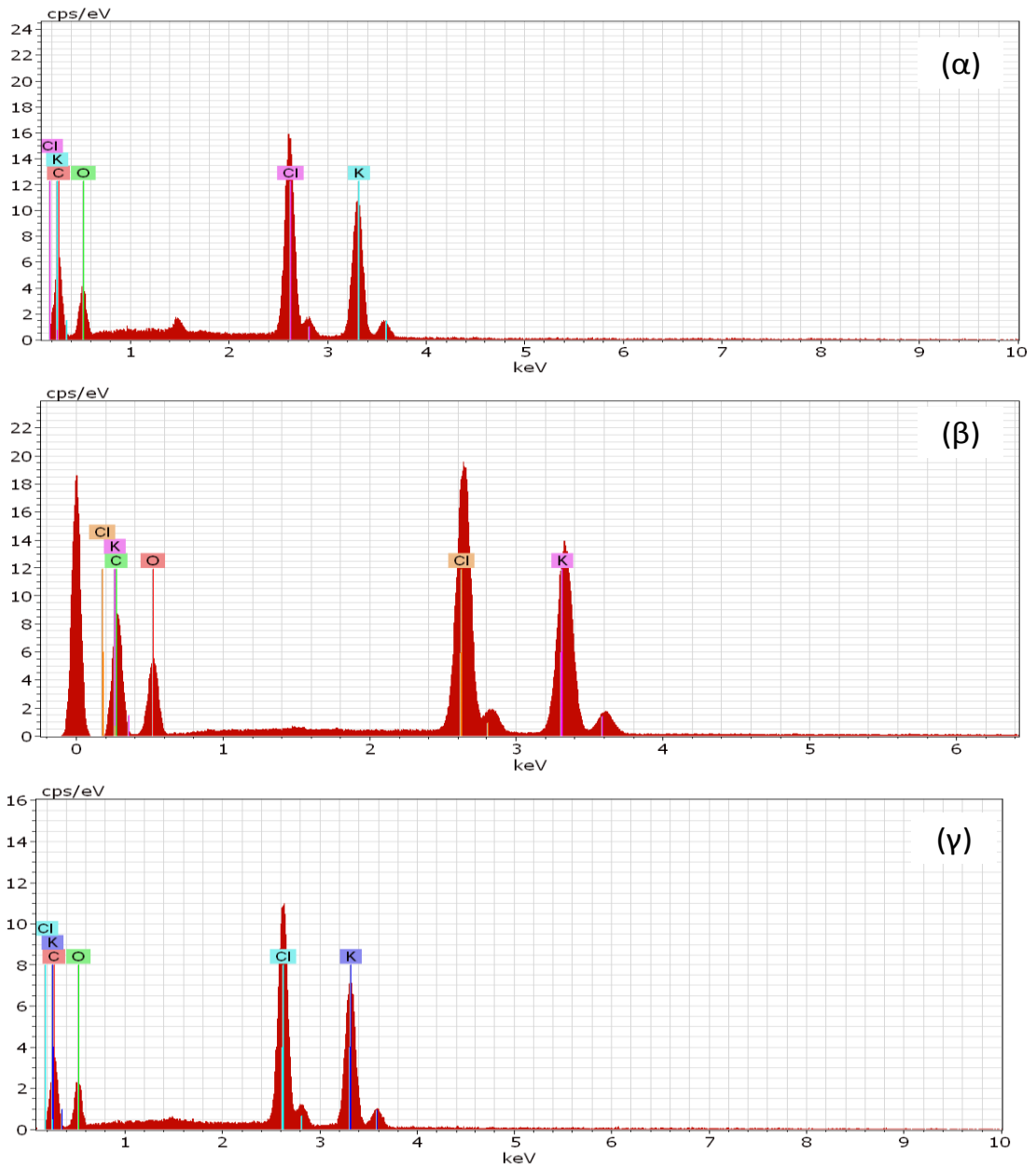
τους ενώ στο Σχήμα 4.7 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της χαρτογράφησης-κατανομής των στοιχείων των συμπλόκων με τα λιπαρά οξέα. Συγκεκριμένα, τα στοιχεία που ανιχνεύτηκαν στην επιφάνεια των συμπλόκων ήταν το χλώριο (Σχήμα 4.7β, κυανή περιοχή), το κάλιο (Σχήμα 4.7γ, κόκκινη περιοχή)



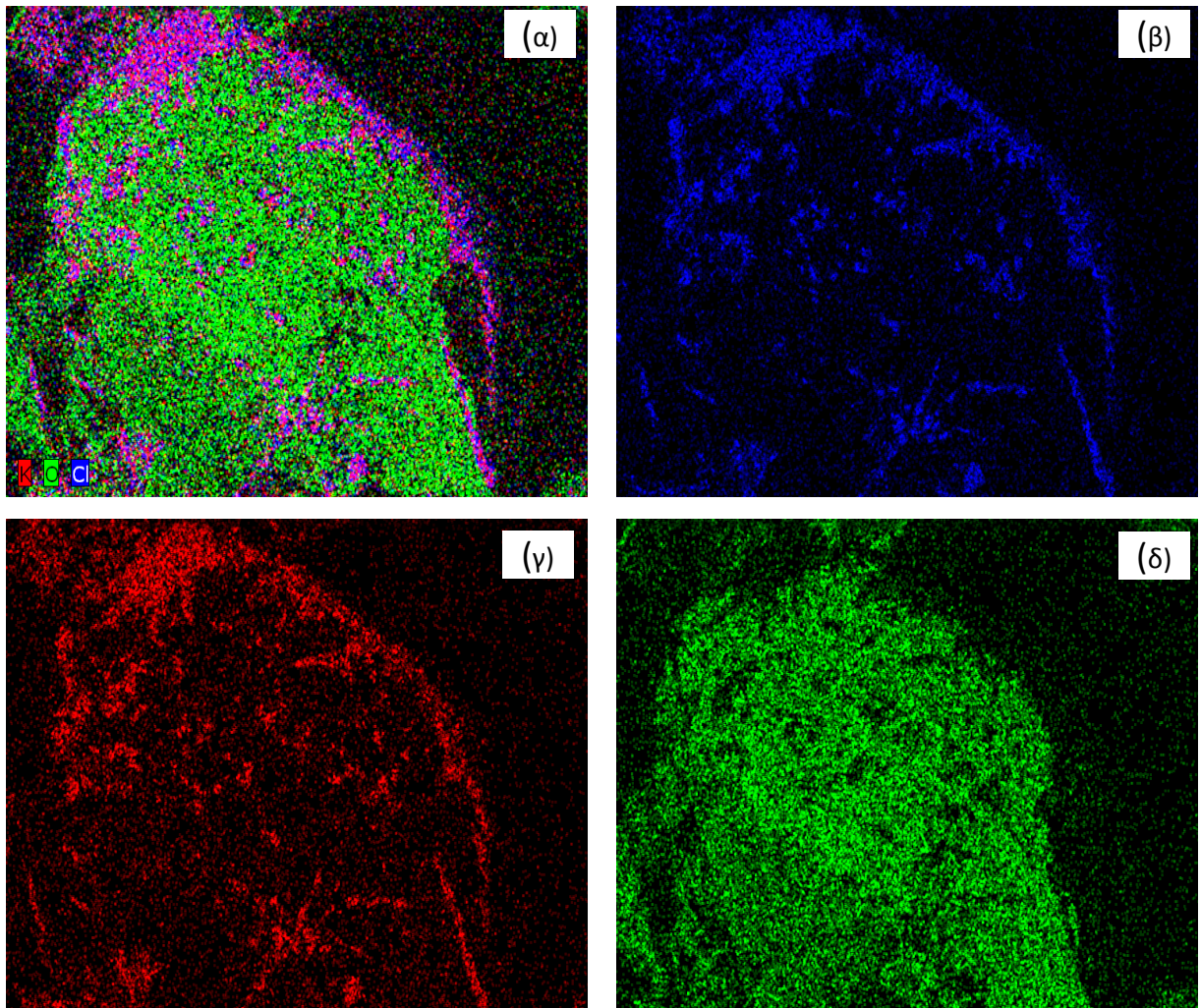
Σχήμα 4.5 Μικροφωτογραφίες συμπλόκων αμυλόζης-μυριστικού οξέος (α1, α2 & α3), συμπλόκων αμυλόζης-παλμιτικού οξέος (β1, β2 & β3) & συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος (γ1, γ2 & γ3) που παρασκευάστηκαν στους 30°C. Τα σύμπλοκα δεν ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό πριν την ξήρανσή τους.

και το οξυγόνο (4.7.δ, πράσινη περιοχή). Επίσης, η χαρτογράφηση έδειξε ότι το KCl ήταν κατανομημένο σε όλη τη μάζα του δείγματος των συμπλόκων και όχι μόνο στα σημεία που υπήρχαν κρύσταλλοι.

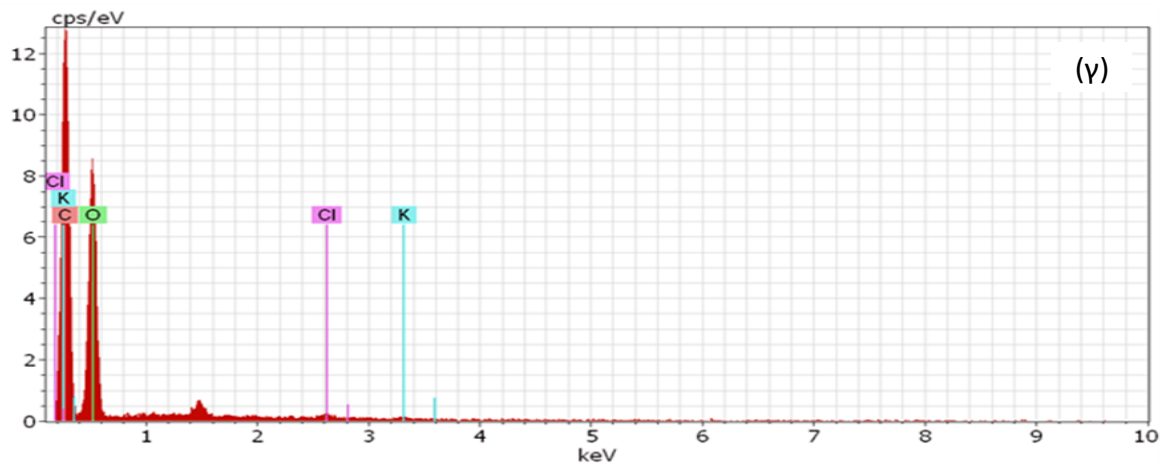
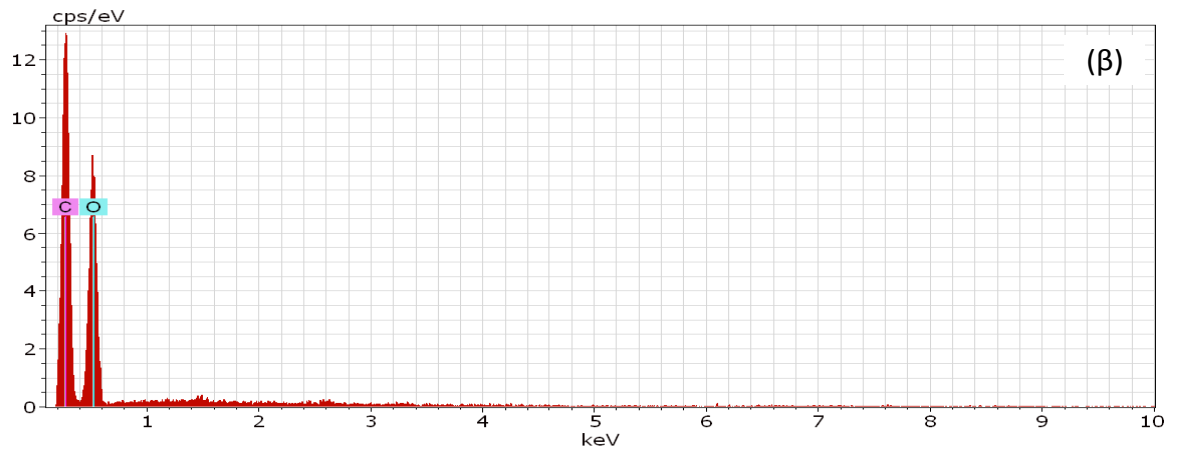
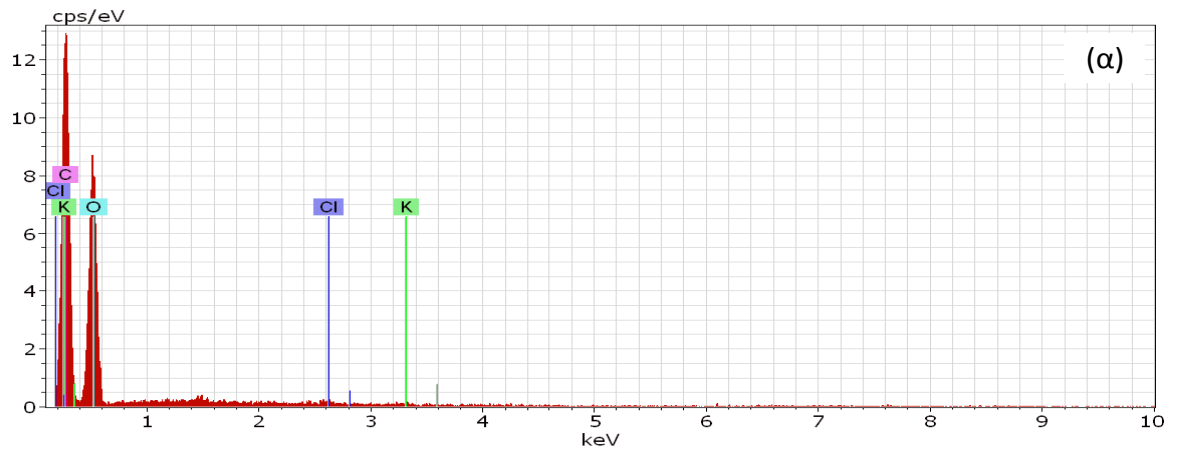
Στο Σχήμα 4.8 παρουσιάζεται η στοιχειακή μικροανάλυση των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων μετά την κατεργασία των συμπλόκων με νερό, όπου διαπιστώνεται μόνο η παρουσία του άνθρακα και του οξυγόνου στα σύμπλοκα. Με βάση τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι, η επιπρόσθετη κορυφή στη τιμή  $2\theta=28,2^\circ$  στα φάσματα ακτίνων X των συμπλόκων οφείλεται σε περίσσεια KCl που παρέμεινε μετά τη ξήρανση των συμπλόκων. Ως συνέπεια αυτού, η κατεργασία των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων με νερό (τουλάχιστον δύο φορές) κρίνεται επιβεβλημένη για την παραλαβή συμπλόκων απαλλαγμένων από υπολείμματα KCl.



Σχήμα 4.6 Στοιχειακή ανάλυση με φασματοσκοπία EDS (α) συμπλόκων αμυλόζης με (α) μυριστικό οξύ, (β) παλμιτικό οξύ & (γ) στεατικό οξύ παρουσία χλωριούχου καλίου. Τα σύμπλοκα δεν ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό πριν την ξήρανσή τους.



Σχήμα 4.7 Χαρτογράφηση κατανομής των στοιχείων (α) καλίου-οξυγόνου-χλωρίου, (β) χλωρίου, (γ) καλίου & (δ) οξυγόνου στην επιφάνεια των συμπλόκων. Τα σύμπλοκα δεν ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό πριν την ξήρανσή τους.



Σχήμα 4.8 Στοιχειακή ανάλυση με φασματοσκοπία EDS συμπλόκων αμυλόζης με (α) μυριστικό οξύ, (β) παλμιτικό οξύ & (γ) στεατικό οξύ μετά από κατεργασία δύο φορές με νερό.

#### 4.1. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΜΥΛΟΖΗΣ

##### 4.1.1 Σύσταση και φυσικές ιδιότητες των αμύλων και της αμυλόζης

Οι περιεκτικότητες σε υγρασία και πρωτεΐνη των αμύλων (αρακά, φυσικού καλαμποκιού, ταπιόκας, καλαμποκιού-Hylon VII) και της αμυλόζης που εξάχθηκε από άμυλο αρακά παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 4.1. Η περιεκτικότητά σε πρωτεΐνη των αμύλων ήταν μικρότερη από 0,6% ενώ στην περίπτωση της αμυλόζης ήταν μικρότερη από 0,1%. Σύμφωνα με τους Tester & Sommersville (2000), η περιεκτικότητά των αμύλων σε πρωτεΐνη αποτελεί ένδειξη της καθαρότητάς τους. Η περιεκτικότητά σε υγρασία της αμυλόζης ήταν 8,6% ενώ των αμύλων κυμάνθηκε μεταξύ 8,0 και 12,1%.

Πίνακας 4.1 Σύσταση αμύλων (αρακά, φυσικού καλαμποκιού, ταπιόκας, Hylon VII) και αμυλόζης

Είδος αμύλου	Υγρασία (%)	Πρωτεΐνη (%)	Ελεύθερη αμυλόζη (%)	Ολική αμυλόζη (%)
Αρακά	8,6(±0,2)	0,09(±0,01)	36,0(±0,5)	36,0(±0,8)
Καλαμποκιού	11,5(±0,2)	0,25(±0,02)	21,5(±0,6)	26,0(±0,3)
Προζελατινοποιημένο άμυλο	8,0(±0,2)			
Ταπιόκας	12,1(±0,1)	0,12(±0,05)	17,0(±0,5)	19,0(±0,3)
Hylon VII	11,0(±0,3)	0,50(±0,01)	56,0(±0,5)	68,1(±0,6)
Αμυλόζη	8,6(±0,1)	0,09(±0,01)	95,0(±0,1)	

Οι τιμές αποτελούν μέσους όρους (±S.D.) τριών επαναλήψεων

Η περιεκτικότητά των αμύλων σε ελεύθερη αμυλόζη (μη συμπλεγμένη με ενδογενή λιπίδια) δηλαδή αμυλόζη που είναι διαθέσιμη στο να αντιδράσει με τα λιπαρά οξέα που προστέθηκαν για να δημιουργήσουν σύμπλοκα, για το φυσικό άμυλο καλαμποκιού ήταν 21,5%, για το άμυλο αρακά 36,0%, για το άμυλο ταπιόκας 17,0% και για το Hylon VII 56,0%. Η περιεκτικότητά των αμύλων σε ολική αμυλόζη (ελεύθερη και συμπλεγμένη αμυλόζη) για το φυσικό άμυλο καλαμποκιού ήταν 26,0% για το άμυλο αρακά 36,0%, για το άμυλο ταπιόκας 19,0% και για το Hylon VII 68,1%. Οι παραπάνω τιμές είναι σε συμφωνία με τις αντίστοιχες τιμές των αμύλων που βρέθηκαν στη βιβλιογραφία (Raphaelides & Georgiadis, 2006, 2007 & 2008). Παρόμοια, οι Hasjim et al. (2009), αναφέρουν ότι το άμυλο καλαμποκιού έχει ~30% αμυλόζη, ενώ οι Hoover & Sosulski (1991)

αναφέρουν ότι τα άμυλα από ψυχανθή, όπως ο αρακάς, έχουν υψηλή περιεκτικότητά σε αμυλόζη (24-65%). Όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία, η περιεκτικότητά σε αμυλόζη στον αρακά κυμαίνεται γύρω στο 20% (Nielsen & Gleason, 1945), 36% (Kooistra, 1962; Biliaderis et al, 1979), 38% (Kellenberger et al., 1951) και στο 35% (Schneider, 1951).

Η καθαρότητα της αμυλόζης που προσδιορίστηκε με τη μέθοδο των Morrison & Laignelet (1983) ήταν 95%, ενώ το μοριακό βάρος της ήταν  $2.7 \times 10^5$ , το οποίο είναι σε συμφωνία με αντίστοιχες τιμές που βρέθηκαν στη βιβλιογραφία (Hizukuri, 1986).

Στον Πίνακα 4.2 παρουσιάζονται οι θερμοκρασίες ζελατινοποίησης των αμύλων που προσδιορίστηκαν με την τεχνική της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC, Differential Scanning Calorimetry). Όπως παρατηρείται στον Πίνακα 4.2, η θερμοκρασία ζελατινοποίησης του αμύλου από αρακά ήταν  $68,3^{\circ}\text{C}$  που είναι σε συμφωνία με τις τιμές που βρέθηκαν από τους Ratnayke et al. (2001), Biliaderis et al. (1980) και Davydova et al. (1995), ενώ οι θερμοκρασίες ζελατινοποίησης των αμύλων καλαμποκιού και της ταπιόκας ήταν  $72,7^{\circ}\text{C}$  και  $65,1^{\circ}\text{C}$  αντίστοιχα, που είναι παρόμοιες με τις τιμές που αναφέρονται από τους, Ng et al. (1997), Seetharaman et al. (2001) και Tulyathan et al. (2006).

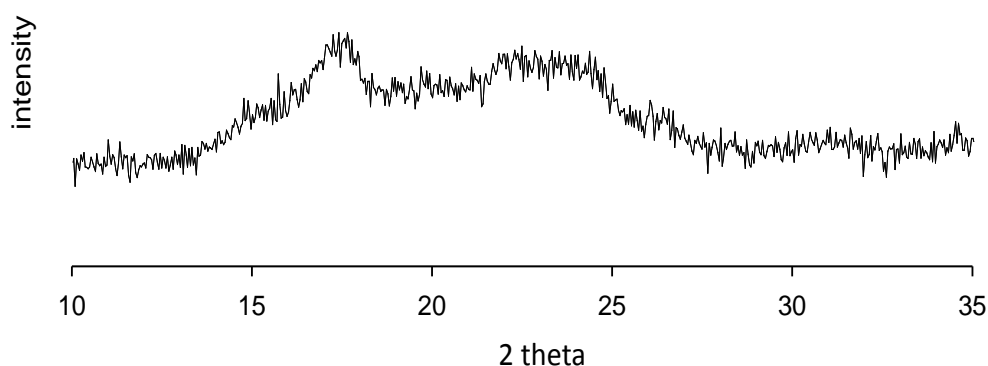
Πίνακας 4.2 Θερμοκρασίες ζελατινοποίησης αμύλων (αρακά, φυσικού καλαμποκιού, ταπιόκας, Hylon VII)

Άμυλο	Θερμοκρασία έναρξης ζελατινοποίησης ( $^{\circ}\text{C}$ )	Θερμοκρασία ζελατινοποίησης ( $^{\circ}\text{C}$ )	Θερμοκρασία περάτωσης ζελατινοποίησης ( $^{\circ}\text{C}$ )
Αρακά	66,2	68,3	74,0
Καλαμποκιού	67,5	72,0	78,0
Ταπιόκας	63,0	65,1	71,4
Καλαμποκιού-Hylon VII	68,2	74,5	82,6

#### 4.2. ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΔΟΜΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΠΕΡΙΘΛΑΣΗΣ ΑΚΤΙΝΩΝ Χ (XRD)

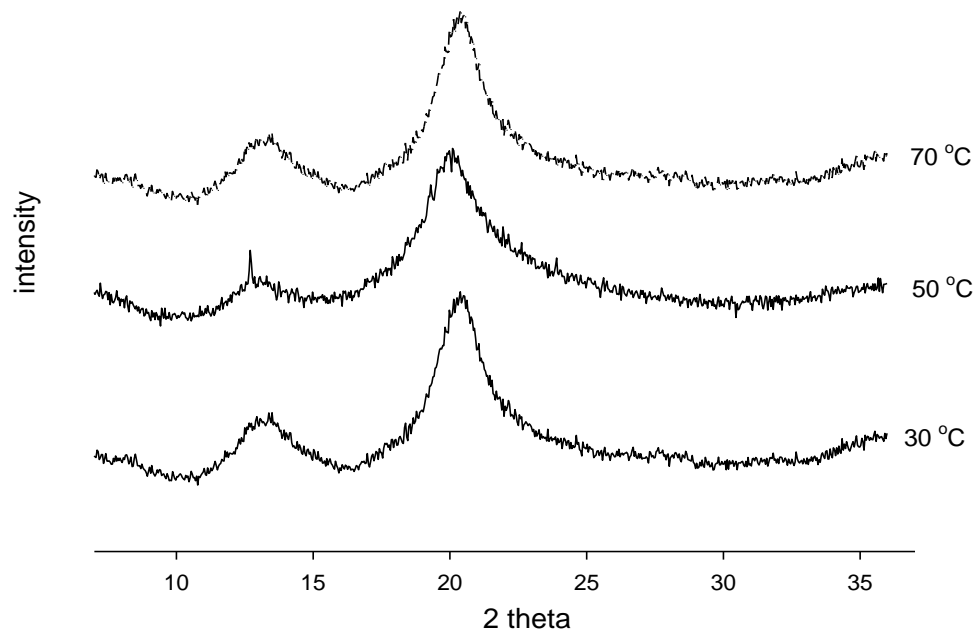
#### 4.2.1. Δομικά χαρακτηριστικά συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων

Στο Σχήμα 4.9 απεικονίζεται το φάσμα περίθλασης ακτίνων X της αμυλόζης, ενώ στα Σχήματα 4.10 - 4.14 παρουσιάζονται τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X των συμπλόκων αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό και συζευγμένο λινελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όλα τα σύμπλοκα αμυλόζης-λιπαρών οξέων εμφάνισαν τη V-δομή της συμπλεγμένης αμυλόζης, με τις χαρακτηριστικές κορυφές στις τιμές  $2\theta=13,2^\circ$  και  $19,8^\circ$  (Biais et al., 2006; Godet et al., 1995a; Godet et al., 1993; Jouquand et al., 2006; Lalush et al., 2005; Le Bail et al., 2005).

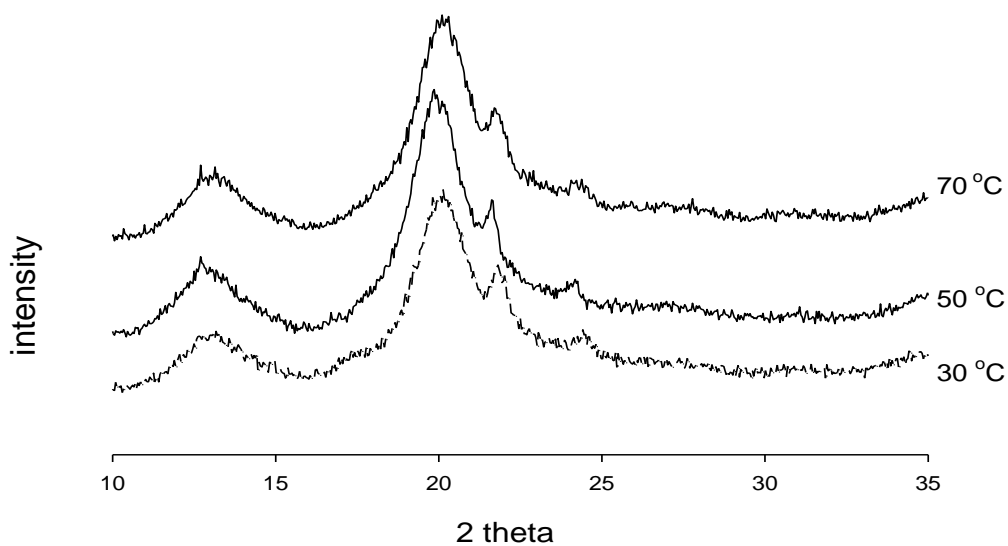


Σχήμα 4.9 Φάσμα περίθλασης ακτίνων X αναδιαταγμένης (κρυσταλλικής) αμυλόζης

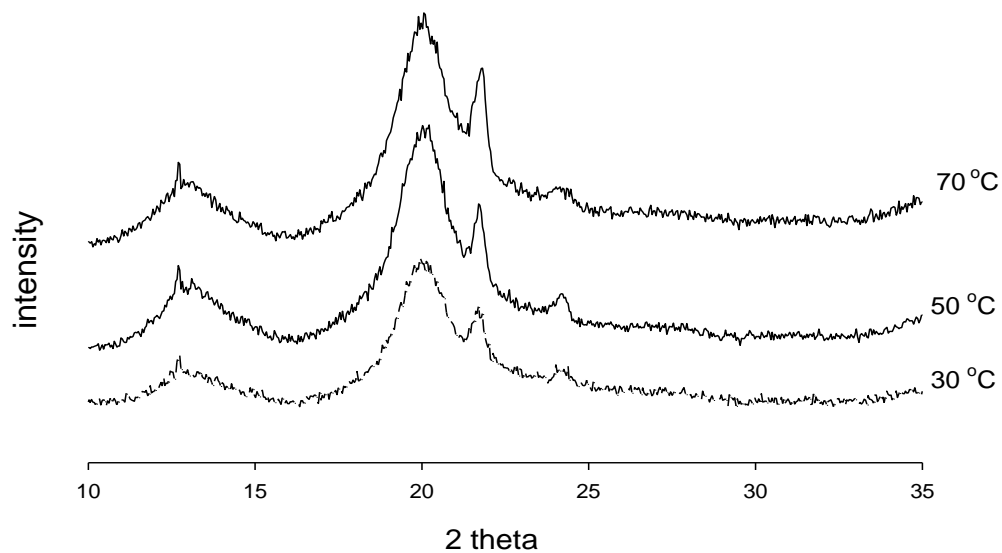




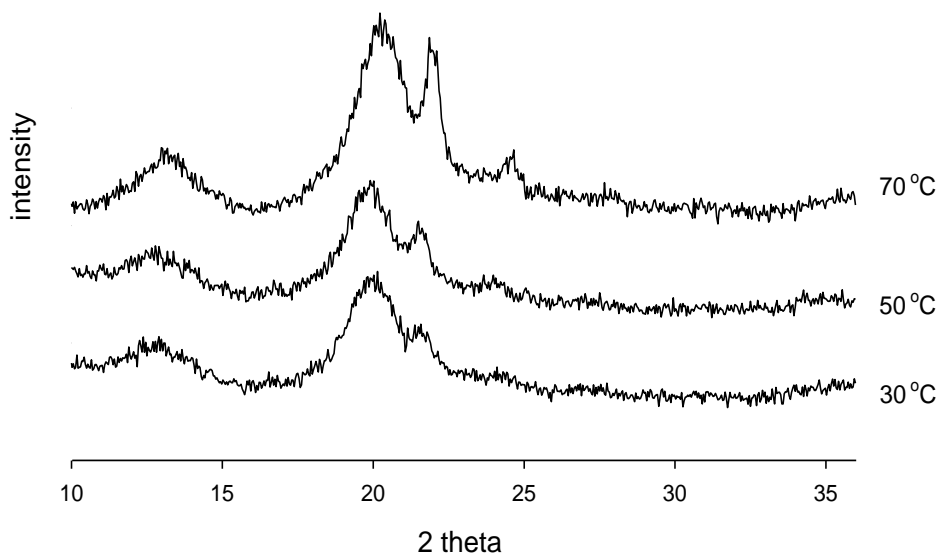
Σχήμα 4.10 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμυλόζης–δεκανοϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.



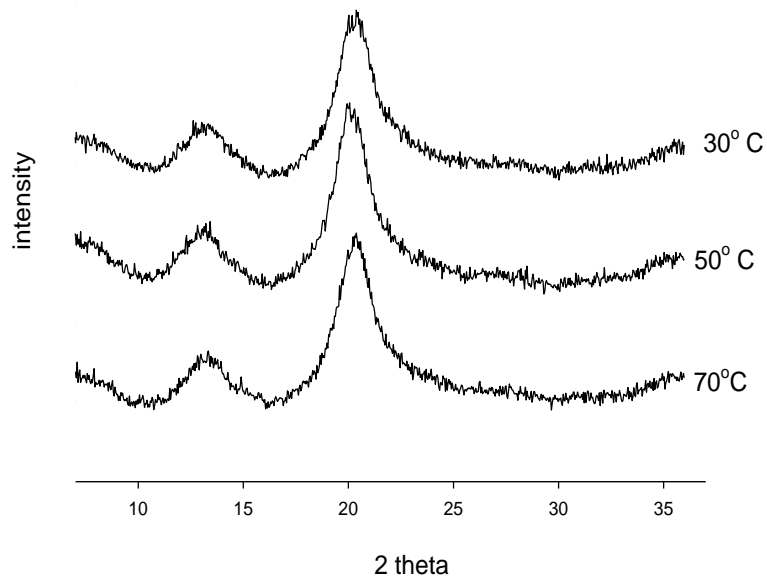
Σχήμα 4.11 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμυλόζης–μυριστικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.10 κατά την παρασκευή τους.



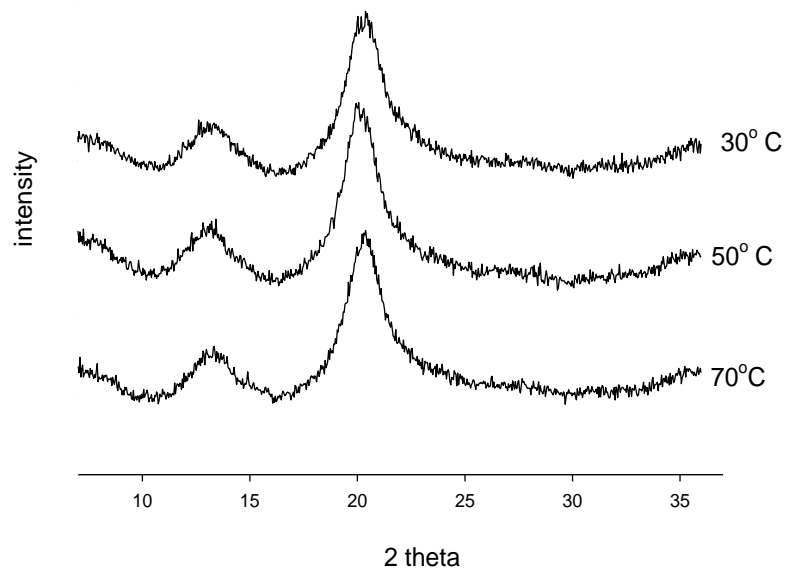
Σχήμα 4.12 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμυλόζης-παλμιτικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.10 κατά την παρασκευή τους.



Σχήμα 4.13 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.10 κατά την παρασκευή τους.



Σχήμα 4.14 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμυλόζης–ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.10 κατά την παρασκευή τους.



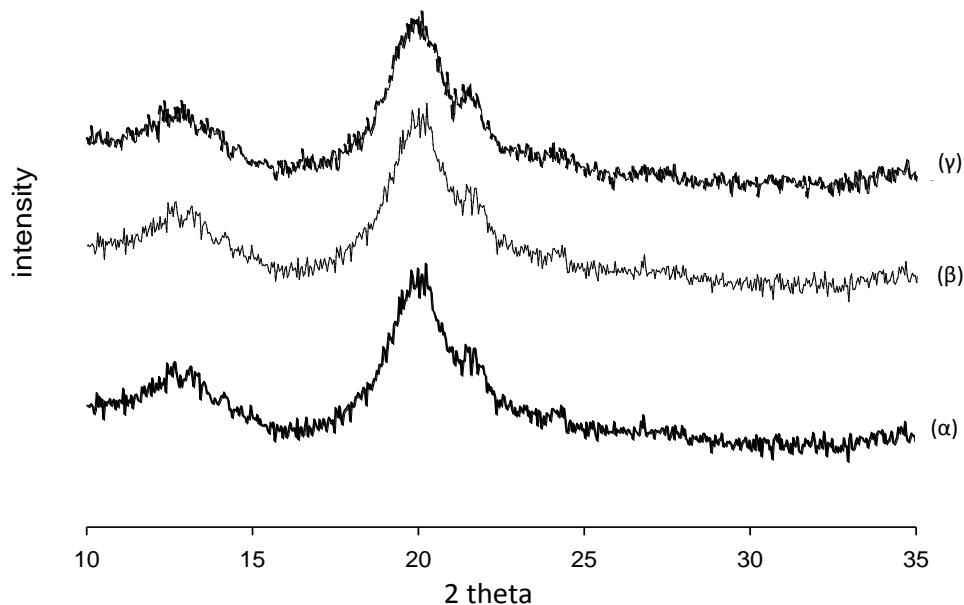
Σχήμα 4.15 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμυλόζης–λινελαϊκού οξέος (CLA) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.10 κατά την παρασκευή τους.

Σύμφωνα με τους Biliaderis & Galloway (1989), Biliaderis & Seneviratne (1990), Karkalas et al. (1995), τα σύμπλοκα αμυλόζης-λιπαρών οξέων που σχηματίζονται σε θερμοκρασίες  $\leq 60^{\circ}\text{C}$  είναι άμορφα (τύπου I), ενώ αντίθετα οι Karkalas et al. (1995) αναφέρουν ότι σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από  $90^{\circ}\text{C}$  τα σύμπλοκα που σχηματίζονται είναι ημικρυσταλλικά (τύπος II)

Ωστόσο, παρατηρώντας τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C, διαπιστώνεται ότι όλα τα σύμπλοκα εμφάνισαν την ημικρυσταλλική δομή την επονομαζόμενη «τύπου II», ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία παρασκευής τους. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με τους Lalush et al. (2005), Zabar et al. (2009) και Zabar et al. (2010) οι οποίοι παρατήρησαν τον σχηματισμό ημικρυσταλλικών συμπλόκων (τύπος II) ακόμα και όταν τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.

Με βάση τα παραπάνω, συμπεραίνεται ότι ημικρυσταλλικά σύμπλοκα μπορούν να σχηματισθούν και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και όχι απαραίτητα σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 60°C.

Στα φάσματα περίθλασης ακτίνων X των συμπλόκων αμυλόζης με μυριστικό, παλμιτικό και στεατικό οξύ (Σχήματα 4.11, 4.12 & 4.13) διακρίνονται δύο επιπλέον κορυφές στις τιμές  $2\theta=21,7^\circ$  και  $23,8^\circ$ . Σύμφωνα με τους Fanta et al. (1999), οι κορυφές αυτές ανήκουν σε κρυστάλλους ελεύθερων λιπαρών οξέων. Οι Fanta et al. (1999), μελέτησαν την παραγωγή συμπλόκων αμύλου υψηλής περιεκτικότητάς σε αμυλόζη με λιπαρά οξέα (λαυρικό, μυριστικό, παλμιτικό ή στεατικό οξύ) χρησιμοποιώντας ως θερμαντικό μέσο έγχυση ζωντανού ατμού (140°C) στο αιώρημα αμύλου-λιπαρών οξέων και σε συνθήκες έντονης διάτμησης (Steam Jet Cooking) και ανέφεραν ότι τα μεγάου μήκους αλυσίδας λιπαρά οξέα, λόγω μεγάλης υδροφοβικότητας και μεγάλης διαλυτότητας δεν εγκλείονται στο εσωτερικό της έλικας της αμυλόζης και παραμένουν στο εξωτερικό κάτι το οποίο όμως δεν ισχύει καθώς, όπως αποδείχθηκε από τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X, στη παρούσα μελέτη, όλα τα λιπαρά οξέα ανεξαρτήτως μήκους αλυσίδας συμπλοκοποιήθηκαν αποτελεσματικά με την αμυλόζη. Όπως περιγράφεται στην μέθοδο παρασκευής των συμπλόκων που εφάρμοσαν οι Fanta et al. (1999), τα λιπαρά οξέα διασπάρθηκαν σε νερό, επομένως λόγω αναποτελεσματικής διαλυτοποίησής τους δεν ήταν διαθέσιμα να αντιδράσουν με την αμυλόζη. Οι συγκεκριμένες κορυφές δεν παρατηρούνται στις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης με δεκανοϊκό, ελαϊκό και με CLA οξύ, καθώς το δεκανοϊκό οξύ, λόγω της μικρού μήκους αλυσίδας που διαθέτει, θεωρείται εξαιρετικά ευκίνητο, ενώ το ελαϊκό και το CLA οξύ είναι υγρά σε θερμοκρασία δωματίου, με αποτέλεσμα να απομακρύνονται εύκολα κατά την κατεργασία των συμπλόκων με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50). Στο Σχήμα 4.16 απεικονίζονται τα φάσματα περίθλασης ακτίνων-X των συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος μετά από μία έκπλυση με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) και μετά από δύο διαδοχικές εκπλύσεις με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50). Όπως παρατηρείται, το ελεύθερο στεατικό οξύ δεν απομακρύνθηκε μετά από τις δύο διαδοχικές εκπλύσεις με το διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50).



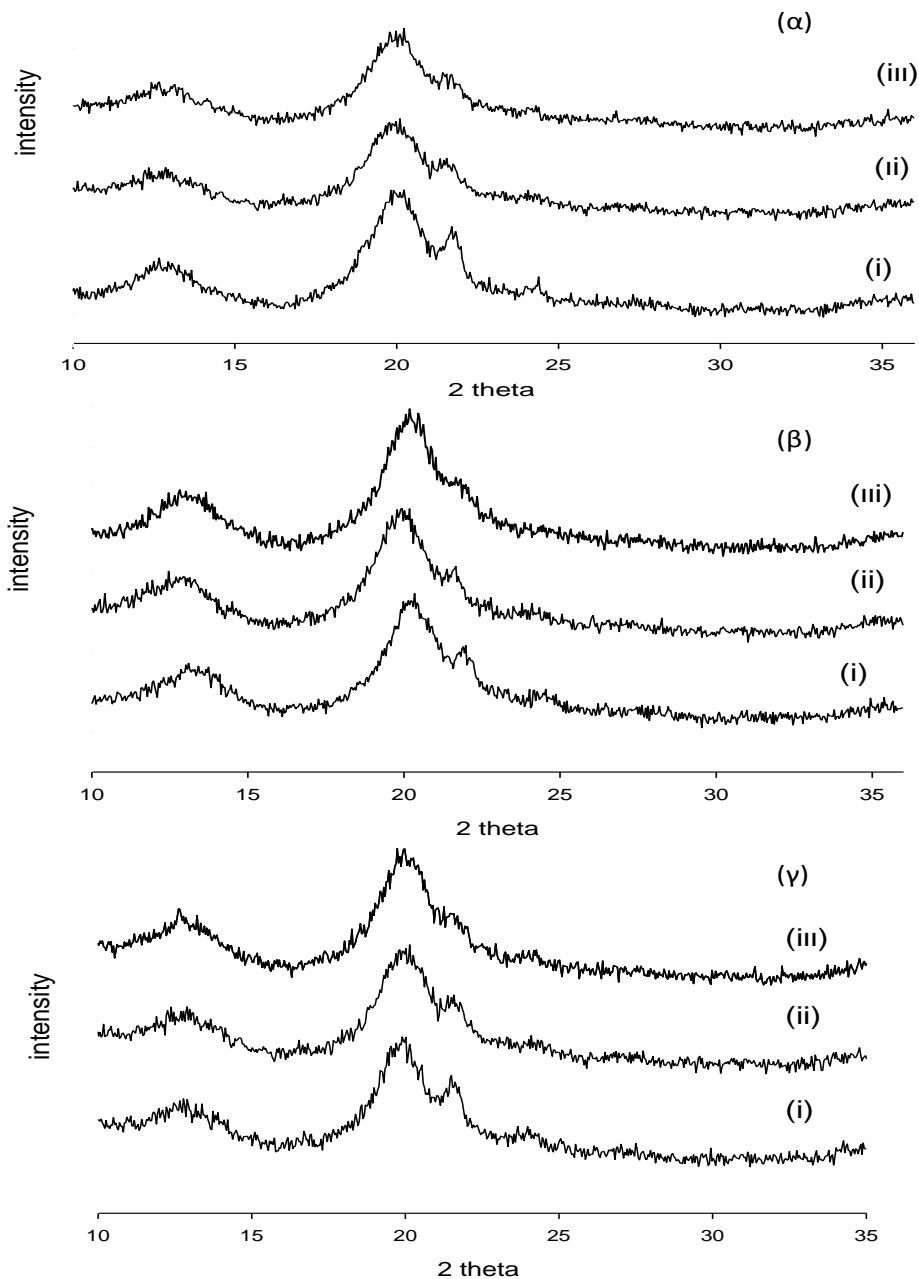
Σχήμα 4.16 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X (α) συμπλόκων αμυλόζης–στεατικού οξέος μετά από κατεργασία με νερό, (β) μετά από κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) και (γ) μετά από δύο κατεργασίες με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50). Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 50°C.

Λαμβάνοντας υπόψη ότι στα σύμπλοκα που υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) για την απομάκρυνση της περίσσειας των ελεύθερων λιπαρών οξέων, πιθανότατα, η συγκεκριμένη κορυφή δεν οφείλεται σε περίσσεια ελεύθερων λιπαρών οξέων, καθώς μια τέτοια επεξεργασία θα απομάκρυνε αποτελεσματικά τα ελεύθερα λιπαρά οξέα που βρίσκονται επάνω στην επιφάνεια των κρυστάλλων. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε αντίθεση με αυτά των Biais et al. (2006), οι οποίοι μελέτησαν την παρασκευή συμπλόκων αμυλόζης-δεκανοϊκού οξέος και συμπλόκων αμυλόζης-εξανοϊκού οξέος. Οι ερευνητές αυτοί παρατήρησαν ότι μια παρόμοια επεξεργασία απομάκρυνε αποτελεσματικά το ελεύθερο δεκανοϊκό και εξανοϊκό οξύ. Πιθανότατα, στη περίπτωση αυτή με δεδομένο ότι τα δύο αυτά οξέα είναι περισσότερο ευδιάλυτα από τα οξέα που χρησιμοποιήθηκαν στη παρούσα εργασία, και επιπλέον πιο ευκίνητα το αποτέλεσμα είναι να απομακρύνονται πιο εύκολα από την επιφάνεια των κρυστάλλων των συμπλόκων. Παρόμοια, οι Lalush et al. (2005) μελέτησαν τη συμπλοκοποίηση της αμυλόζης με συζευγμένο λινελαϊκό οξύ και παρατήρησαν στα φάσματα περίθλασης ακτίνων X την κορυφή αυτή στην τιμή  $2\theta=22^\circ$ . Οι ερευνητές ανέφεραν ότι καθώς το λινελαϊκό οξύ είναι υγρό σε θερμοκρασία δωματίου, η κορυφή αυτή δεν μπορεί να οφείλεται σε περίσσεια ελεύθερου λιπαρού οξέος. Σύμφωνα με τους Polaczek et al. (2000), πιθανότατα η κορυφή αυτή ανήκει σε μια άλλη μορφή των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρού οξέος. Επομένως, με βάση τα παραπάνω, προκύπτει ότι η συγκεκριμένη κορυφή δεν μπορεί

να οφείλεται σε μόρια ελεύθερων λιπαρών οξέων καθώς μια απλή κατεργασία των συμπλόκων με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν τη ξήρανσή τους θα απομάκρυνε αποτελεσματικά την περίσσεια των λιπαρών οξέων. Αντ' αυτού, παρατηρώντας το Σχήμα 4.16 διαπιστώνεται η ύπαρξη της κορυφής και μάλιστα η ένταση της παραμένει ίδια και στις τρεις περιπτώσεις.

Προκειμένου να εξακριβωθεί η φύση της κορυφής στις τιμές  $2\theta=21,7^\circ$  και  $23,8^\circ$  και να διερευνηθεί η δυνατότητα απομάκρυνσης των ελεύθερων λιπαρών οξέων με διάφορους διαλύτες, οι Lesmes et al. (2009) εφάρμοσαν διαφορετικούς χρόνους διαλυτοποίησής του στεατικού οξέος πριν τη συμπλοκοποίησή του με την αμυλόζη. Συγκεκριμένα, οι ερευνητές διαλυτοποίησαν το στεατικό οξύ πριν την διεργασία της συμπλοκοποίησης για 10 s, 5min, 15min και 30min και παρατήρησαν ότι αυξάνοντας το χρόνο διαλυτοποίησής του λιπαρού οξέος, η ένταση των κορυφών στις τιμές  $2\theta=21,7^\circ$  και  $23,8^\circ$  μειώθηκε. Θεωρώντας ότι, τα μεγάλο μήκους αλυσίδας λιπαρά οξέα μπορεί να αυτο-συνδέονται (οργανώνονται) σχηματίζοντας μικύλλια και άλλες μεσομορφές (Kanicky & Shah, 2002), οι Lesmes et al. (2009), απέδωσαν αυτή τη συμπεριφορά στις διαφορετικές μορφές που σχηματίζει το στεατικό οξύ κατά τη διαλυτοποίησή του, με αποτέλεσμα τη νανοενθυλάκωση των κρυστάλλων του σε μορφές διαφορετικές από εκείνη του μοριακού εγκλεισμού στις έλικες της αμυλόζης.

Με σκοπό να διερευνηθεί εάν οι ισχυρισμοί των Lesmes et al. (2009), αναφορικά με τη τύχη των μορίων του ελεύθερου στεατικού οξέος που προκύπτουν μετά τη συμπλοκοποίηση έχουν βάση, πραγματοποιήθηκαν τα εξής πειράματα: Πριν την περιγραφείσα (Ενότητα 3.2.6) διεργασία της συμπλοκοποίησης της αμυλόζης, το στεατικό οξύ διαλυτοποιήθηκε στο διάλυμα καυστικού καλίου για 5, 15 ή 30min (Σχήμα 4.17).



Σχήμα 4.17 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους (α) 30, (β) 50 ή (γ) 70°C. Το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5(i), 15 (ii) ή 30 (iii) min. Τα συμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους. Στα φάσματα περίθλασης ακτίνων X των συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος παρατηρήθηκε, πράγματι, μείωση της έντασης των κορυφών στις τιμές  $2\theta=21,7^\circ$  και  $23,8^\circ$  με αύξηση του χρόνου διαλυτοποίησής του στεατικού οξέος. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με αυτά των Lesmes et al. (2009) και αποτελούν ισχυρή ένδειξη ότι όσο αυξάνεται ο χρόνος διαλυτοποίησής του λιπαρού οξέος, το λιπαρό οξύ μετασχηματίζεται σε άλλη μορφή (π.χ. μικύλλια) που έχει ως αποτέλεσμα το στεατικό οξύ το οποίο δεν εγκλείεται μοριακά στην έλικα της αμυλόζης, το πιθανότερο είναι να

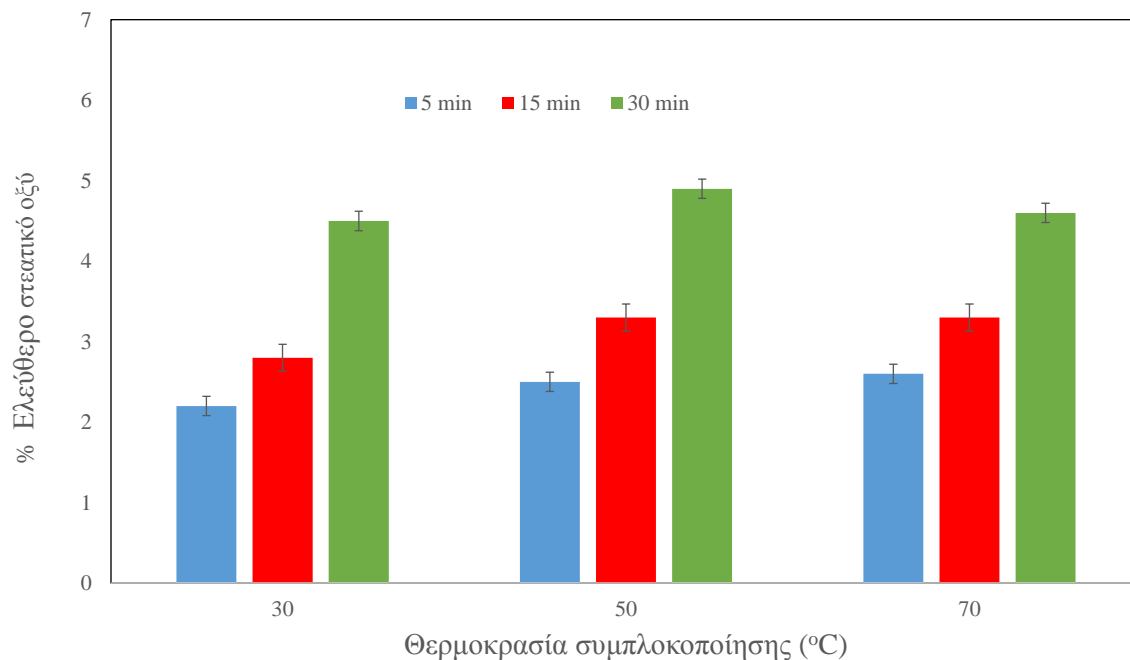
μεταναστεύει την υγρή φάση και πολύ λιγότερο να παγιδεύεται μηχανικά μεταξύ των ελίκων της. Συγκεκριμένα, κατά την εξουδετέρωση σε pH 4,6 το λιπαρό οξύ γίνεται αδιάλυτο και ένα μέρος όπως προαναφέρθηκε, λόγω χαμηλότερης πυκνότητας, ανεβαίνει στην ελεύθερη επιφάνεια όπου σχηματίζει κρυστάλλους, ενώ το υπόλοιπο μέρος (υπό μορφή μικυλλίων ή άλλων μεσομορφών) κατά τη καθίζηση παγιδεύεται μηχανικά μεταξύ των ελίκων. Ωστόσο, κατά τη ξήρανσή του συμπλόκου, λόγω απομάκρυνσης του μεγαλύτερου ποσοστού υγρασίας του, τα μόρια των λιπαρών οξέων έρχονται κοντά, δημιουργούν συσσωματώματα και διατάσσονται σε πιο οργανωμένες δομές υπό μορφή κρυστάλλων.

Για να εξηγηθεί το φαινόμενο γιατί όσο αυξάνεται ο χρόνος διαλυτοποίησής του λιπαρού οξέος μειώνεται η κορυφή που αποδίδεται στη μηχανική παγίδευση των μορίων του στεατικού οξέος μεταξύ των ελίκων, πραγματοποιήθηκε η εξής διαδικασία: κατά την παρασκευή των συμπλόκων αμυλόζης με στεατικό οξύ μετά το στάδιο της ανάμιξης των δύο διαλυμάτων (αμυλόζης-στεατικού οξέος) και ρύθμισης του pH στο 4,6, το υπερκείμενο υγρό απομακρύνθηκε, υπέστη κατεργασία με διαιθυλαιθέρα και αναλύθηκε με αέρια χρωματογραφία. Με δεδομένο ότι σε αυτή τη τιμή pH, το μη συμπλεγμένο στεατικό οξύ λόγω υδρόλυσης είναι πλέον αδιάλυτο, ένα μέρος του στεατικού οξέος (σε μορφή μικυλλίων, διμερών ή άλλων μεσομορφών) μπορεί να παγιδεύεται μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης ενώ το υπόλοιπο, και κατά πάσα πιθανότητα το περισσότερο, παραμένει στην επιφάνεια του διαλύματος υπό μορφή κρυστάλλων.

Στο Σχήμα 4.18 παρουσιάζεται το ποσοστό των ελεύθερων λιπαρών οξέων υπό μορφή κρυστάλλων που δεν παγιδεύτηκαν μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι όσο μεγαλύτερος ήταν ο χρόνος διαλυτοποίησής του λιπαρού οξέος πριν τη συμπλοκοποίηση τόσο μεγαλύτερη ήταν η ποσότητα του στεατικού οξέος που παρέμεινε στην υγρή φάση και δεν παγιδεύτηκε μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης.

Επομένως, η παρατεταμένη διαλυτοποίησή του στεατικού οξέος έχει ως αποτέλεσμα το στεατικό οξύ να οργανώνεται σε άλλες μεσοφάσεις (π.χ. μικύλλια, διμερή) που προφανώς καθιστούν το λιπαρό οξύ μη διαθέσιμο για να συμπλοκοποιηθεί με την αμυλόζη.

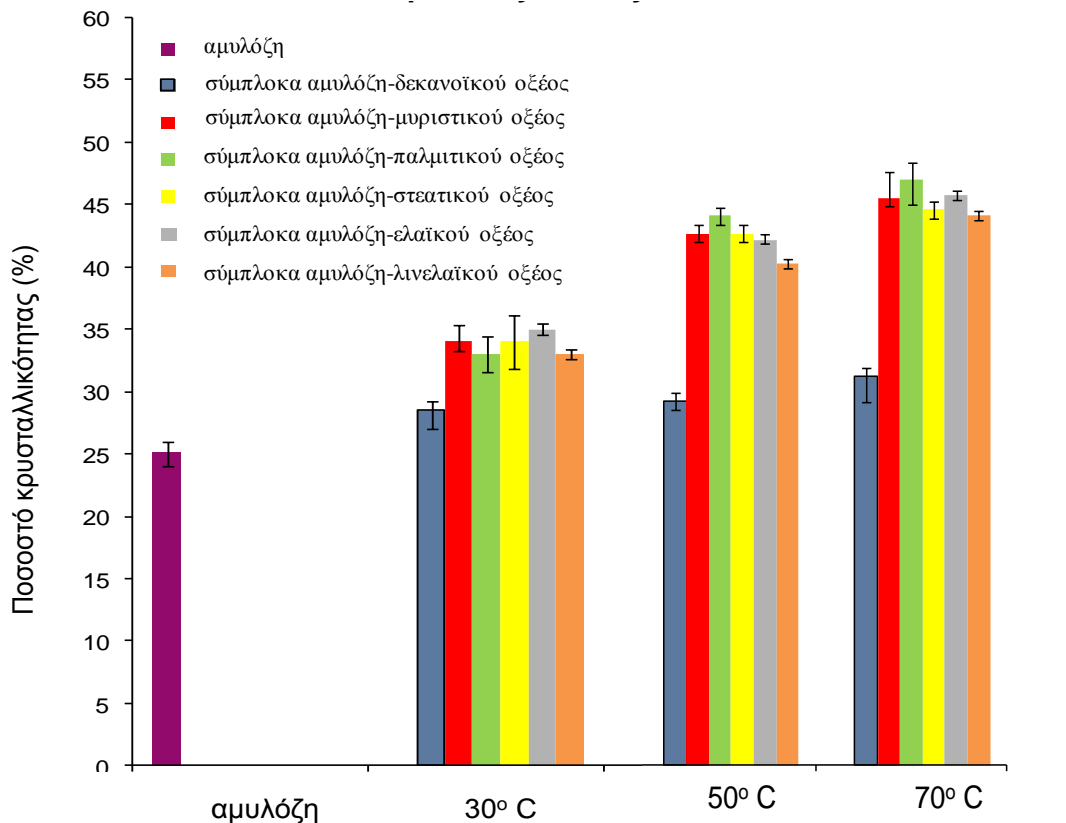




Σχήμα 4.18 Ποσοστό (%) ελεύθερου στεατικού οξέος που παρέμεινε στην επιφάνεια του διαλύματος (υγρή φάση) και δεν παγιδεύτηκε μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης κατά τη συμπλοκοποίηση. Το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5, 15 ή 30 min. Η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων ήταν 30, 50 ή 70° C.

Στο Σχήμα 4.19 παρουσιάζεται ο βαθμός κρυσταλλικότητάς (%) των συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό και συζευγμένο λινελαϊκό οξύ. Παρατηρώντας το Σχήμα 4.19, συμπεραίνεται ότι όλα τα σύμπλοκα ήταν περισσότερο κρυσταλλικά από την αμυλόζη και η κρυσταλλικότητά των συμπλόκων αυξήθηκε με αύξηση της θερμοκρασίας παρασκευής τους.

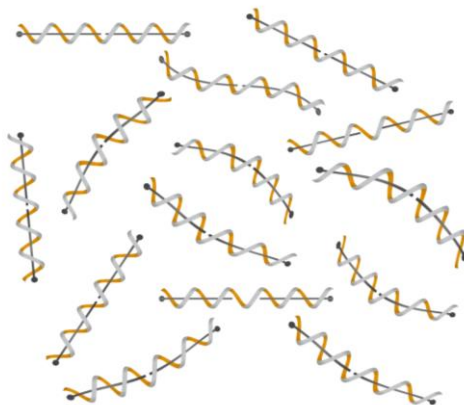
Όπως είναι γνωστό, η αμυλόζη σε στερεή κατάσταση κρυσταλλώνεται με τη μορφή της διπλής αριστερόστροφης έλικας (Belitz et al, 2007) ενώ σε κατάσταση διαλύματος (Banks & Greenwood, 1971) έχει τη διαμόρφωση του περιδινούμενου κουβαριού (random coil) και σε αλκαλικό περιβάλλον τα υδροξυλίου των δομικών μονάδων άνυδρης γλυκόζης που την αποτελούν, ιονίζονται, και η διαμόρφωση του μορίου της αμυλόζης αποκτά αυτή του διογκωμένου κουβαριού (expanded random coil) με αποτέλεσμα ο υδροδυναμικός όγκος των μορίων της αμυλόζης να αυξάνεται λόγω ηλεκτροστατικών απώσεων που προκαλούνται από τις ιονισμένες ομάδες υδροξυλίου. Μετά την εξουδετέρωση, τα μόρια της αμυλόζης γίνονται αδιάλυτα στο νερό και η διαμόρφωση της διπλής έλικας γίνεται με πολύ αργούς ρυθμούς, με αποτέλεσμα η αναδιατεταγμένη αμυλόζη να παρουσιάζει χαμηλό βαθμό κρυσταλλικότητάς. Παρουσία λιπαρών οξέων, η έλικα της αμυλόζης παίρνει τη διαμόρφωση μονής αριστερόστροφης έλικας, η οποία εξακολουθεί να παραμένει στο



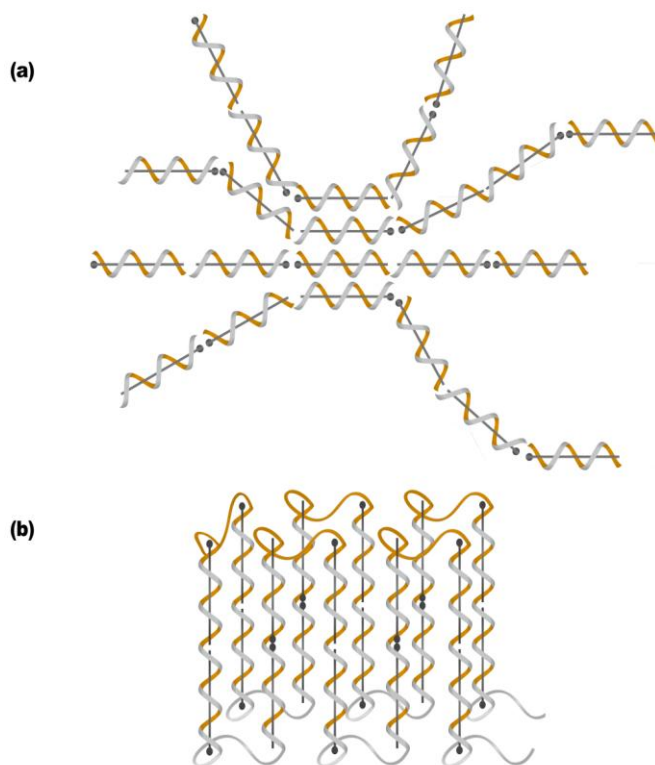
Σχήμα 4.19 Ποσοστό κρυσταλλικότητας (%) της αμυλόζης και των συμπλόκων αμυλόζης–λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό & λινελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρασή τους.

αλκαλικό διάλυμα (Banks & Greenwood, 1971; Karkalas & Raphaelides, 1986), και η οποία διατηρείται κατά τη διάρκεια της εξουδετέρωσης και την επακόλουθη καταβύθιση. Σύμφωνα με τους Carlson et al. (1979) και Godet et al. (1993), η έλικα της αμυλόζης είναι υδρόφοβη εσωτερικά και τα μόρια του λιπαρού οξέος οργανώνονται στο εσωτερικό της ελικοειδούς κοιλότητας ως μονομερή (κεφάλι με κεφάλι και ουρά με ουρά), ενώ οι καρβοξυλικές ομάδες των λιπαρών οξέων, λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης, παραμένουν εκτός της έλικας. Επιπλέον, τα υδροξύλια των δομικών μονάδων άνυδρης γλυκόζης που την αποτελούν βρίσκονται προς τα έξω. Δεδομένου ότι ο σχηματισμός των συμπλόκων και η εξουδετέρωση συνέβησαν σε μια καθορισμένη θερμοκρασία, δηλαδή 30, 50 ή 70°C και σε pH 4,6, οι ομάδες υδροξυλίου ιδιαίτερα εκείνων που συνδέονται μέσω ενδομοριακών ή ακόμη και μέσω διαμοριακών δεσμών υδρογόνου, ενώνονται και σχηματίζουν είτε έλικες αμυλόζης που είναι τυχαία προσανατολισμένες στο χώρο (άμορφη δομή) (Σχήμα 4.20) είτε έλικες αμυλόζης που είναι διευθετημένες στο χώρο και σχηματίζουν διατεταγμένες δομές (αναδιπλωμένες λαμέλλες-folded lamellae), δηλ. κρυσταλλίτες, είτε τέλος έλικες αμυλόζης, όπου

ένα τμήμα τους είναι τυχαία διευθετημένο στο χώρο και το άλλο συμμετέχει στη δομή ενός κρυσταλλίτη (fringed micelles) (Σχήμα 4.21). Επιπλέον, η διαδικασία κρυστάλλωσης στην



Σχήμα 4.20 Σχηματική απεικόνιση συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων όπου οι έλικες της αμυλόζης είναι τυχαία προσανατολισμένες στο χώρο

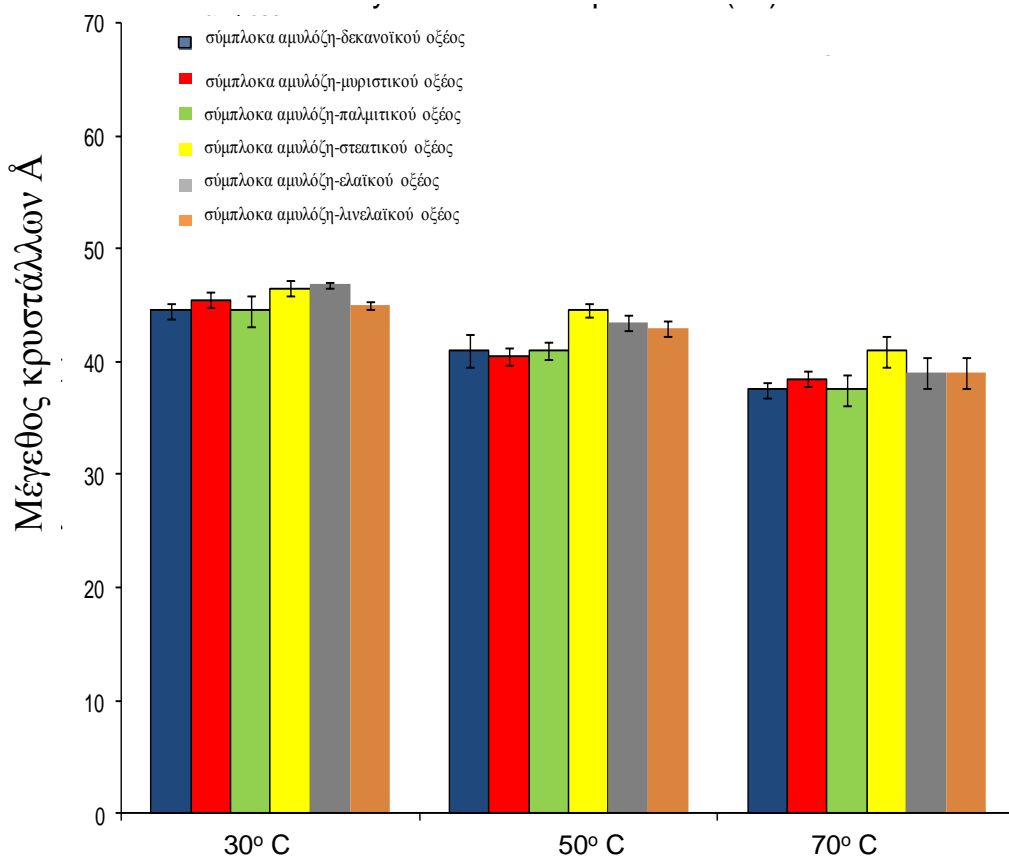


Σχήμα 4.21. Σχηματική απεικόνιση των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων όπου ένα τμήμα των ελίκων της αμυλόζης είναι τυχαία διευθετημένο στο χώρο και το άλλο συμμετέχει στη δομή ενός κρυσταλλίτη (fringed micelles) (a) και ελίκων αμυλόζης που είναι διευθετημένες στο χώρο και σχηματίζουν διατεταγμένες δομές (αναδιπλωμένες λαμέλλες -folded lamellae) δηλ. κρυσταλλίτες (b).

περίπτωση των συμπλόκων είναι ταχύτερη από εκείνη της αναδιεταγμένης αμυλόζης καθώς οι έλικες αμυλόζης είναι διατεταγμένες ευθύγραμμα και οργανώνονται πιο εύκολα σε λαμέλλες.

Επομένως, λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, αναμένεται ο βαθμός κρυσταλλικότητάς της αμυλόζης να είναι χαμηλότερος σε σχέση με το βαθμό κρυσταλλικότητάς των σχηματιζόμενων συμπλόκων. Παρόμοια, οι Godet et al. (1995a) παρασκεύασαν σύμπλοκα αμυλόζης-λιπαρών οξέων στους 60 ή 90°C, και παρατήρησαν ότι στους 90°C τα σύμπλοκα εμφάνισαν τη μέγιστη κρυσταλλικότητά. Πιθανότατα όσο αυξάνεται η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων, λόγω αυξημένης κινητικότητας τα σύμπλοκα έρχονται πιο κοντά και σχηματίζουν διατεταγμένες δομές με αποτέλεσμα να αυξάνεται η κρυσταλλικότητά τους. Επίσης, με βάση το Σχήμα 4.19, διαπιστώνεται ότι τα σύμπλοκα αμυλόζης με μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό και λινελαϊκό οξύ εμφάνισαν παρόμοιο βαθμό κρυσταλλικότητάς σε σχέση με τα σύμπλοκα με δεκανοϊκό οξύ που εμφάνισαν κατά πολύ μειωμένη κρυσταλλικότητά. Συγκεκριμένα, το δεκανοϊκό οξύ λόγω μικρού μήκους αλυσίδας όπως προαναφέρθηκε, θεωρείται εξαιρετικά ευκίνητο με αποτέλεσμα να μην συμπλοκοποιείται πλήρως με την αμυλόζη, σε σύγκριση με τα μεγαλύτερου μήκους αλυσίδας λιπαρά οξέα τα οποία από τη στιγμή που θα διαλυτοποιηθούν, υπό κατάλληλες συνθήκες, συμπλέκονται πλήρως με την αμυλόζη. Επιπλέον, όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.19, τα ακόρεστα λιπαρά οξέα συμπλοκοποιούνται πλήρως με τη αμυλόζη καθώς ο βαθμός κρυσταλλικότητάς είναι παρόμοιος με αυτόν του αντίστοιχου κορεσμένου λιπαρού οξέος (στεατικό οξύ) γεγονός που υποδεικνύει ότι ο βαθμός κρυσταλλικότητάς είναι ανεξάρτητος του βαθμού ακορεστότητας των λιπαρών οξέων.

Στο Σχήμα 4.22 παρουσιάζεται το μέγεθος των κρυστάλλων των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Παρατηρώντας το Σχήμα 4.22, διαπιστώνεται ότι το μέγεθος των κρυστάλλων είναι ανεξάρτητο του μήκους αλυσίδας και του βαθμού ακορεστότητας των λιπαρών οξέων. Συγκεκριμένα, τα σύμπλοκα αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα μεγάλου μήκους αλυσίδας (μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό, λινελαϊκό οξύ) εμφάνισαν παρόμοιο μέγεθος κρυστάλλων με τα σύμπλοκα αμυλόζης με το δεκανοϊκό οξύ που υποδεικνύει ότι, εφόσον τα λιπαρά οξέα συμπλοκοποιηθούν με την αμυλόζη, το μέγεθος των κρυστάλλων αναμένεται να είναι παρόμοιο. Ωστόσο, όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.22, το μέγεθος των κρυστάλλων των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων επηρεάζεται από τη θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων.



Σχήμα 4.22 Μέγεθος κρυστάλλων συμπλόκων αμιλόζης-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό & λινελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρασή τους.

Συγκεκριμένα, όσο αυξάνεται η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων, το μέγεθος των κρυστάλλων μειώνεται γεγονός που πιθανότατα οφείλεται στη μεγάλη διαφορά θερμοκρασίας μεταξύ της θερμοκρασίας κρυστάλλωσης (30, 50 ή 70°C) και της θερμοκρασίας περιβάλλοντος που εφαρμόζεται κατά την ξήρασή των συμπλόκων. Όσο μεγαλύτερη είναι η διαφορά μεταξύ της θερμοκρασίας δημιουργίας των συμπλόκων και της θερμοκρασίας δωματίου στην οποία ψύχθηκαν τα σύμπλοκα, ο ρυθμός δημιουργίας των πυρήνων των κρυστάλλων αυξάνεται, με αποτέλεσμα οι κρύσταλλοι που σχηματίζονται να εμφανίζουν μικρότερο μέγεθος, σε αντίθεση με την αργή κρυστάλλωση κατά την οποία δημιουργούνται πολύ μεγαλύτεροι κρύσταλλοι, λόγω του μικρότερου ρυθμού πυρηνογένεσης. Επομένως, με δεδομένο ότι τα σύμπλοκα δημιουργούνται στην ίδια θερμοκρασία που έγινε και η εξουδετέρωση του αλκαλικού διαλύματος με μεταβολή του pH στο 4,6, η διαφοροποίηση στο μέγεθος των κρυστάλλων των συμπλόκων οφείλεται στο ρυθμό ψύξης.

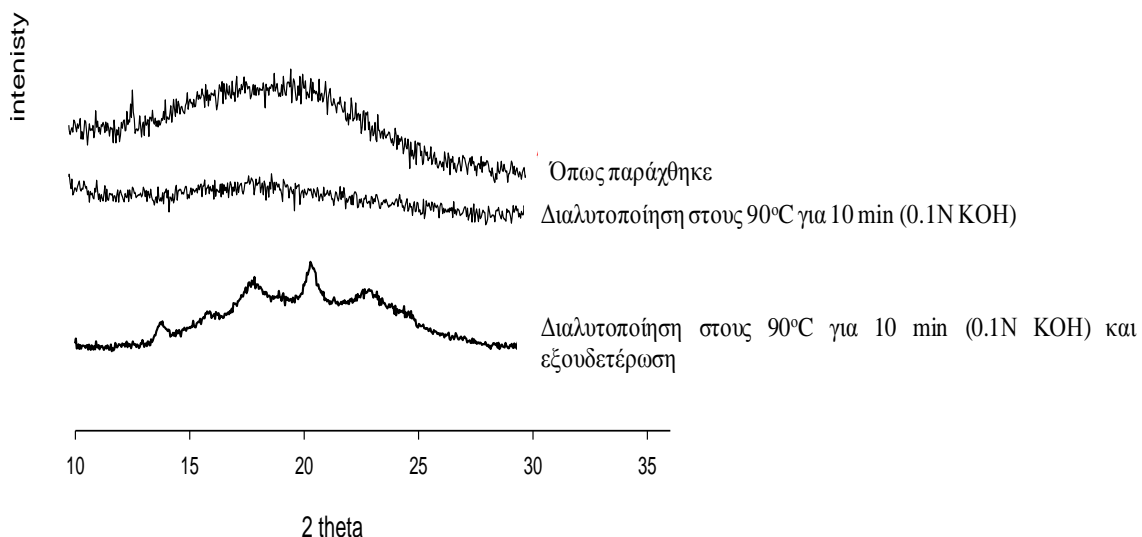
Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, συμπεραίνεται ότι τόσο ο βαθμός κρυσταλλικότητας όσο και το μέγεθος των κρυστάλλων των συμπλόκων επηρεάζονται από τη θερμοκρασία παρασκευής τους, όχι όμως από το μήκος αλυσίδας και το βαθμό ακορεστότητας του συμπλεγμένου λιπαρού οξέος.

#### **4.2.2. Δομικά χαρακτηριστικά συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (pregel)-λιπαρών οξέων**

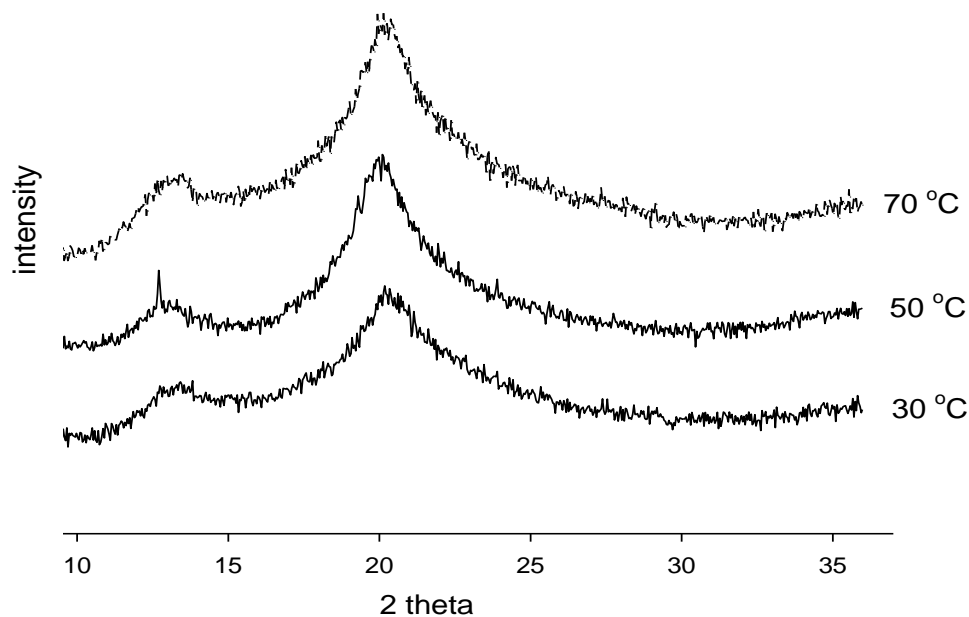
Στο Σχήμα 4.23 απεικονίζονται τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X του προζελατινοποιημένου άμυλου καλαμποκιού (pregel) ως έχει και μετά από κατεργασία στους 90°C για ~10 min (έως ότου διαλυτοποιηθεί πλήρως σε αλκαλικό περιβάλλον 0,1N KOH) ενώ στα Σχήματα 4.24, 4.25, 4.26, 4.27 & 4.28 απεικονίζονται τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X των συμπλόκων pregel με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ αντίστοιχα, που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C.

Όπως φαίνεται στο φάσμα περίθλασης ακτίνων X του pregel (όπως παράχθηκε), το pregel εμφάνισε άμορφη δομή γεγονός που οφείλεται στην απότομη και ακαριαία εξάτμιση του νερού του αιωρήματος του αμύλου στο ξηραντήριο τυμπάνων λόγω υψηλής διαφοράς θερμοκρασίας. Συγκεκριμένα, η θερμοκρασία των τυμπάνων ήταν στους 170°C και η θερμοκρασία στην οποία βρισκόταν το αιώρημα του αμύλου ήταν 100°C, επειδή η ξήρανσή έγινε στην ατμόσφαιρα. Όταν το pregel άμυλο διαλυτοποιήθηκε σε διάλυμα 0,1 N KOH, στους 90°C για 10 min και κατόπιν αφέθηκε να ξηρανθεί στην ατμόσφαιρα, τότε στο φάσμα των ακτίνων X που προέκυψε, ήταν επίσης άμορφο. Αυτό οφείλεται στην αύξηση της συγκέντρωσης του αλκάλειου στο αφυδατωμένο προϊόν. Οπότε λόγω της υψηλής συγκέντρωσης του KOH που υπάρχει στη μήτρα του συστήματος του αμύλου, ένα μέρος κρυσταλλώνεται, όπως θα δειχθεί να συμβαίνει στην Ενότητα 4.6.2, ενώ αυτό που παραμένει εν διαλύσει στη περιορισμένη ποσότητα νερού (8%), λόγω του πολύ υψηλού pH του συστήματος, προκαλεί τον ιονισμό των υδροξυλίων των μορίων της αμυλόζης οπότε λόγω των έντονων ηλεκτροστατικών απώσεων, τα μόρια του πολυσακχαρίτη απωθούνται το ένα με το άλλο με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός πλήρως άμορφου αμύλου. Όταν όμως το αλκαλικό διάλυμα εξουδετερωθεί με αποτέλεσμα το άμυλο να καταπέσει ως ίζημα, τότε το φάσμα ακτίνων X του συστήματος που προκύπτει μετά από την ξήρανσή του ιζήματος είναι συνδυασμός της Β-μορφής της αναδιαταγμένης αμυλόζης και της V-μορφής της συμπλεγμένης αμυλόζης με ενδογενή λιπαρά οξέα.

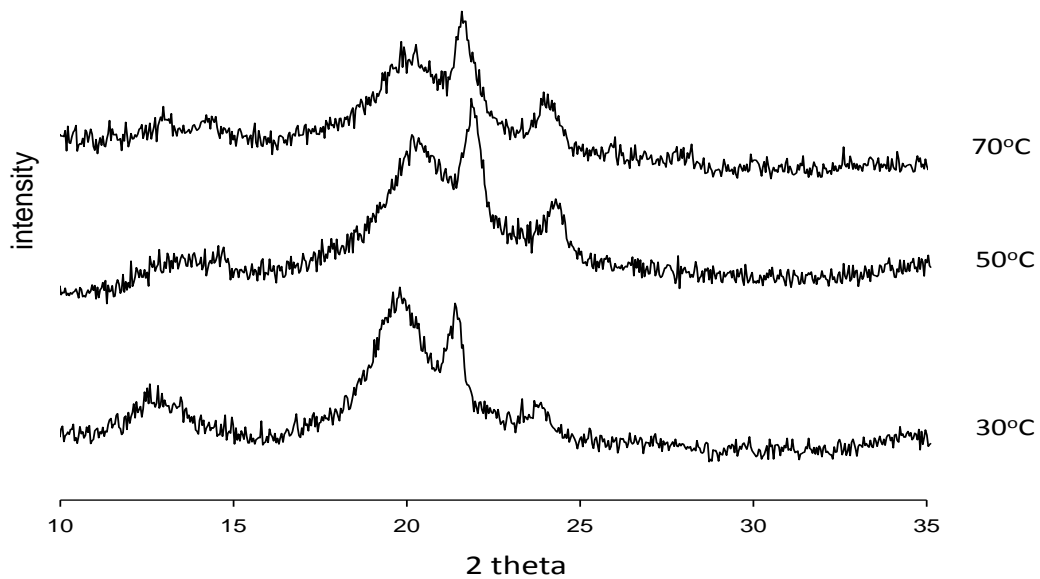
Αντίθετα, στα φάσματα των συμπλόκων pregel-λιπαρών οξέων (Σχήματα 4.24, 4.25, 4.26, 4.27 & 4.28) εμφανίζονται οι χαρακτηριστικές κορυφές στις τιμές  $2\theta=13,2$  και  $19,8^\circ$  που αντιστοιχούν στην κρυσταλλική V-δομή της συμπλεγμένης αμυλόζης.



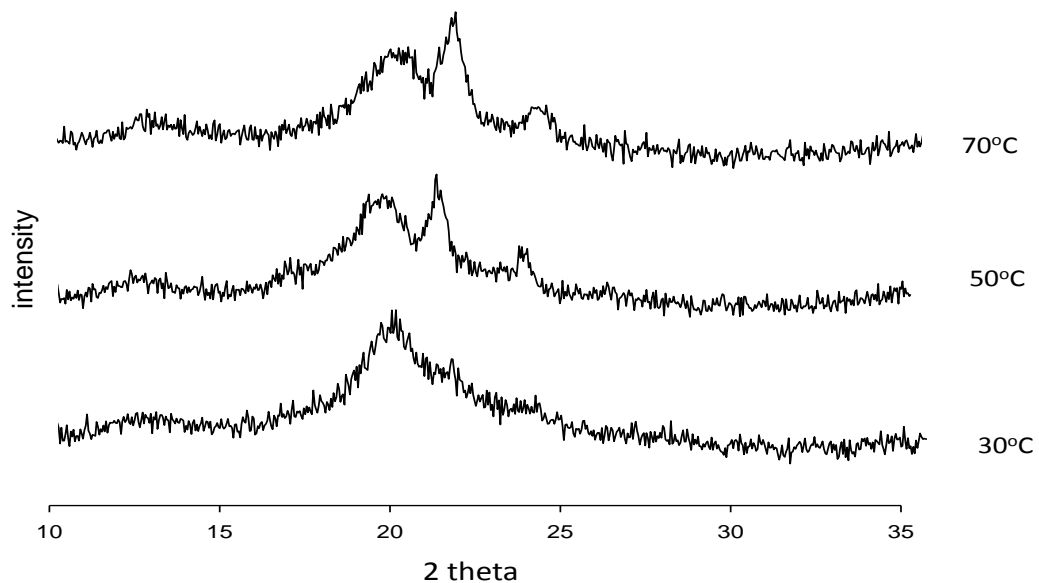
Σχήμα 4.23 Φάσμα περίθλασης ακτίνων X προζελατινοποιημένου αμύλου (pregel) ως έχει και μετά από διαλυτοποίησή στους  $90^\circ\text{C}$  για  $\sim 10$  min, σε αλκαλικό περιβάλλον (0,1N) και ξήρανσή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος υπο τη διοχέτευση συνεχούς ρεύματος αέρα.



Σχήμα 4.24 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-δεκανοϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους  $30$ ,  $50$  ή  $70^\circ\text{C}$ . Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.

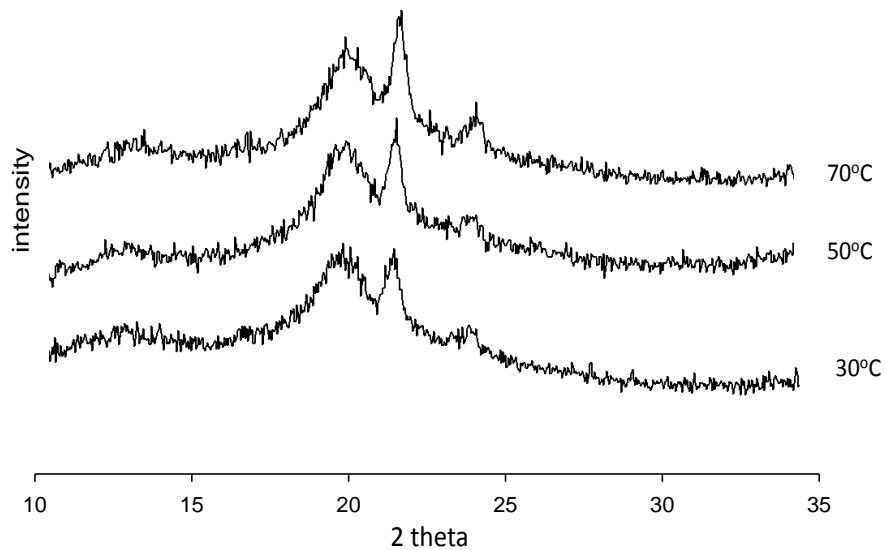


Σχήμα 4.25 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-μυριστικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους.

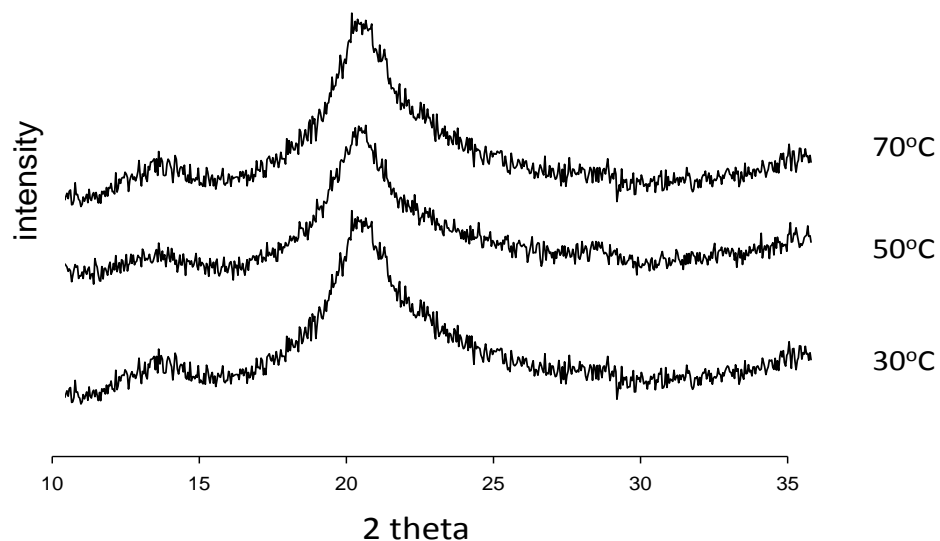


Σχήμα 4.26 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-παλμιτικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους.





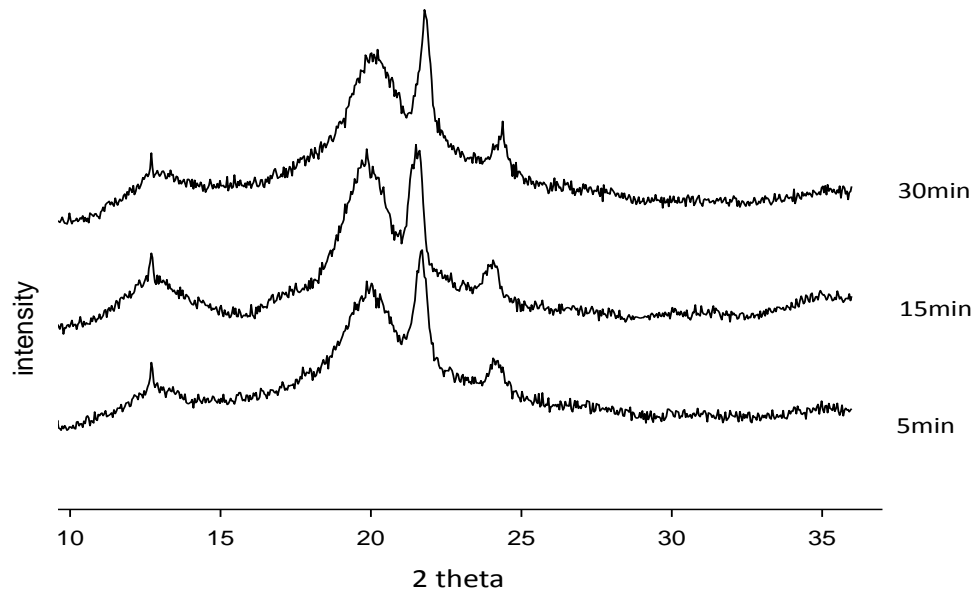
Σχήμα 4.27 Φάσμα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους.



Σχήμα 4.28 Φάσμα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους.

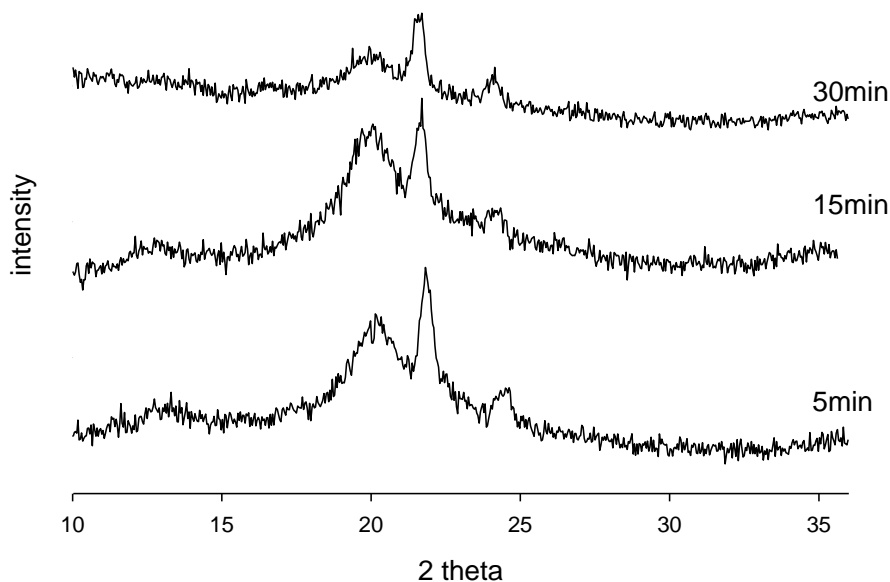
Παρατηρώντας τα φάσματα ακτίνων X των συμπλόκων, διαπιστώνεται ότι όλα τα σύμπλοκα που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C ήταν κρυσταλλικά. Παρόμοια, στις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ), τα φάσματα κατέδειξαν ότι όλα τα σύμπλοκα που παρασκευάστηκαν στις αντίστοιχες θερμοκρασίες ήταν κρυσταλλικά. Όπως προαναφέρθηκε (Ενότητα 1.3.2.1) οι Biliaderis & Galloway, (1989), θεωρούν ότι τα σύμπλοκα αμυλόζης-λιπαρών οξέων που σχηματίζονται σε θερμοκρασίες  $\leq 60^\circ\text{C}$  είναι άμορφα (τύπου I) και σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από  $90^\circ\text{C}$  είναι ημικρυσταλλικά (τύπος II). Επομένως, με βάση τα παραπάνω, προκύπτει ότι, όπως στη περίπτωση της αμυλόζης, έτσι και στη περίπτωση του pregel, ο σχηματισμός κρυσταλλικών συμπλόκων συμβαίνει όχι μόνο σε υψηλές θερμοκρασίες άνω των  $90^\circ\text{C}$  αλλά και σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος.

Τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X των συμπλόκων pregel με μυριστικό, παλμιτικό & στεατικό οξύ εμφάνισαν δύο επιπλέον κορυφές στις τιμές  $2\theta=21,7^\circ$  και  $23,8^\circ$  οι οποίες αποδίδονται σε κρυστάλλους καθαρού λιπαρού οξέος (Fanta et al., 1999; Lesmes et al., 2008). Με σκοπό να διερευνηθεί η φύση των παραπάνω κορυφών, δείγματα (~600 mg) του συμπλόκου pregel-στεατικού οξέος που κατά την παρασκευή τους υποστεί κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50), αναμίχθηκαν υπό συνεχή ανάδευση με 10 ml μεθανόλης (απόλυτης) για 5, 15 ή 30min. Κατόπιν φυγοκεντρήθηκαν και τα ιζήματα αφέθηκαν να ξηρανθούν υπό συνεχή διέλευση ρεύματος αέρα. Τα φάσματα των συμπλόκων έδειξαν (Σχήμα 4.29) ότι οι κορυφές στις τιμές  $2\theta=21,7^\circ$  και  $23,8^\circ$  παρέμειναν. Επομένως, οι συγκεκριμένες κορυφές δεν μπορεί να οφείλονται σε ελεύθερα μόρια λιπαρών οξέων, διότι αφενός η κατεργασία των συμπλόκων με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) κατά την παρασκευή τους θα οδηγούσε στην απομάκρυνση τους, αφετέρου όμως η επιπλέον κατεργασία με μεθανόλη θα απομάκρυνε αποτελεσματικά την οποιαδήποτε περίσσεια λιπαρού οξέος η οποία παρέμεινε στα σύμπλοκα. Στα φάσματα των συμπλόκων pregel με δεκανοϊκό και με ελαϊκό οξύ οι κορυφές αυτές δεν εντοπίζονται πιθανότατα, λόγω της κινητικότητας ή της ευελιξίας του μικρού μήκους αλυσίδας του δεκανοϊκού οξέος, ενώ το ελαϊκό οξύ είναι υγρό σε θερμοκρασία δωματίου. Παρόμοια εξήγηση δόθηκε και στις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με δεκανοϊκό και με ελαϊκό οξύ (Ενότητα 4.2.1).

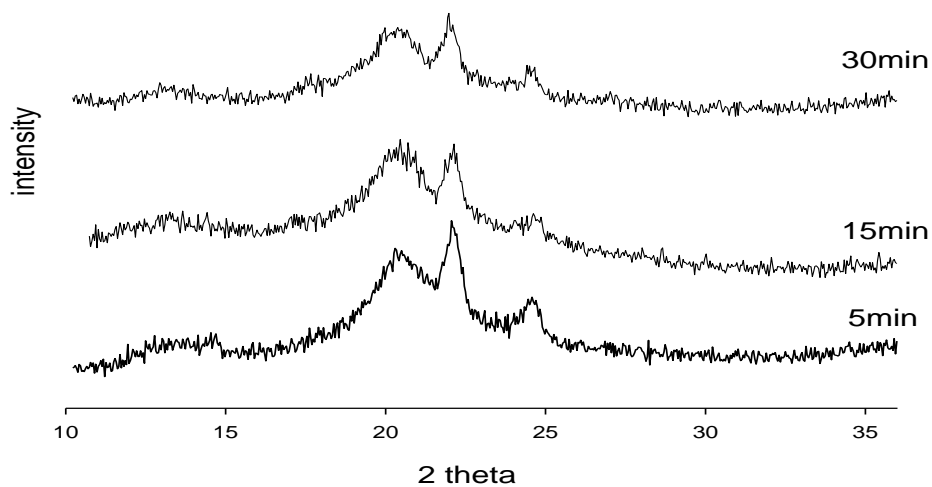


Σχήμα 4.29 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά τη παρασκευή τους έπειτα υπέστησαν επανεκατεργασία με μεθανόλη για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 50°C.

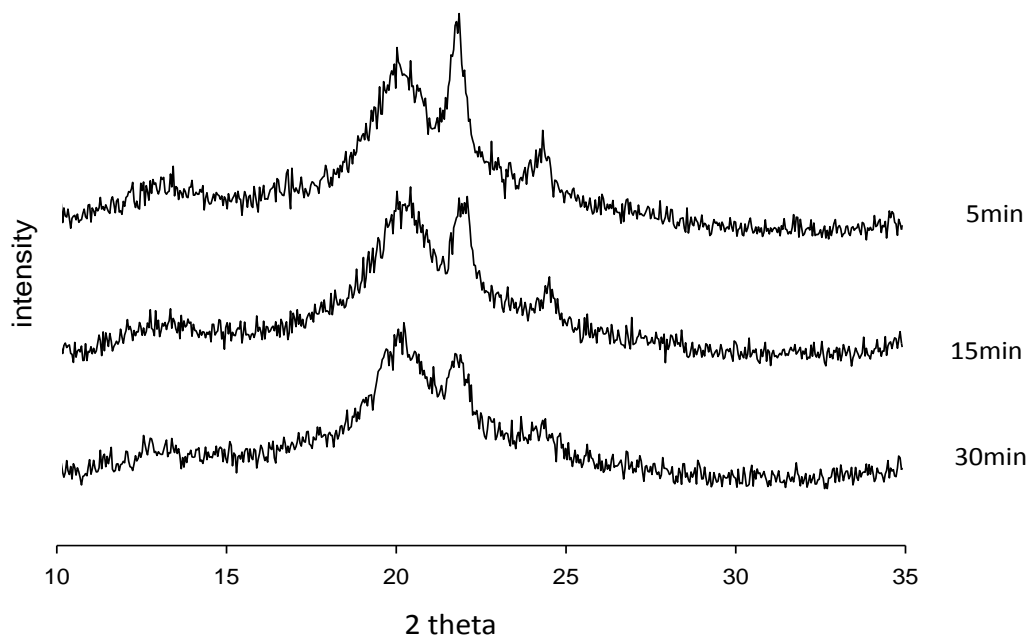
Στα Σχήματα 4.30, 4.31 & 4.32, παρουσιάζονται τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X των συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν αντίστοιχα, στους 30, 50 ή 70°C όπου το στεατικό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη διεργασία της συμπλοκοποίησης για 5, 15 ή 30min. Παρατηρώντας τα Σχήματα, διαπιστώνεται ότι αυξάνοντας το χρόνο διαλυτοποίησής του λιπαρού οξέος πριν τη συμπλοκοποίηση, η ένταση των κορυφών στις τιμές  $2\theta=21,7^\circ$  και  $23,8^\circ$  μειώθηκε. Παρόμοια εξήγηση δόθηκε και στις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με στεατικό οξύ (Ενότητα 4.2.1), ότι δηλ. πιθανότατα όσο αυξάνεται ο χρόνος διαλυτοποίησής του λιπαρού οξέος, τόσο το λιπαρό οξύ οργανώνεται σε άλλες μορφές-μεσοφάσεις (π.χ. διμερή) που το κάνουν μη διαθέσιμο για συμπλοκοποίηση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, το στεατικό οξύ το οποίο δεν εγκλείεται μοριακά μέσα στην έλικα της αμυλόζης, να παγιδεύεται μηχανικά στον ενδιάμεσο χώρο μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης και να μη μπορεί να αποσπαστεί μετά τη κατεργασία των συμπλόκων με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) κατά την παραλαβή τους.



Σχήμα 4.30 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 50°C. Το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους.



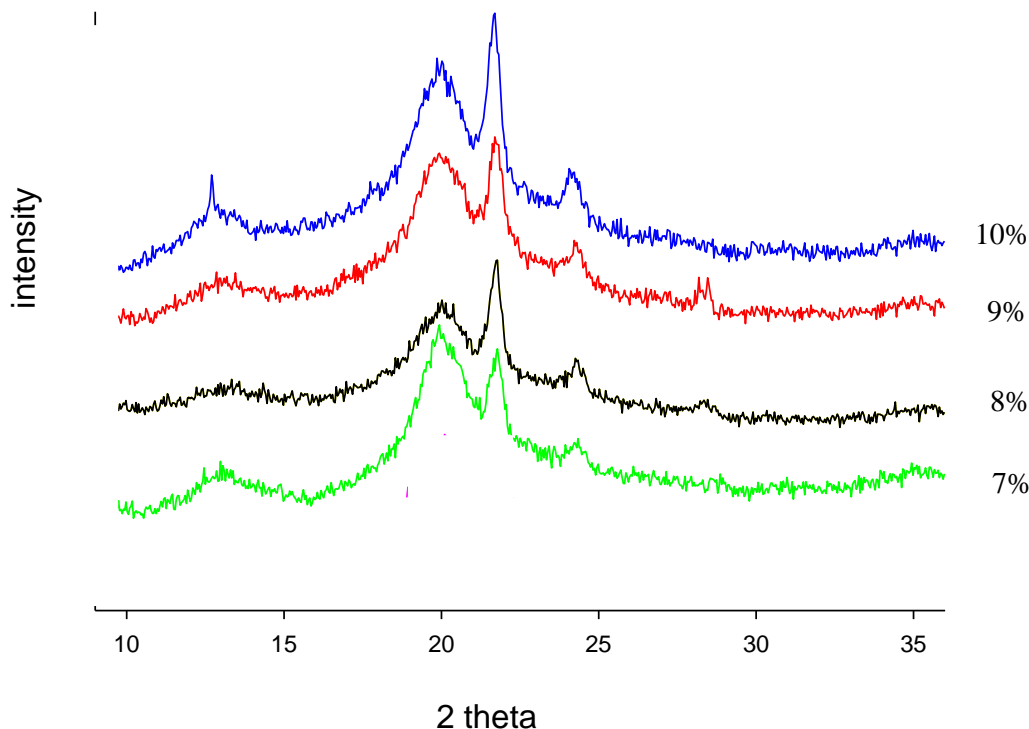
Σχήμα 4.31 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 50°C. Το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους.



Σχήμα 4.32 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 70°C. Πριν τη συμπλοκοποίηση το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους.

Με σκοπό να διερευνηθεί η επίδραση της συγκέντρωσης του λιπαρού οξέος στη συμπλοκοποίηση, παρασκευάστηκαν σύμπλοκα pregel με στεατικό οξύ, χρησιμοποιώντας κατά τη συμπλοκοποίηση 4 διαφορετικές συγκεντρώσεις στεατικού οξέος (7, 8, 9 ή 10 %) (Σχήμα 4.33). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ένταση της κορυφής στην τιμή  $2\theta=21,7^\circ$  αυξήθηκε με αύξηση της συγκέντρωσης του λιπαρού οξέος. Σύμφωνα με τους Le Bail et al. (2000), για να σχηματισθούν πλήρως κορεσμένες έλικες αμυλόζης απαιτείται συγκέντρωση λιπιδίου 10% (w/w) του βάρους της αμυλόζης. Σε αυτή τη συγκέντρωση, το μη συμπλεγμένο λιπαρό οξύ μπορεί να παγιδευτεί στους ενδιάμεσους χώρους μεταξύ των ελίκων, ενώ σε χαμηλές συγκεντρώσεις λιπιδίου, η πλεονάζουσα αμυλόζη, δηλ. η μη συμπλεγμένη, σχηματίζει διπλές έλικες λόγω κρυστάλλωσής της.

Παρατηρώντας το Σχήμα 4.33, διαπιστώνεται ότι ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις (7-8%), η κορυφή στη τιμή  $2\theta=21,7^\circ$  εξακολουθεί να είναι ορατή, γεγονός που αποδεικνύει ότι το μη συμπλεγμένο στεατικό οξύ, που δεν μπόρεσε να απομακρυνθεί μετά από κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50), είναι πιθανότατα παγιδευμένο μηχανικά, μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης. Σύμφωνα με τους Conde-Petit et al., (2006), η κατάλληλη συγκέντρωση του λιπαρού οξέος που απαιτείται για τη



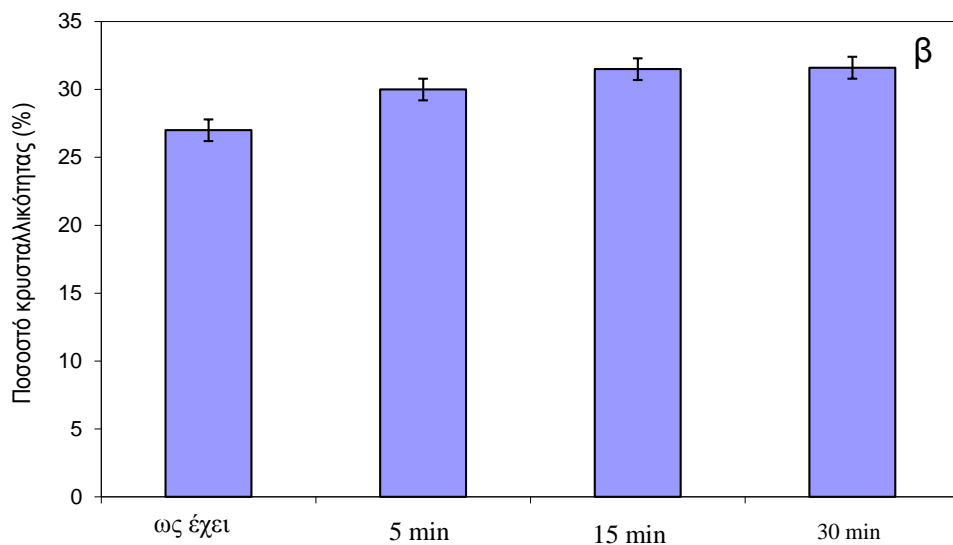
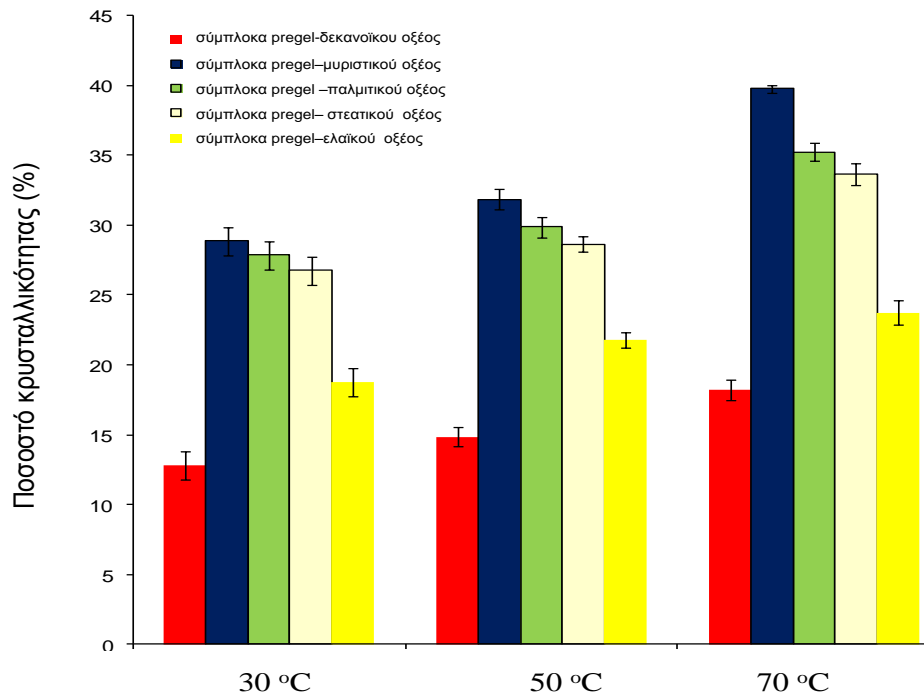
Σχήμα 4.33 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 70°C. Το λιπαρό οξύ προστέθηκε σε συγκεντρώσεις 7, 8, 9 ή 10 % (w/w) του βάρους της αμυλόζης. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους.

πλήρη συμπλοκοποίηση τη αμυλόζης με το λιπαρό οξύ σχετίζεται με τη διαλυτότητα και την κρίσιμη συγκέντρωση μικυλλίων (CMC-Kraft point) του λιπιδίου. Συγκεκριμένα, οι Conde-Petit et al. (2006) ανέφεραν ότι η κρίσιμη συγκέντρωση μικυλλίων και η διαλυτότητα μειώνονται με την αύξηση του μήκους της αλειφατικής αλυσίδας του λιπαρού οξέος με αποτέλεσμα να απαιτούνται μικρότερες ποσότητες λιπαρού οξέος για το σχηματισμό του συμπλόκου σε σχέση με μικρότερες μήκους αλυσίδες λιπαρού οξέος υπό τις ίδιες συνθήκες. Με δεδομένο ότι όσο αυξάνεται το μήκος αλυσίδας του λιπαρού οξέος στοιχειομετρικά απαιτούνται λιγότερα μόρια λιπαρού οξέος για να συμπλοκοποιηθούν με την αμυλόζη και επομένως αναμένεται μεγαλύτερη ποσότητα περίσσειας λιπαρών οξέων, οπότε ένα μέρος των μορίων απομακρύνεται κατά την κατεργασία των συμπλόκων με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50), ενώ το υπόλοιπο παγιδεύεται μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης. Ένα άλλο συμπέρασμα που συνάγεται είναι ότι όσο μεγαλύτερο είναι το μήκος αλυσίδας του λιπαρού οξέος, τόσο μειώνεται η διαλυτότητά του και άρα δημιουργούνται πιο εύκολα μικύλλια λόγω χαμηλότερου σημείου Kraft και επομένως μεγαλύτερη ποσότητα περίσσειας λιπαρών οξέων (ελεύθερων) αναμένεται να υπάρχει στη μήτρα των συμπλόκων.

Στο Σχήμα 4.34α παρουσιάζεται ο βαθμός κρυσταλλικότητας των συμπλόκων pregel με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ. Όπως παρατηρείται, όσο αυξάνεται η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων, ο βαθμός κρυσταλλικότητάς τους αυξάνεται. Πιθανότατα, όπως προαναφέρθηκε (Ενότητα 4.2.1), όσο αυξάνεται η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων, τα σύμπλοκα λόγω αυξημένης κινητικότητας έρχονται πιο κοντά και σχηματίζουν διατεταγμένες δομές, με αποτέλεσμα να αυξάνεται ο ρυθμός πυρηνογένεσης και επομένως η κρυσταλλικότητά τους. Ωστόσο, στη περίπτωση συμπλοκοποίησης του pregel με τα λιπαρά οξέα ο βαθμός κρυσταλλικότητάς εμφανίζεται να είναι χαμηλότερος. Πιθανότατα, η διαφοροποίηση αυτή σχετίζεται με τη διαθέσιμη αμυλόζη του pregel που συμπλέκεται με τα λιπαρά οξέα. Συγκεκριμένα, το ποσοστό της φαινομενικής αμυλόζης για το pregel, όπως προαναφέρθηκε (Ενότητα 4.1.1), είναι μόλις 21,5%.

Επομένως, λόγω της χαμηλής περιεκτικότητάς του pregel σε διαθέσιμη αμυλόζη, αναμένεται τα σύμπλοκα pregel με τα λιπαρά οξέα να εμφανίζουν χαμηλότερο βαθμό κρυσταλλικότητάς σε σχέση με τα σύμπλοκα αμυλόζης, όπου όλη η αμυλόζη συμπλέκεται με τα λιπαρά οξέα. Επίσης, ο χαμηλότερος βαθμός κρυσταλλικότητάς που εμφανίζουν τα σύμπλοκα pregel με τα λιπαρά οξέα σε σχέση με τα σύμπλοκα αμυλόζης σχετίζεται και με τη παρουσία της αμυλοπηκτίνης, η οποία αποτελεί κυρίαρχο συστατικό στο προζελατινοποιημένο άμυλο. Επομένως, ο βαθμός κρυσταλλικότητάς των συμπλόκων pregel επηρεάζεται τόσο από την παρουσία της αμυλοπηκτίνης όσο και από τη περιεκτικότητά της στο σύστημα του αμύλου. Επίσης, παρατηρώντας το βαθμό κρυσταλλικότητάς των συμπλόκων pregel με τα λιπαρά οξέα διαπιστώνεται ότι ο βαθμός κρυσταλλικότητάς επηρεάζεται από το μήκος αλυσίδας του λιπαρού οξέος, χωρίς ωστόσο τα σύμπλοκα να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Στην περίπτωση συμπλοκοποίησης του pregel με το ελαϊκό οξύ, ο βαθμός κρυσταλλικότητάς εμφανίζεται να είναι χαμηλότερος σε σύγκριση με εκείνο των συμπλόκων με τα υπόλοιπα λιπαρά οξέα (μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό οξύ). Η διαφορά αυτή μπορεί να αποδοθεί στο ότι το ελαϊκό οξύ έχει σε cis-θέση το διπλό δεσμό και έτσι η αλυσίδα του μορίου δεν είναι 100% ευθύγραμμη, με αποτέλεσμα η παραμόρφωση αυτή να εμποδίζει στερεοχημικά τις αλυσίδες να σχηματίζουν διατεταγμένες δομές σε μεγαλύτερο ποσοστό από ότι στις άλλες περιπτώσεις. Στην περίπτωση συμπλοκοποίησης με δεκανοϊκό οξύ, ο βαθμός κρυσταλλικότητάς ήταν αρκετά χαμηλότερος σε σχέση με τα υπόλοιπα λιπαρά οξέα, γεγονός που όπως προαναφέρθηκε (Ενότητα 4.2.1), οφείλεται στο μικρό μήκος αλυσίδας του λιπαρού οξέος που το καθιστά εξαιρετικά ευκίνητο, με αποτέλεσμα να μην συμπλοκοποιείται πλήρως με την αμυλόζη. Η μείωση του βαθμού κρυσταλλικότητάς που παρατηρήθηκε στα σύμπλοκα pregel με το μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ δεν παρατηρήθηκε στις περιπτώσεις των συμπλόκων αμυλόζης

με τα αντίστοιχα λιπαρά οξέα πιθανότατα λόγω του ότι η καθαρή αμυλόζη συμπλέκεται ποσοτικά με τα λιπαρά οξέα χωρίς την παρεμπόδιση της αμυλοπηκτικής.



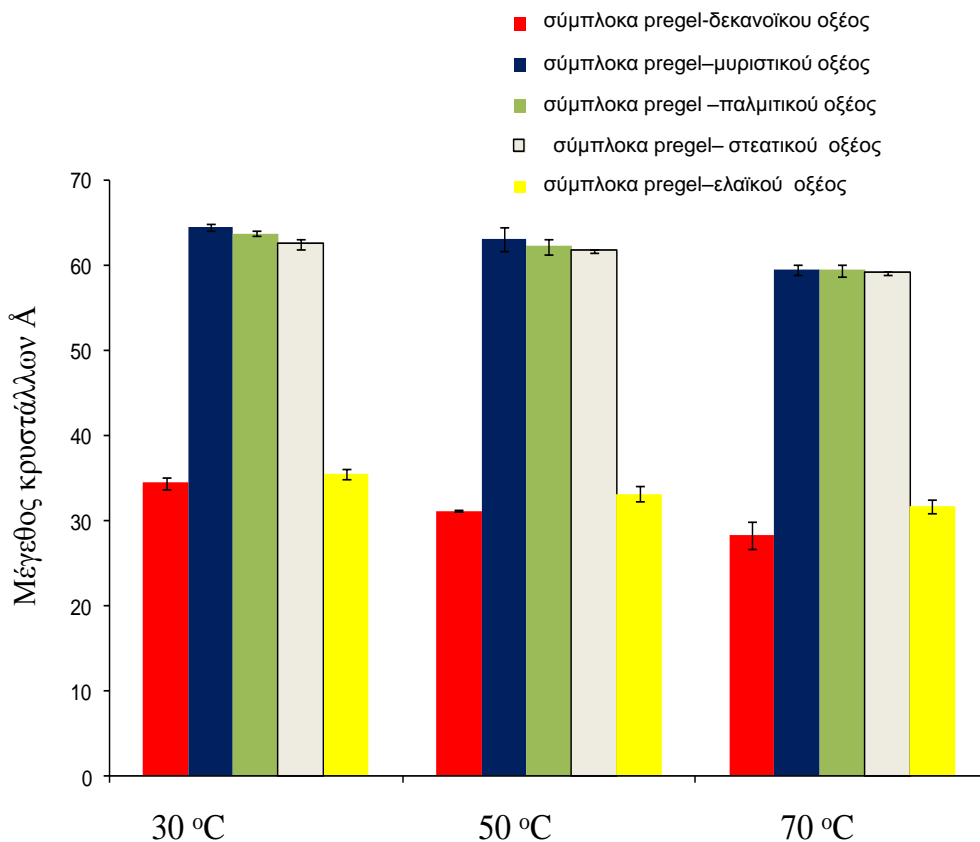
Σχήμα 4.34 Ποσοστό κρυσταλλικότητας (%) (α) συμπλόκων pregel-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά τη παρασκευή τους και (β) συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους και αναμίχθηκαν με μεθανόλη (απόλυτη) για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.



Στο Σχήμα 4.34β απεικονίζεται ο βαθμός κρυσταλλικότητας των συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 50°C και έπειτα αναμίχθηκαν με απόλυτη μεθανόλη για 5, 15 ή 30 min και κατόπιν φυγοκεντρήθηκαν και τα ιζήματα αφέθηκαν να ξηραθούν υπό συνεχή διέλευση ρεύματος αέρα. Συγκρίνοντας το βαθμό κρυσταλλικότητας των συμπλόκων που υπέστησαν επανεκατεργασία με μεθανόλη με το βαθμό κρυσταλλικότητας των συμπλόκων ως έχει (μάρτυρας, χωρίς κατεργασία με μεθανόλη), παρατηρείται ότι η κατεργασία με μεθανόλη οδήγησε σε αύξηση του βαθμού κρυσταλλικότητας των συμπλόκων, γεγονός που πιθανότατα οφείλεται στην αφυδάτωση που προκάλεσε η μεθανόλη στο σύμπλοκο και οδήγησε στο σχηματισμό πιο συμπαγούς κρυσταλλικής δομής, κάτι που παρατηρήθηκε και από τους Raphaelides & Karkalas (1988). Επιπλέον, παρατηρώντας το Σχήμα 4.34β διαπιστώνεται ότι όσο αυξάνεται ο χρόνος ανάμιξης του συμπλόκου με τη μεθανόλη, τόσο αυξάνεται ο βαθμός κρυσταλλικότητας του συμπλόκου, χωρίς ωστόσο τα δείγματα να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Ωστόσο, η αύξηση της κρυσταλλικότητας των συμπλόκων που παρατηρείται αναλογικά με το χρόνο ανάμιξης επιβεβαιώνει την παραπάνω παρατήρηση, ότι δηλ. η χρήση της μεθανόλης οδηγεί στο σχηματισμό περισσότερο κρυσταλλικών συμπλόκων.

Αναφορικά με το μέγεθος των κρυστάλλων, παρατηρώντας το Σχήμα 4.35, διαπιστώνεται ότι όσο αυξάνεται η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων το μέγεθος των κρυστάλλων μειώνεται, γεγονός που όπως προαναφέρθηκε (Ενότητα 4.2.1), οφείλεται στη διαφορετική τιμή της διαφοράς θερμοκρασίας μεταξύ της θερμοκρασίας παρασκευής των συμπλόκων (30, 50 ή 70°C) και της θερμοκρασίας δωματίου, στην οποία ψύχθηκαν τα σύμπλοκα. Επιπλέον, παρατηρώντας το Σχήμα 4.35, διαπιστώνεται ότι το μέγεθος των κρυστάλλων στα σύμπλοκα του pregel είναι μεγαλύτερο σε σύγκριση με εκείνο των συμπλόκων της αμυλόζης, γεγονός που πιθανώς να οφείλεται στη παρουσία της αμυλοπηκτίνης. Συγκεκριμένα, είναι γνωστό ότι ο ρυθμός πυρηνογένεσης επηρεάζεται από το ιξώδες του συστήματος και όσο υψηλότερο είναι το ιξώδες τόσο χαμηλότερος είναι ο ρυθμός πυρηνογένεσης λόγω επιβράδυνσης της κίνησης των μορίων με αποτέλεσμα τη δημιουργία λιγότερων αλλά μεγαλύτερου μεγέθους κρυστάλλων. Στην περίπτωση αυτή η παρουσία των μορίων της αμυλοπηκτίνης αυξάνει το ιξώδες του συστήματος του αμύλου σε σχέση με αυτό του συστήματος της αμυλόζης και έτσι οι κρύσταλλοι που δημιουργούνται είναι μεγαλύτεροι. Οι διαφορετικές τιμές μεγέθους κρυστάλλων που παρατηρούνται μεταξύ των συμπλόκων pregel με το ελαϊκό οξύ και με τα υπόλοιπα λιπαρά οξέα πιθανότατα σχετίζονται με τη διαμόρφωση των

λιπαρών οξέων στο χώρο. Όπως προαναφέρθηκε, η αλυσίδα του ελαϊκού οξέος δεν είναι 100% ευθύγραμμη (διπλός δεσμός σε cis-θέση), με αποτέλεσμα η παραμόρφωση αυτή να εμποδίζει



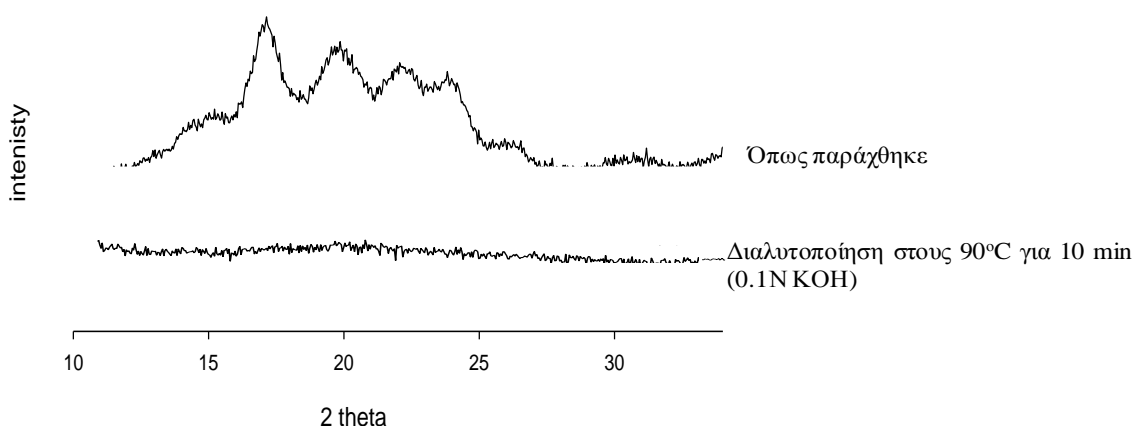
Σχήμα 4.35 Μέγεθος κρυστάλλων συμπλόκων pregel-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα συμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.24 κατά την παρασκευή τους.

στερεοχημικά τις αλυσίδες να σχηματίσουν δύσκολα διατεταγμένες δομές και να μειώνεται με τον τρόπο αυτό ο βαθμός κρυσταλλικότητάς και το μέγεθος των κρυστάλλων.

#### 4.2.3. Δομικά χαρακτηριστικά συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης (Hylon VII)-λιπαρών οξέων

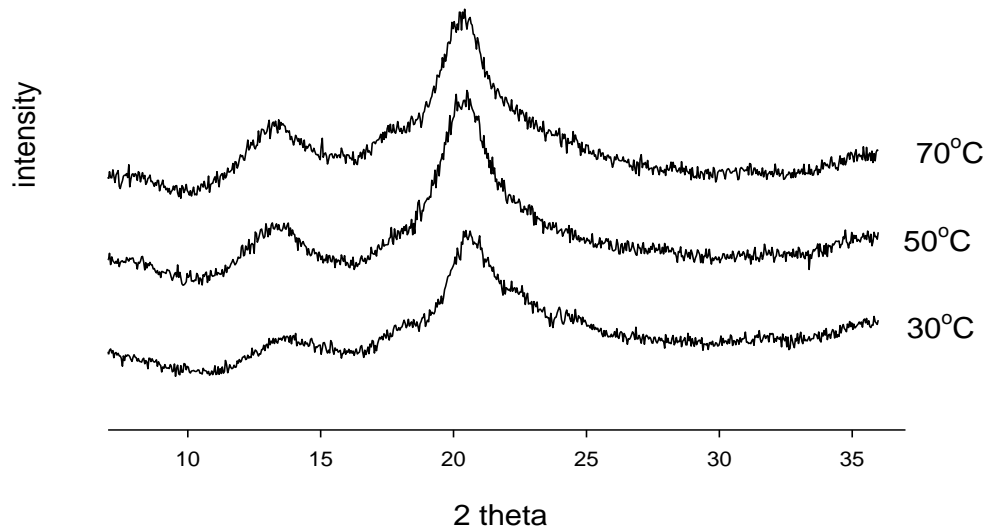
Τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X του αμύλου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης-Hylon VII (~70%) ως έχει και μετά από διαλυτοποίησή του στους 90°C για ~10min σε διάλυμα 0,1N KOH και ακόλουθη ξήρανσή στον αέρα, παρουσιάζονται στο Σχήμα 4.36, ενώ των συμπλόκων εγκλεισμού αμύλου Hylon VII με τα λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C παρουσιάζονται στα Σχήματα 4.37, 4.38,

4.39, 4.40 & 4.41, αντίστοιχα. Παρατηρώντας το φάσμα του Hylon VII ως έχει, διαπιστώνεται ότι, αποτελεί έναν συνδυασμό B- και V- κρυσταλλικής δομής. Σύμφωνα με τον Morrison (1998), η χαρακτηριστική κορυφή στη τιμή  $2\theta=19,7^\circ$  αντιστοιχεί στη συμπλοκοποίηση μορίων αμυλόζης με τα ενδογενώς υπάρχοντα λιπαρά οξέα που δημιουργούνται κατά τη βιοσύνθεση του αμύλου. Στην περίπτωση του θερμικά επεξεργασμένου Hylon VII διαπιστώνεται ότι η διαλυτοποίησή στους  $90^\circ\text{C}$  σε 0,1N KOH για ~ 10 min και ακόλουθη ξήρανσή στον αέρα οδήγησε στη δημιουργία ενός άμορφου αμύλου.

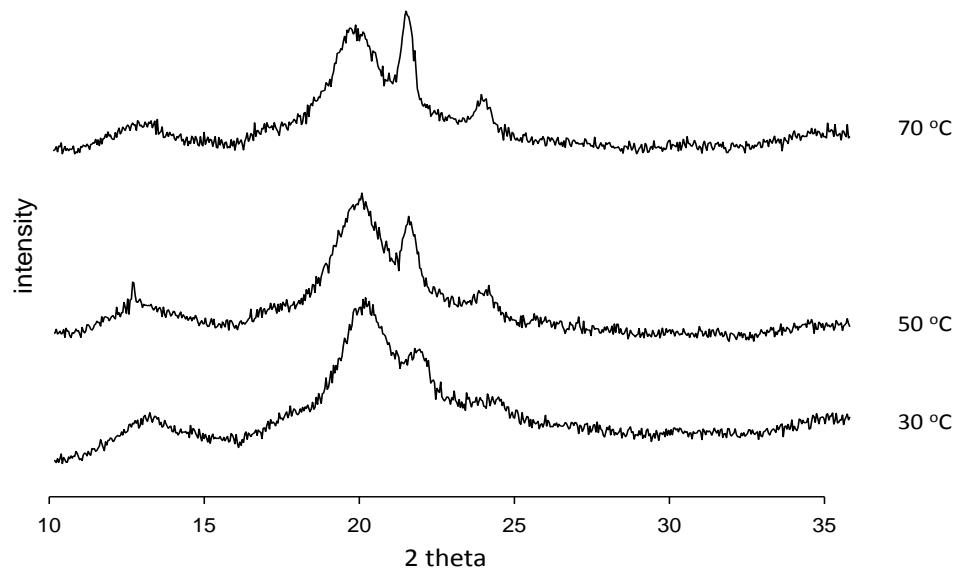


Σχήμα 4.36 Φάσματα φυσικού αμύλου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης ~ 70% (Hylon VII) και μετά από διαλυτοποίησή στους  $90^\circ\text{C}$  για ~10 min σε διάλυμα 0,1 N KOH και ακόλουθη ξήρανσή στον αέρα.

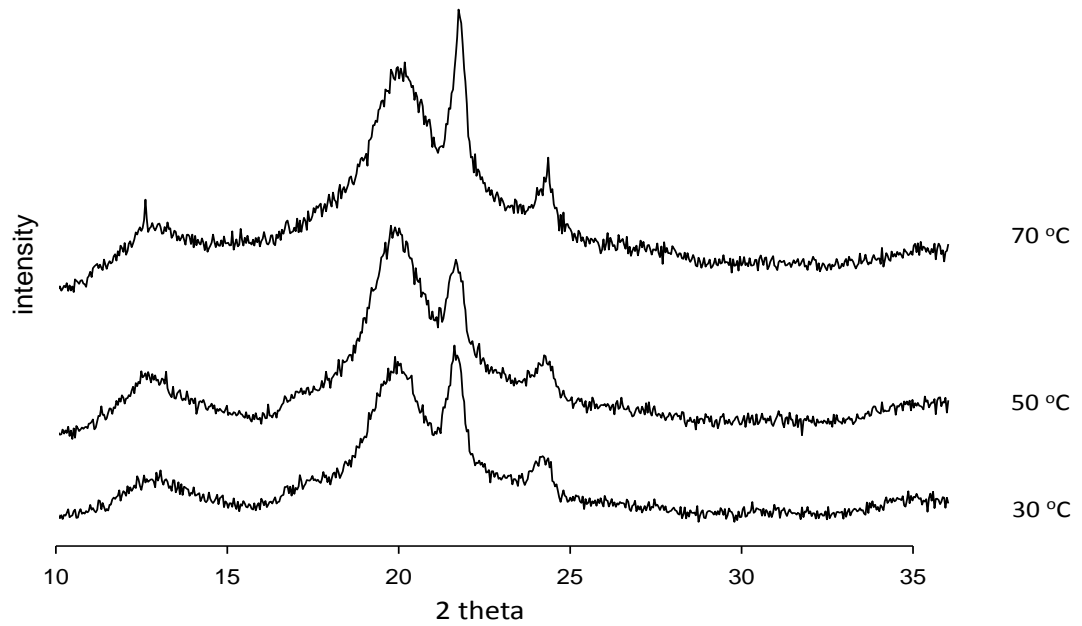
Στα φάσματα περίθλασης ακτίνων X των συμπλόκων που προέκυψαν από την αντίδραση του Hylon VII με τα λιπαρά οξέα, διακρίνονται οι χαρακτηριστικές κορυφές που αντιστοιχούν στις τιμές  $2\theta=13,2^\circ$  και  $19,8^\circ$  και επιβεβαιώνουν τον επιτυχή σχηματισμό της V-δομής της συμπλεγμένης αμυλόζης. Ωστόσο, συγκρίνοντας τα φάσματα του φυσικού Hylon VII (μάρτυρας) και των παραχθέντων συμπλόκων παρατηρείται μια αύξηση στην ένταση της κορυφής  $2\theta=19,8^\circ$  στα φάσματα των συμπλόκων ενώ οι υπόλοιπες κορυφές που εμφανίστηκαν στο φάσμα του φυσικού Hylon VII έχουν εξαφανιστεί και αντ' αυτών εμφανίστηκαν άλλες κορυφές στις τιμές  $2\theta=13,2^\circ$ ,  $19,8^\circ$ ,  $21,7^\circ$  και  $23,8^\circ$ .



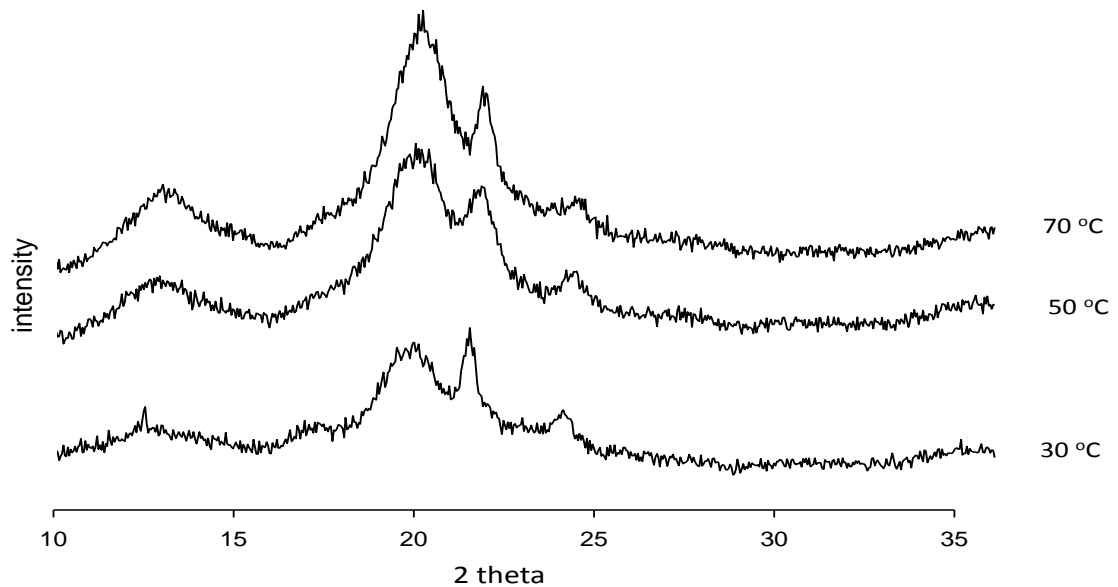
Σχήμα 4.37 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (Hylon VII)-δεκανοϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.



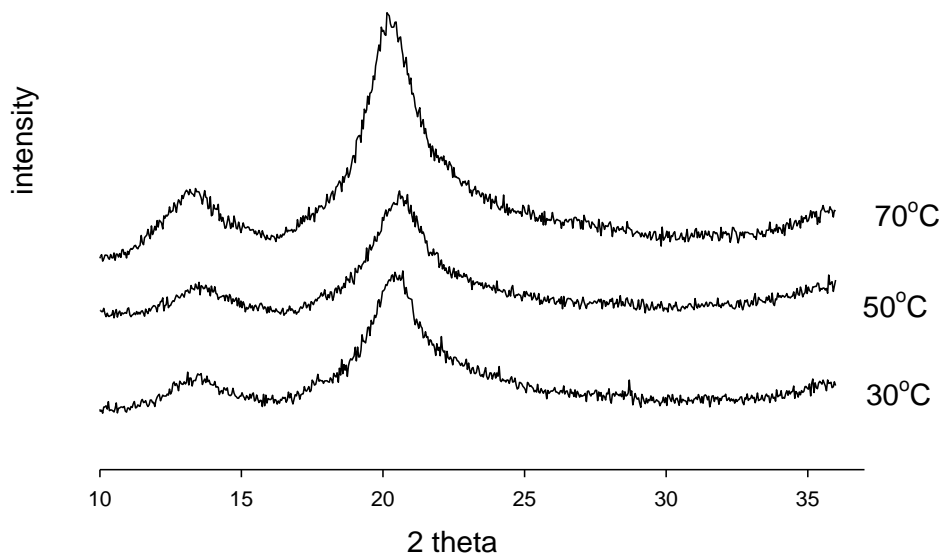
Σχήμα 4.38 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (Hylon VII)-μυριστικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.37 κατά την παρασκευή τους.



Σχήμα 4.39 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (Hylon VII)-παλμιτικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.37 κατά την παρασκευή τους.



Σχήμα 4.40 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (Hylon VII)-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.37 κατά την παρασκευή τους.

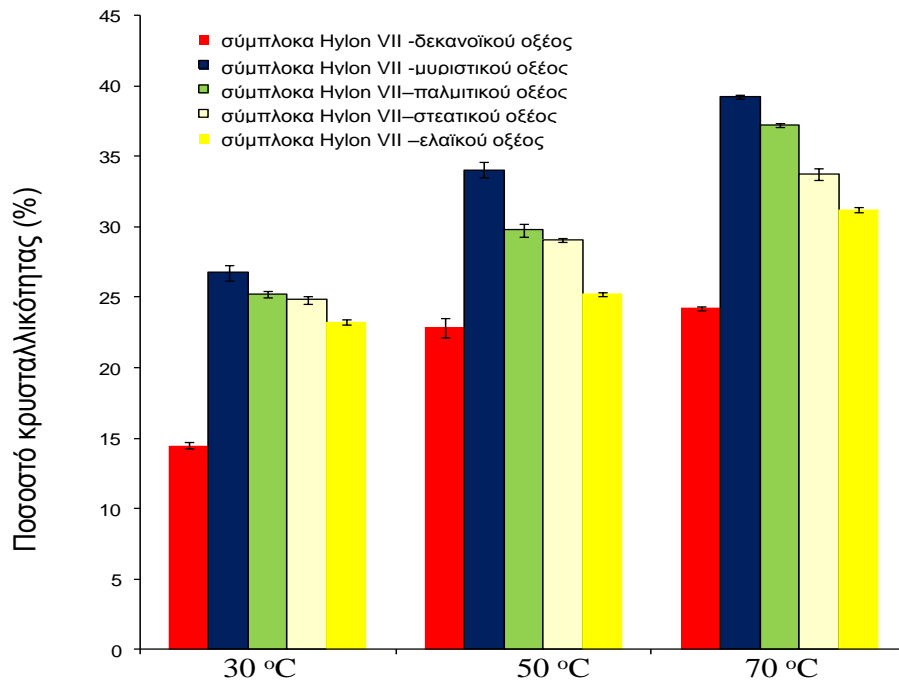


Σχήμα 4.41 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (Hylon VII)-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.37 κατά την παρασκευή τους.

Τα αποτελέσματα αυτά είναι ταυτόσημα με τα δεδομένα που λήφθησαν από τα φάσματα των συμπλόκων καθαρής αμυλόζης-λιπαρών οξέων (Ενότητα 4.2.1) και των συμπλόκων pregel-λιπαρών οξέων (Ενότητα 4.2.2) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C όπου σε όλες τις περιπτώσεις τα σύμπλοκα ανεξάρτητα της θερμοκρασίας παρασκευής τους εμφάνισαν κρυσταλλική δομή. Με βάση τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι και στη περίπτωση του Hylon VII, ημικρυσταλλικά σύμπλοκα σχηματίζονται σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος και όχι μόνο σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 90°C όπως αναφέρεται από τους Biliaderis & Serevinatne (1990).

Στα φάσματα των συμπλόκων Hylon VII με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό & στεατικό οξύ παρατηρούνται δύο επιπλέον κορυφές στις τιμές  $2\theta=21,7^\circ$  και  $23,8^\circ$ . Όπως προαναφέρθηκε στην περίπτωση συμπλοκοποίησης της αμυλόζης και του pregel που υπέστησαν κατεργασία με διάφορους διαλύτες, ένα μέρος του λιπαρού οξέος που δεν συμπλοκοποιείται με την αμυλόζη, και δεν απομακρύνθηκε, παγιδεύεται μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης. Επομένως, συμπεραίνεται ότι οι συγκεκριμένες κορυφές δεν οφείλονται σε μόρια ελεύθερων λιπαρών οξέων, όπως αναφέρεται από τους Fanta et al. (1999) και Lesmes et al. (2008) αλλά σε μόρια λιπαρών οξέων τα οποία δεν απομακρύνονται μετά από κατεργασία των συμπλόκων με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) κατά την παρασκευή τους και παγιδεύονται μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης.

Παρατηρώντας το Σχήμα 4.42, διαπιστώνεται ότι ο βαθμός κρυσταλλικότητάς των συμπλόκων κυμαίνεται μεταξύ 15-45% με τις χαμηλότερες τιμές να παρατηρούνται στην περίπτωση συμπλοκοποίησης του Hylon VII στους 30°C με δεκανοϊκό οξύ και τις υψηλότερες στην περίπτωση συμπλοκοποίησης με μυριστικό οξύ. Αναφορικά με τη θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων,



Σχήμα 4.42 Ποσοστό κρυσταλλικότητας (%) συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού Hylon VII -λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.37 κατά την παρασκευή τους.

παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται η θερμοκρασία παρασκευής τους τόσο αυξάνεται ο βαθμός κρυσταλλικότητάς τους. Όπως προαναφέρθηκε (Ενότητα 4.2.1) όσο αυξάνεται η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων οι αλυσίδες της συμπλεγμένης αμυλόζης έρχονται πιο κοντά, λόγω αυξημένης κινητικότητας, με αποτέλεσμα να σχηματίζουν πιο εύκολα διατεταγμένες δομές και να αυξάνεται ο βαθμός κρυσταλλικότητάς τους. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στη περίπτωση της συμπλοκοποίησης της αμυλόζης και του pregel με τα λιπαρά οξέα σε διάφορες θερμοκρασίες.

Παρατηρώντας το Σχήμα 4.42, διαπιστώνεται ότι όσο αυξάνεται το μήκος αλυσίδας του λιπαρού οξέος τόσο μειώνεται η κρυσταλλικότητά των συμπλόκων γεγονός που οφείλεται πιθανότατα στο ότι τα μεγάλα μήκη αλυσίδας λιπαρά οξέα (στεατικό και παλμιτικό οξύ) λόγω αυξημένης ακαμψίας είναι πιο δύσκολο να έρθουν κοντά και να σχηματίσουν διατεταγμένες δομές. Επίσης, στην περίπτωση της συμπλοκοποίησης του Hylon VII με το ελαϊκό οξύ ο βαθμός κρυσταλλικότητάς των συμπλόκων εμφανίζεται να είναι χαμηλότερος σε σχέση με τα σύμπλοκα Hylon VII με το στεατικό οξύ, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στη cis-διαμόρφωση του ελαϊκού οξέος καθώς η αλυσίδα του δεν είναι ευθύγραμμη, με αποτέλεσμα η παραμόρφωση αυτή να εμποδίζει

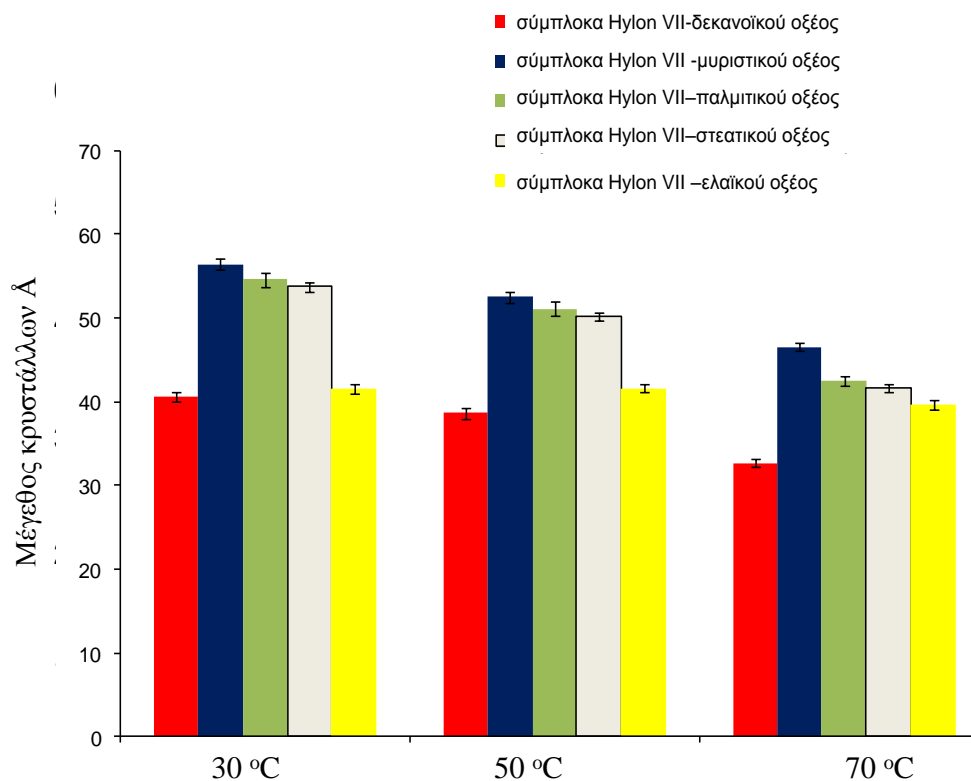


στερεοχημικά τις αλυσίδες να σχηματίσουν διατεταγμένες δομές σε ποσοστό συγκρίσιμο με αυτό των άλλων περιπτώσεων.

Συγκρίνοντας το βαθμό κρυσταλλικότητάς των συμπλόκων Hylon VII με το βαθμό κρυσταλλικότητάς των συμπλόκων pregel και των συμπλόκων αμυλόζης, παρατηρείται ότι η παρουσία της αμυλοπηκτικής παρεμπόδισε τη δημιουργία των κρυστάλλων και μάλιστα στις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης με τα άμυλα (pregel και Hylon VII) διαπιστώνεται ότι όσο αυξάνεται η περιεκτικότητά της αμυλοπηκτικής τόσο μειώνεται η κρυσταλλικότητά. Επίσης, μεταξύ των αμύλων (pregel και Hylon VII) διαπιστώνεται ότι ο βαθμός κρυσταλλικότητάς στις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης του pregel ήταν χαμηλότερος, γεγονός που οφείλεται στο ότι στο pregel η αμυλοπηκτική αποτελεί το κυρίαρχο συστατικό σε σχέση με την αμυλόζη, με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται περισσότερο ο σχηματισμός των κρυστάλλων και ως εκ τούτου να μειώνεται ο βαθμός κρυσταλλικότητάς. Αντίθετα, στο Hylon VII το ποσοστό της αμυλοπηκτικής είναι περίπου 30%, ενώ το ποσοστό της διαθέσιμης αμυλόζης ανέρχεται στο 56% και επομένως είναι αναμενόμενο ο βαθμός κρυσταλλικότητάς να είναι μεγαλύτερος.

Στο Σχήμα 4.43, παρουσιάζεται το μέγεθος των κρυστάλλων των συμπλόκων Hylon VII-λιπαρών οξέων. Παρατηρείται, ότι και σ' αυτή τη περίπτωση, καθώς η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων αυξάνεται, το μέγεθος των κρυστάλλων μειώνεται. Επίσης, παρατηρώντας το Σχήμα 4.43, διαπιστώνεται ότι όσο αυξάνεται το μήκος αλυσίδας του λιπαρού οξέος τόσο μειώνεται το μέγεθος των κρυστάλλων. Συγκρίνοντας το μέγεθος των κρυστάλλων των συμπλόκων Hylon VII με το μέγεθος των κρυστάλλων των συμπλόκων της αμυλόζης και του pregel, διαπιστώνεται ότι στην περίπτωση των συμπλόκων Hylon VII, το μέγεθος των κρυστάλλων είναι μεγαλύτερο από εκείνο των συμπλόκων της αμυλόζης και μικρότερο από το μέγεθος των κρυστάλλων των συμπλόκων του pregel. Η διαφοροποίηση αυτή σχετίζεται με το διαφορετικό ποσοστό αμυλοπηκτικής και διαθέσιμης αμυλόζης που περιέχει το Hylon VII. Όπως προαναφέρθηκε, το Hylon VII συγκριτικά με το pregel, περιέχει ποσοστό αμυλοπηκτικής ~ 30 %, ενώ το ποσοστό της διαθέσιμης αμυλόζης είναι ~56%.

Με βάση τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι ο ρυθμός σχηματισμού των κρυστάλλων και το μέγεθος των κρυστάλλων παρεμποδίζεται από την περιεκτικότητά του αμύλου σε αμυλοπηκτική και από τη διαμόρφωση των λιπαρών οξέων.

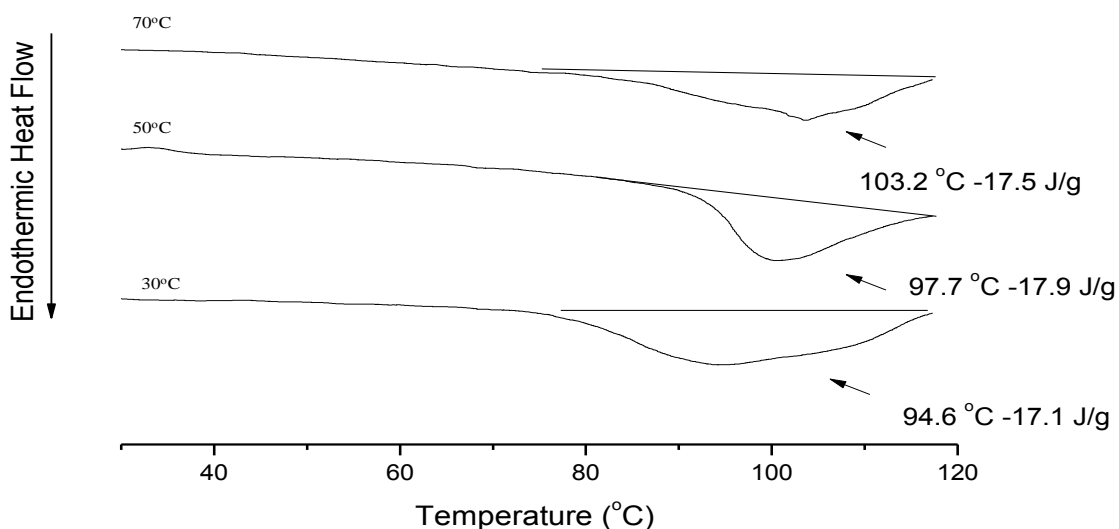


Σχήμα 4.43 Μέγεθος κρυστάλλων (%) συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού Hylon VII-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.37 κατά την παρασκευή τους.

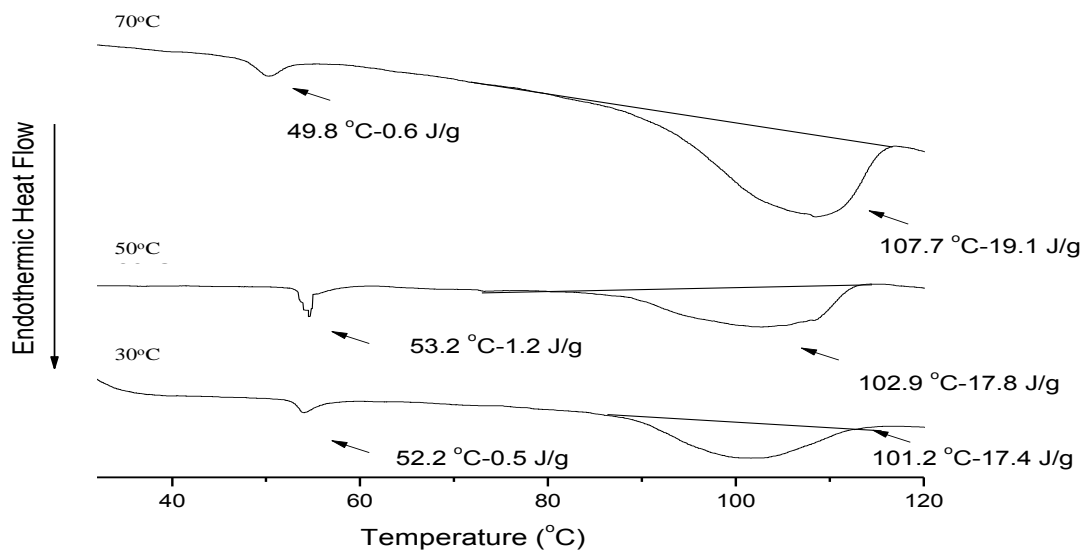
#### 4.3. ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΘΕΡΜΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗΣ ΘΕΡΜΙΔΟΜΕΤΡΙΑΣ ΣΑΡΩΣΗΣ (DSC)

##### 4.3.1. Θερμική ανάλυση των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων

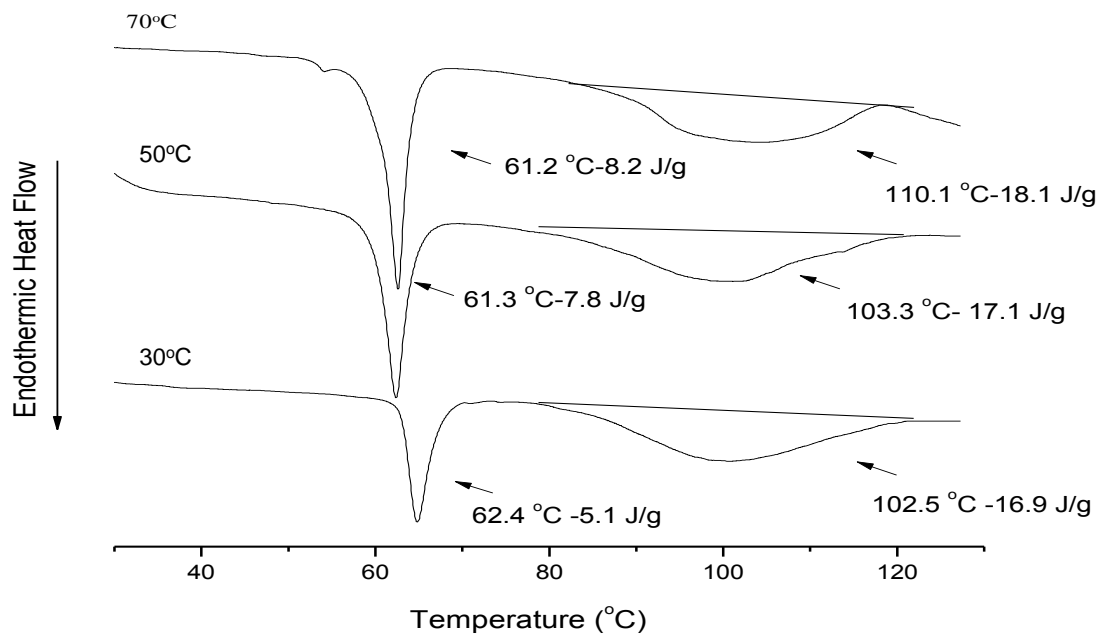
Στα Σχήματα 4.44, 4.45, 4.46, 4.47, 4.48 & 4.49 απεικονίζονται τα θερμογραφήματα των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό και συζευγμένο λινελαϊκό οξύ), που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Στον Πίνακα 4.3 παρουσιάζονται η θερμοκρασία έναρξης διάσπασης των συμπλόκων, η θερμοκρασία διάσπασης και η θερμοκρασία περάτωσης της διάσπασης των συμπλόκων.



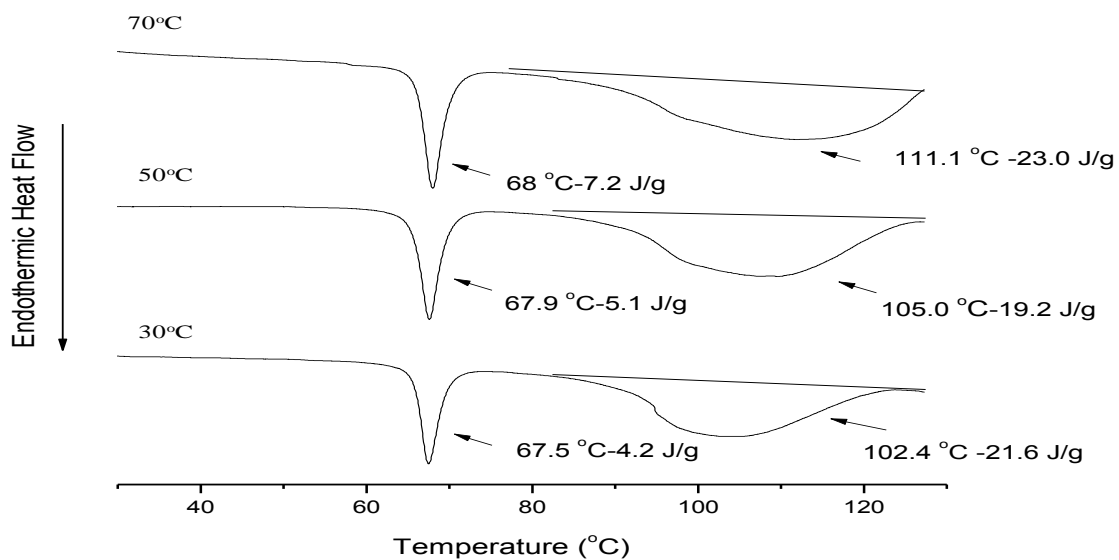
Σχήμα 4.44 Θερμογραφήματα DSC των συμπλόκων αμυλόζης-δεκανοϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρασή τους.



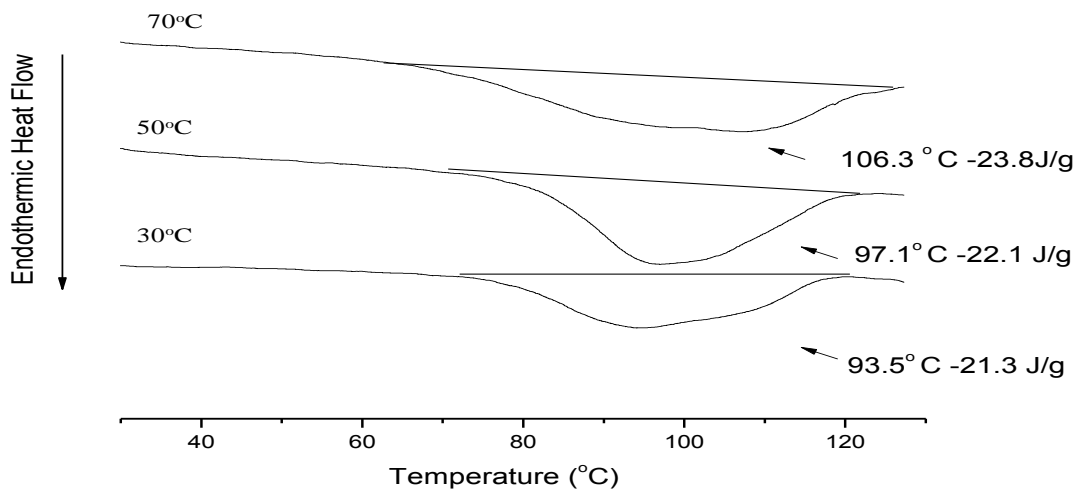
Σχήμα 4.45 Θερμογραφήματα DSC των συμπλόκων αμυλόζης-μυριστικού οξέος παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.



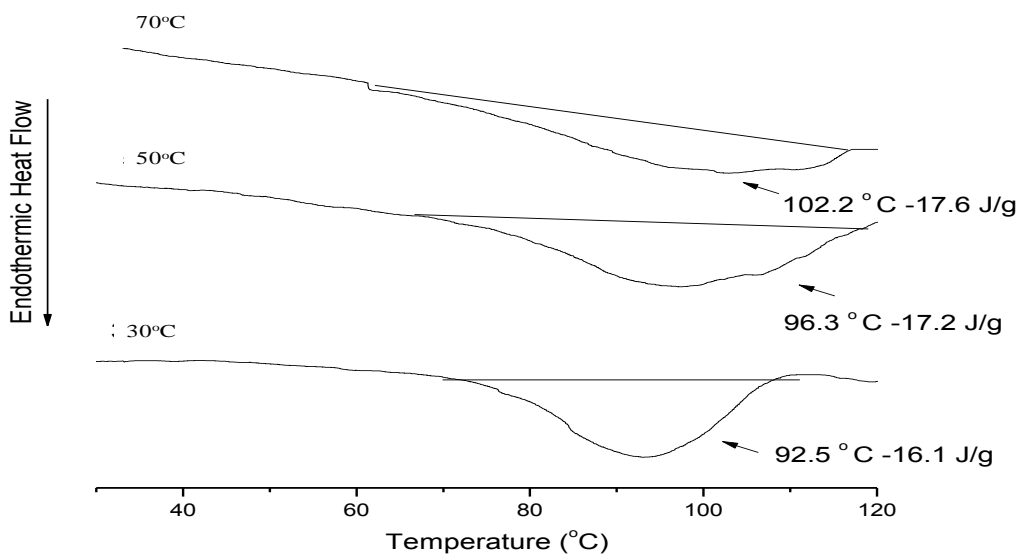
Σχήμα 4.46 Θερμογραφήματα DSC των συμπλόκων αμυλόξης-παλμιτικού οξέος παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.



Σχήμα 4.47 Θερμογραφήματα DSC των συμπλόκων αμυλόξης-στεατικού οξέος παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.



Σχήμα 4.48 Θερμογραφήματα DSC των συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.



Σχήμα 4.49 Θερμογραφήματα DSC συμπλόκων αμυλόζης-συζευγμένου λινελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.

Πίνακας 4.3 Θερμοκρασίες έναρξης διάσπασης των συμπλόκων αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό & συζευγμένο λινελαϊκό οξύ), θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα και θερμοκρασίες περάτωσης διάσπασης των συμπλόκων αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70 °C.

Σύμπλοκο	Θερμοκρασία έναρξης διάσπασης των συμπλόκων (°C)	Θερμοκρασία διάσπασης των συμπλόκων (°C)	Θερμοκρασία περάτωσης διάσπασης των συμπλόκων (°C)
Αμυλόζη- δεκανοϊκό οξύ			
30 °C	78,2(±0,2)	94,6(±0,3)	118,8(±0,3)
50 °C	80,7(±0,1)	97,7(±0,5)	118,1(±0,2)
70 °C	78,4(±0,3)	103,2(±0,2)	119,2(±0,4)
Αμυλόζη-μυριστικό οξύ			
30 °C	83,4(±0,3)	101,2(±0,3)	118,1(±0,2)
50 °C	82,2(±0,4)	102,9(±0,3)	118,4(±0,3)
70 °C	81,8(±0,2)	107,7(±0,1)	118,2(±0,4)
Αμυλόζη-παλμιτικό οξύ			
30 °C	76,3(±0,3)	102,5(±0,3)	122,3(±0,4)
50 °C	78,1(±0,4)	103,3(±0,1)	121,2(±0,3)
70 °C	80,1(±0,1)	110,1(±0,2)	119,9(±0,5)
Αμυλόζη-στεατικό οξύ			
30 °C	82,4(±0,2)	102,4(±0,3)	123,1(±0,4)
50 °C	83,3(±0,4)	105,0(±0,3)	124,3(±0,3)
70 °C	81,4(±0,3)	111,1(±0,2)	124,2(±0,3)
Αμυλόζη-ελαϊκό οξύ			
30 °C	72,5(±0,3)	93,5(±0,1)	119,8(±0,1)
50 °C	71,5(±0,1)	97,1(±0,3)	122,6(±0,3)
70 °C	68,1(±0,3)	106,3(±0,2)	126,7(±0,4)
Αμυλόζη-συζευγμένο λινελαϊκό οξύ			
30 °C	70,2(±0,3)	92,5(±0,3)	111,2(±0,1)
50 °C	67,9(±0,1)	96,3(±0,2)	119,6(±0,3)
70 °C	64,3(±0,2)	102,2(±0,2)	119,7(±0,4)

Στα θερμογραφήματα των συμπλόκων διακρίνονται δύο ενδόθερμες κορυφές. Η πρώτη ενδόθερμη κορυφή πιθανότατα οφείλεται στη θερμοκρασία τήξης των ελεύθερων λιπαρών οξέων (Karkalas et

al., 1995), ενώ η δεύτερη ενδόθερμη κορυφή στη θερμοκρασία διάσπασης των συμπλόκων (Karkalas et al., 1995; Raphaelides & Karkalas, 1988). Στα θερμογραφήματα των συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό και στεατικό οξύ που παρασκευάστηκαν σε 30, 50 ή 70°C, η ενδόθερμη κορυφή διάσπασης των συμπλόκων κυμάνθηκε μεταξύ των 92-111°C. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με αντίστοιχες θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων που αναφέρονται από τους Karkalas et al.(1995) και Raphaelides & Karkalas (1988). Τα σύμπλοκα αμυλόζης με ελαϊκό οξύ που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C εμφάνισαν μια ενδόθερμη κορυφή διάσπασης στους 93,5°C, 97,1°C και 106,3°C αντίστοιχα, ενώ τα σύμπλοκα αμυλόζης με συζευγμένο λινελαϊκό οξύ που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C εμφάνισαν μια κορυφή διάσπασης στους 92,5°C, 96,3°C και 102,2°C αντίστοιχα. Οι θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων αμυλόζης με ελαϊκό και με λινελαϊκό οξύ συμπίπτουν με την θερμοκρασία διάσπασης των συμπλόκων με τα αντίστοιχα λιπαρά οξέα που αναφέρονται από τους Karkalas et al. (1995), Lalush et al. (2005), Tufvesson et al. (2003b).

Παρατηρώντας τον Πίνακα 4.3 και τα θερμογραφήματα των συμπλόκων διαπιστώνεται ότι, οι θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων αυξήθηκαν με αύξηση του μήκους της ανθρακικής αλυσίδας των λιπαρών οξέων και με αύξηση της θερμοκρασίας παρασκευής τους. Αναλυτικότερα, με βάση τα θερμογραφήματα των συμπλόκων, διαπιστώνεται ότι τα σύμπλοκα αμυλόζης με στεατικό οξύ που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C εμφάνισαν υψηλότερες θερμοκρασίες διάσπασης σε σχέση με αυτές των συμπλόκων με τα μικρότερου μήκους αλυσίδας λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό & παλμιτικό οξύ) που παρασκευάστηκαν στις αντίστοιχες θερμοκρασίες. Η αύξηση της θερμοκρασίας διάσπασης των συμπλόκων που παρατηρείται με την αύξηση του μήκους της αλυσίδας του λιπαρού οξέος οφείλεται στο ότι οι μεγάλοι μήκους ανθρακικές αλυσίδες λιπαρών οξέων επιτρέπουν περισσότερες υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις με το εσωτερικό της έλικας της αμυλόζης, απαιτώντας υψηλότερες θερμοκρασίες για την διάσπαση των δεσμών αυτών. Παρόμοια εξήγηση δίνεται και από τους Raphaelides & Karkalas (1988).

Αναφορικά με την επίδραση της θερμοκρασίας παρασκευής των συμπλόκων, παρατηρώντας τα θερμογραφήματα, διαπιστώνεται ότι όσο αυξάνεται η θερμοκρασία παρασκευής τους τόσο αυξάνεται η θερμοκρασία διάσπασης. Όπως προαναφέρθηκε (Ενότητα 4.2.1), κατά τη κρυστάλλωση των συμπλόκων το μέγεθος των κρυστάλλων που δημιουργούνται είναι αντιστρόφως ανάλογο της διαφοράς μεταξύ της θερμοκρασίας παρασκευής των συμπλόκων και της θερμοκρασίας ψύξης που είναι αυτή του περιβάλλοντος λόγω υψηλότερου ρυθμού πυρηνογένεσης. Εξαιτίας της υψηλής διαφοράς θερμοκρασίας ο ρυθμός εξάτμισης του νερού σε συνδυασμό με τη μεγάλη επιφάνεια που δημιουργούν οι μικροί κρύσταλλοι οδηγεί στην απομάκρυνση μεγάλου

μέρους των μορίων νερού που διαφορετικά θα εγκλωβίζονταν στους διάκενους χώρους μεταξύ των ελίκων και έτσι οι έλικες πλησιάζουν περισσότερο η μία την άλλη και δημιουργούν περισσότερο συμπαγείς κρυστάλλους από ότι στις περιπτώσεις που η διαφορά θερμοκρασίας είναι χαμηλότερη. Οπότε η θερμοκρασία τήξης των κρυστάλλων, λόγω της συμπαγούς δομής των, αυξάνει.

Παρατηρώντας τις θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων συμπεραίνεται ότι όλα τα σύμπλοκα που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C, εμφάνισαν ημικρυσταλλική δομή την επονομαζόμενη «τύπου II». Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε αντίθεση με τους Biliaderis & Seneviratne (1990), Karkalas et al. (1995), Biliaderis & Galloway (1989), οι οποίοι αναφέρουν ότι τα σύμπλοκα αμυλόζης-λιπαρών οξέων που σχηματίζονται σε θερμοκρασίες  $\leq 60^\circ\text{C}$  (τύπου I) εμφανίζουν θερμοκρασία διάσπασης περίπου στους 95-105°C (Karkalas et al., 1995) ενώ τα σύμπλοκα τύπου II σχηματίζονται σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 90°C (Karkalas et al., 1995) και εμφανίζουν θερμοκρασία διάσπασης σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 100°C (Biliaderis & Galloway, 1989, Karkalas et al., 1995). Παρατηρώντας τα θερμογραφήματα συμπεραίνεται ότι, η ενδόθερμη κορυφή διάσπασης των συμπλόκων είναι ευρεία που υποδηλώνει την ύπαρξη συστήματος μη διατεταγμένων (τυχαίων) και κρυσταλλικών αλυσίδων συμπλόκων στο χώρο. Όπως προαναφέρθηκε (Ενότητα 4.2.1), η ημικρυσταλλική δομή των συμπλόκων υποδεικνύει ότι τα σύμπλοκα αποτελούνται είτε από έλικες αμυλόζης που είναι τυχαία προσανατολισμένες στο χώρο (άμορφη δομή) είτε έλικες αμυλόζης που είναι διευθετημένες στο χώρο και σχηματίζουν διατεταγμένες δομές (αναδιπλωμένες λαμέλλες-folded lamellae), δηλ. κρυσταλλίτες, είτε τέλος έλικες αμυλόζης όπου ένα τμήμα τους είναι τυχαία διευθετημένο στο χώρο και το άλλο συμμετέχει στη δομή ενός κρυσταλλίτη (fringed micelles).

Όσον αφορά στις θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων με ακόρεστα λιπαρά οξέα, οι θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων αμυλόζης-λινελαϊκού οξέος (CLA) εμφανίζονται να είναι μικρότερες σε σχέση με τις θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος. Οι Eliasson & Krog (1985), Karkalas et al. (1995), Krog, (1971), Lagendijk & Pennings (1970), Raphaelides & Karkalas (1988) Raphaelides & Papavergou, (1991); Stute & Konieczny-Janda, (1989) Yamada et al. (1998) & Zabar et al. (2009), αναφέρουν ότι ο αριθμός των διπλών δεσμών στη λιπιδική αλειφατική αλυσίδα επηρεάζει σημαντικά τις θερμικές ιδιότητες των συμπλόκων αμυλόζης-λιπιδίων. Συγκεκριμένα, παρατηρώντας τα θερμογραφήματα των συμπλόκων αμυλόζης με ελαϊκό και με λινελαϊκό οξύ (CLA) διαπιστώνεται ότι όσο μεγαλύτερος είναι ο βαθμός ακορεστότητας των λιπαρών οξέων, τόσο μικρότερη είναι η θερμική σταθερότητα των συμπλόκων. Παρόμοια, οι Raphaelides & Karkalas (1988) και οι Tufvesson et al. (2003b) μελέτησαν την συμπλοκοποίηση της αμυλόζης με λιπαρά οξέα με διαφορετικό βαθμό ακορεστότητας και



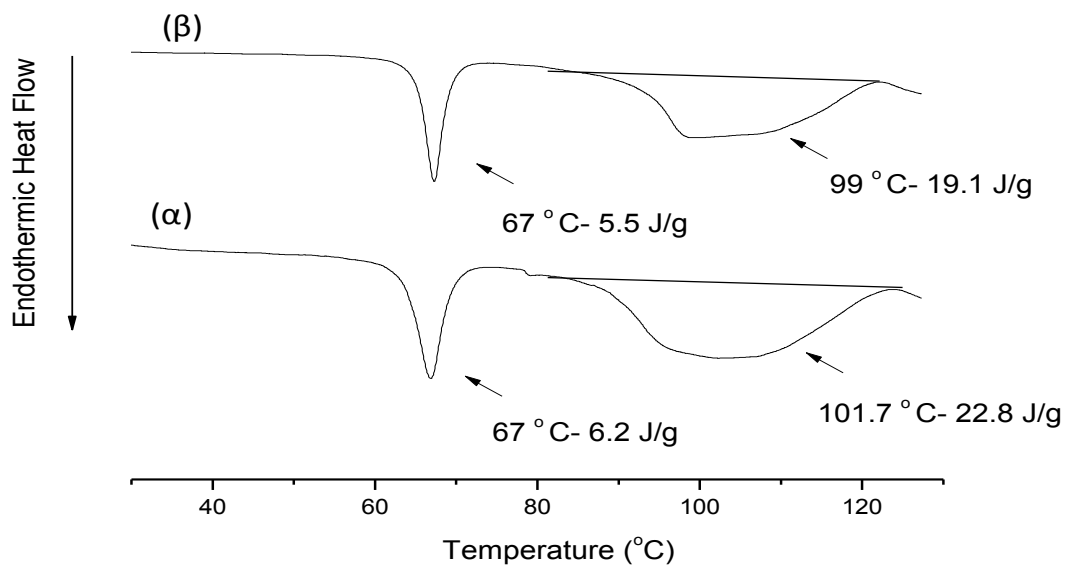
παρατήρησαν ότι η θερμική σταθερότητα των συμπλόκων μειώθηκε με αύξηση του βαθμού ακορεστότητας.

Αναφορικά με την ενθαλπία διάσπασης των συμπλόκων αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα, οι Tufvesson et al. (2003b) αναφέρουν ότι αυτή, δίνεται από το εμβαδόν κάτω από την ενδόθερμη κορυφή διάσπασης και αντικατοπτρίζει την ποσότητα των σχηματιζόμενων συμπλόκων. Όπως προαναφέρθηκε, στην παρούσα εργασία, οι ενδόθερμες κορυφές διάσπασης των συμπλόκων είναι ευρείες που προφανώς αυτό οφείλεται στην οργάνωση της δομής των συμπλόκων. Συγκρίνοντας τις ενθαλπίες διάσπασης των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκού, μυριστικού, παλμιτικού και στεατικού οξέος) συμπεραίνεται ότι αυτές ήταν παρόμοιες με μικρές διαφορές μεταξύ τους. Λαμβάνοντας υπόψη ότι τα λιπαρά οξέα πριν τη συμπλοκοποίηση διαλυτοποιούνται στις ίδιες συνθήκες, αναμένεται όλα τα λιπαρά οξέα να είναι σε τέτοια μορφή που να τους επιτρέπεται να συμπλοκοποιηθούν πλήρως με την αμυλόζη και επομένως πρέπει να παρουσιάζουν παρόμοιες ενθαλπίες. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με τους Raphaelides & Karkalas (1988) οι οποίοι ανέφεραν ότι η ενθαλπία διάσπασης των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων είναι ανεξάρτητη του μήκους αλυσίδας των λιπαρών οξέων. Αντίθετα, οι Tufvesson et al. (2003b) μελέτησαν τη συμπλοκοποίηση της αμυλόζης με κορεσμένα (λαυρικό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό) και ακόρεστα (ελαϊκό, λινελαϊκό, αραχιδονικό) λιπαρά οξέα και παρατήρησαν ότι τις μεγαλύτερες τιμές ενθαλπίας εμφάνισαν τα σύμπλοκα αμυλόζης με μυριστικό και με ελαϊκό οξύ και απέδωσαν το γεγονός αυτό στην αυξημένη διαλυτότητα και διαθεσιμότητα των λιπαρών οξέων για να συμπλοκοποιηθούν με την αμυλόζη. Για την παρασκευή των συμπλόκων, η διαλυτοποίησή της αμυλόζης και των λιπαρών οξέων έγινε με νερό όπου τόσο η αμυλόζη όσο και τα λιπαρά οξέα προφανώς δεν διαλυτοποιούνται πλήρως και άρα η διαθεσιμότητά τους είναι περιορισμένη ή σε διάλυμα 0,1N NaOH όπου διαλυτοποιούνται και οι δύο ουσίες (αμυλόζη, λιπαρά οξέα) αλλά η ανάμιξη και κατ' επέκταση η συμπλοκοποίηση έγινε μέσα σε καψίλια από αλουμίνιο (aluminum pans) προφανώς αναδιωμένο ώστε να μην αντιδράσει με το NaOH. Με δεδομένο ότι η χωρητικότητα των καψιλιών ήταν εξαιρετικά περιορισμένη (περίπου 40  $\mu$ L) οι συνθήκες δημιουργίας των συμπλόκων ήταν αντίξοες και είναι απορίας άξιον πώς οι ερευνητές κατάφεραν να παρασκευάσουν σύμπλοκα αμυλόζης-λιπαρών οξέων. Οπότε, η παρατήρηση των ερευνητών ότι κάποια λιπαρά οξέα ήταν περισσότερο διαθέσιμα στο να αντιδράσουν με την αμυλόζη σε σχέση με άλλα δεν οφείλεται στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τους αλλά στις συνθήκες κάτω από τις οποίες έγινε η προσπάθεια αντίδρασής τους με την αμυλόζη. Επίσης, οι Zabar et al. (2009) παρατήρησαν ότι η ενθαλπία διάσπασης των συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος ήταν μεγαλύτερη από αυτήν των συμπλόκων αμυλόζης με ακόρεστα λιπαρά οξέα αναλόγου μήκους αλυσίδας, γεγονός που

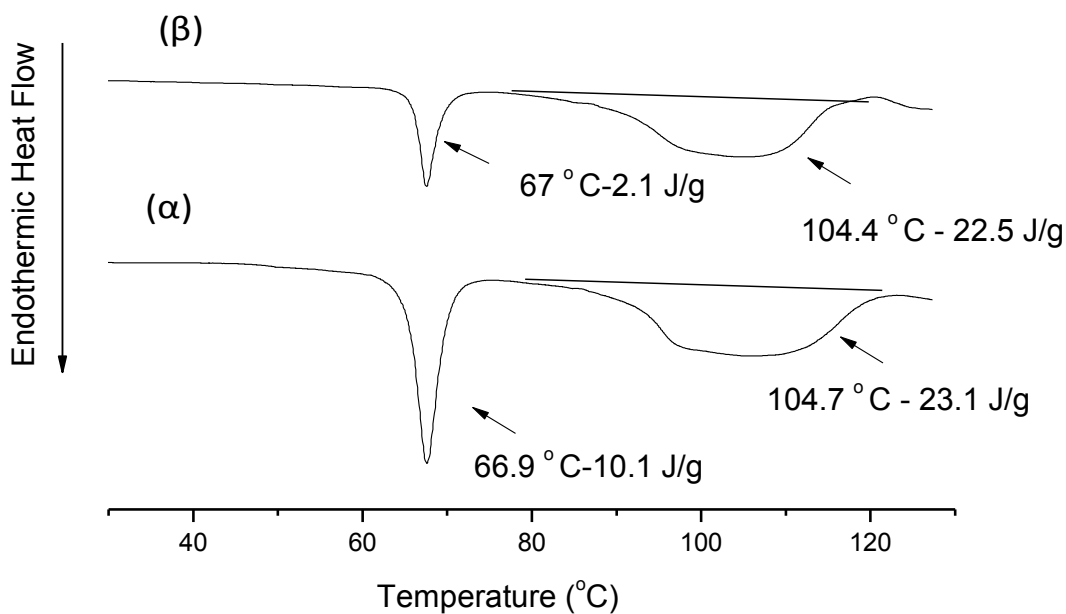
πιθανότατα οφείλεται στον υψηλό βαθμό κρυσταλλικότητάς των συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος. Ωστόσο, αν θεωρηθεί ότι η κρυσταλλικότητά των συμπλόκων σχετίζεται μόνο με τη θερμοκρασία διάσπασης και όχι με την ενθαλπία διάσπασής τους, η συγκεκριμένη ερμηνεία που δόθηκε από τους ερευνητές είναι αμφισβητήσιμη. Δεδομένου ότι τα λιπαρά οξέα όταν είναι σε στερεή μορφή έχουν ενθαλπία τήξης  $\sim 300$  J/g, ενώ στην περίπτωση των συμπλόκων η ενθαλπία είναι κατά πολύ μικρότερη (17-22 J/g), τα λιπαρά οξέα βρίσκονται σε μια μονομερική διάταξη μέσα στην έλικα της αμυλόζης, γεγονός που υποδεικνύει ότι τόσο η θερμοκρασία διάσπασης όσο και η ενθαλπία των συμπλόκων οφείλεται, κατά βάση, στη δομή των συμπλόκων.

Από τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι η θερμοκρασία διάσπασης των συμπλόκων εξαρτάται από το μήκος αλυσίδας του συμπλεγμένου λιπαρού οξέος καθώς και από το βαθμό ακορεστότητάς του, σε αντίθεση με την ενθαλπία διάσπασης των συμπλόκων η οποία όπως καταδείχθηκε είναι ανεξάρτητη τόσο του μήκους αλυσίδας όσο και του βαθμού ακορεστότητας των λιπαρών οξέων. Επίσης τα αποτελέσματα που ελήφθησαν από τη διαφορική θεμιδομετρία σάρωσης επιβεβαιώνουν τα δεδομένα που ελήφθησαν από τα φάσματα περίθλασης ακτίνων-X των συμπλόκων που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C και καταδεικνύουν την ημικρυσταλλική δομή των συμπλόκων ανεξαρτήτως της θερμοκρασίας παρασκευής τους.

Όπως προαναφέρθηκε, σύμφωνα με τους Karkalas et al. (1995), η πρώτη ενδόθερμη κορυφή που εμφανίζεται στα θερμογραφήματα των συμπλόκων αμυλόζης με μυριστικό, παλμιτικό και στεατικό οξύ πιθανότατα οφείλεται στη θερμοκρασία τήξης των ελεύθερων λιπαρών οξέων. Στις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με δεκανοϊκό, ελαϊκό και λινελαϊκό οξύ, προφανώς λόγω του μικρού μήκους αλυσίδας του δεκανοϊκού οξέος που το καθιστά εξαιρετικά ευκίνητο ενώ το ελαϊκό και το λινελαϊκό οξύ είναι υγρά σε θερμοκρασία δωματίου οπότε οποιαδήποτε περίσσεια των ελεύθερων λιπαρών οξέων που παρέμεινε στο σύμπλοκο απομακρύνθηκε κατά την κατεργασία των συμπλόκων με νερό ή και με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50). Ωστόσο στις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με μυριστικό, παλμιτικό και στεατικό οξύ, αν και τα δείγματα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) με σκοπό την απομάκρυνση της περίσσειας των ελεύθερων λιπαρών οξέων η πρώτη ενδόθερμη κορυφή είναι ορατή γεγονός που υποδεικνύει ότι πιθανότατα το διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) που χρησιμοποιήθηκε δεν κατάφερε να απομακρύνει αποτελεσματικά την περίσσεια των ελεύθερων λιπαρών οξέων. Προκειμένου να εξακριβωθεί η φύση αυτής της κορυφής και να διερευνηθεί η δυνατότητα απομάκρυνσης των ελεύθερων λιπαρών οξέων με διάφορους διαλύτες, τα σύμπλοκα αμυλόζης-στεατικού οξέος υπέστησαν κατεργασία με χλωροφόρμιο, διαιθυλαιθέρα, μεθανόλη και εξάνιο (Σχήματα 4.50, 4.51, 4.52 &

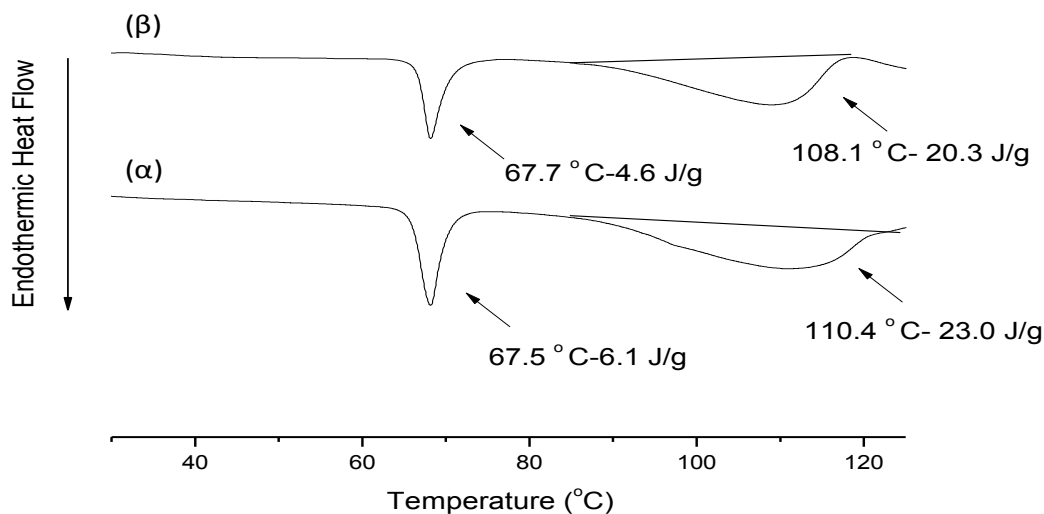


Σχήμα 4.50 Θερμογραφήματα συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος (α) ως έχει (β) μετά από κατεργασία με χλωροφόρμιο. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C και υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.

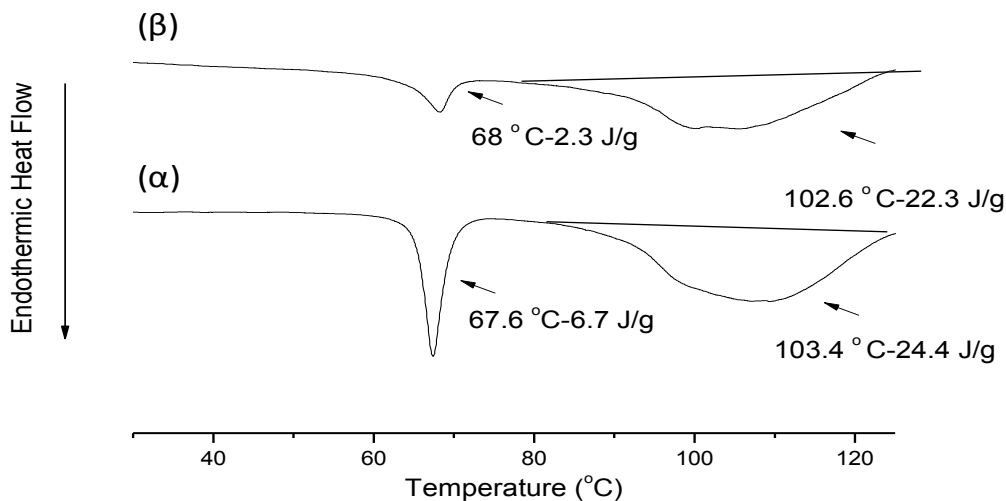


Σχήμα 4.51 Θερμογραφήματα συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος (α) ως έχει (β) μετά από κατεργασία με διαιθυλαιθέρα. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 50°C και υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.

4.53). Συγκεκριμένα, στα σύμπλοκα αμυλόζης-στεατικού οξέος (~600 mg) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C και υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50), προστέθηκαν 10 ml από τους παραπάνω διαλύτες και αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Τα 10 ml μεταφέρθηκαν σε δοκιμαστικό σωλήνα, φυγοκεντρήθηκαν και έπειτα οι διαλύτες εξατμίστηκαν σε ρεύμα αζώτου (Ενότητα 4.8.3).



Σχήμα 4.52 Θερμογραφήματα συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος (α) ως έχει (β) μετά από κατεργασία με μεθανόλη. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 70°C και υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.

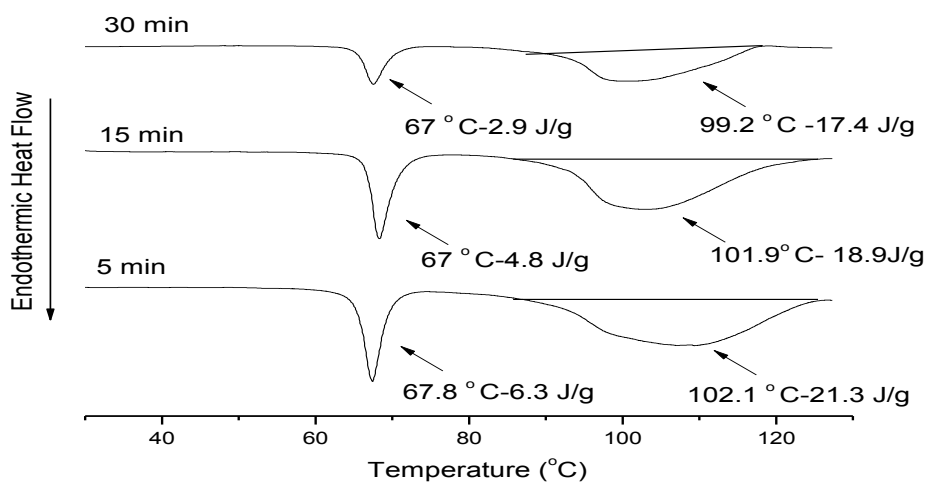


Σχήμα 4.53 Θερμογραφήματα συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος (α) ως έχει (β) μετά από κατεργασία με εξάνιο. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 50°C και υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.

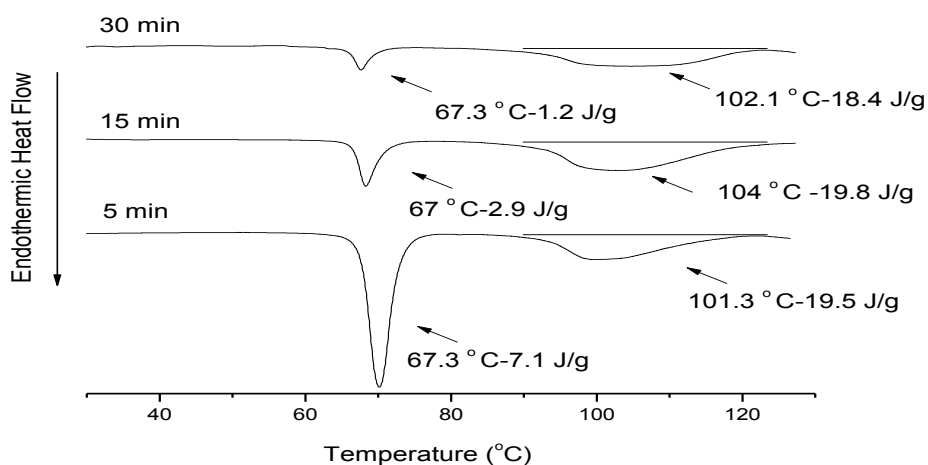
Παρατηρώντας τα θερμογραφήματα (Σχήματα 4.50, 4.51, 4.52 & 4.53), διαπιστώνεται ότι η πρώτη ενδόθερμη κορυφή τήξης μετά την επεξεργασία με τους παραπάνω διαλύτες εξακολουθεί να είναι ορατή. Ωστόσο, παρατηρείται μια μικρή μείωση στην ενθαλπία που σημαίνει ότι οι παραπάνω διαλύτες αφαίρεσαν αποτελεσματικά μέρος του ελεύθερου λιπαρού οξέος, το υπόλοιπο όμως παγιδεύτηκε μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης και δεν μπόρεσε να αποσπαστεί από τους διαλύτες. Επιπλέον, συγκρίνοντας τους διαλύτες μεταξύ τους, διαπιστώνεται ότι ο διαιθυλαιθέρας και το εξάνιο απομάκρυναν πιο αποτελεσματικά το ελεύθερο λιπαρό οξύ σε σχέση με τους άλλους διαλύτες. Παρόμοια, οι Gelders et al. (2004) μελέτησαν την συμπλοκοποίηση κλασμάτων αμυλόζης, με διαφορετικό βαθμό πολυμερισμού, με εικοσιδυανοϊκό (C22) οξύ και για την απομάκρυνση της περίσσειας των ελεύθερων λιπαρών οξέων χρησιμοποίησαν χλωροφόρμιο. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στην περίπτωση συμπλοκοποίησης των κλασμάτων αμυλόζης με βαθμό πολυμερισμού 400, το χλωροφόρμιο απομάκρυνε αποτελεσματικά το μη συμπλεγμένο λιπαρό οξύ, ενώ στην περίπτωση συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με βαθμό πολυμερισμού 20, 60 και 950 το χλωροφόρμιο δεν μπόρεσε να αφαιρέσει το μη συμπλεγμένο λιπαρό οξύ. Ωστόσο, οι συγγραφείς ανέφεραν ότι το χλωροφόρμιο απομάκρυνε αποτελεσματικά το μη συμπλεγμένο λιπαρό οξύ. Πιθανότατα η διαφορά αυτή να οφείλεται στο διαφορετικό βαθμό πολυμερισμού της αμυλόζης. Όπως αναφέρεται από τους Godet et al. (1993), η αλυσίδα αμυλόζης με βαθμό πολυμερισμού 20 θεωρείται ότι είναι πολύ κοντή και δεν μπορεί να συμπλοκοποιηθεί με λιπίδιο, ενώ οι Gelders et al. (2004) αναφέρουν ότι η αμυλόζη με βαθμό πολυμερισμού 60 δεν μπορεί να διαταχθεί στα περισσότερα οργανωμένα τύπου II σύμπλοκα.

Με βάση τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι η κατεργασία των συμπλόκων με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) δεν θεωρείται αποτελεσματική για την απομάκρυνση της περίσσειας των ελεύθερων λιπαρών οξέων και απαιτείται επιπλέον κατεργασία με διαλύτες όπως ο διαιθυλαιθέρας και η μεθανόλη. Ωστόσο τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι ακόμα και αυτή η διαδικασία αφαίρεσε μόνο ένα μέρος της περίσσειας των ελεύθερων λιπαρών οξέων καθώς το υπόλοιπο παρέμεινε στο σύστημα.

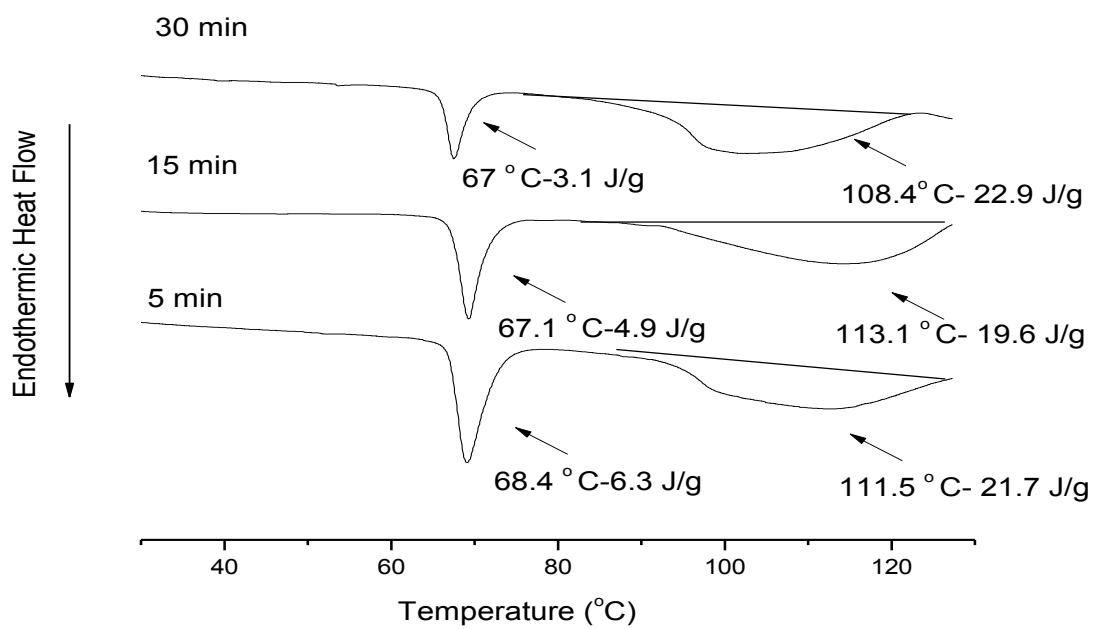
Στο Σχήμα 4.54, 4.55 & 4.56 απεικονίζονται τα θερμογραφήματα των συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C αντίστοιχα, όπου το στεατικό οξύ διαλυτοποιήθηκε για 5, 15 ή 30 min πριν τη συμπλοκοποίηση.



Σχήμα 4.54 Θερμογραφήματα συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30°C. Το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.



Σχήμα 4.55 Θερμογραφήματα συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 50°C. Το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.

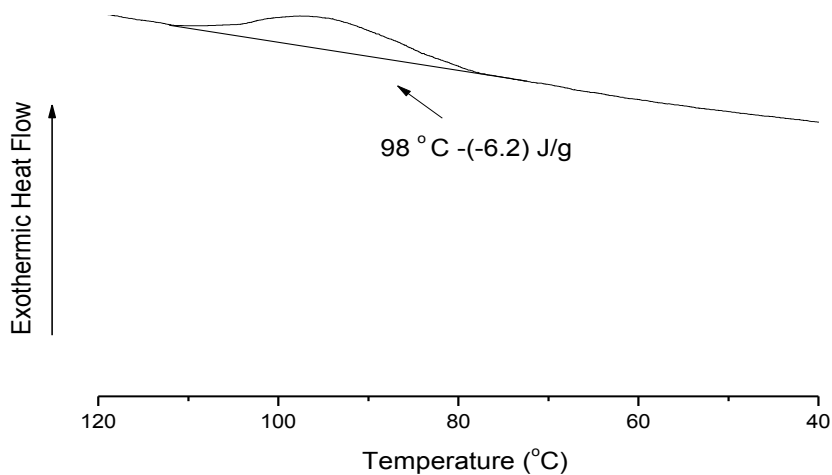


Σχήμα 4.56 Θερμογραφήματα συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 70°C. Το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.

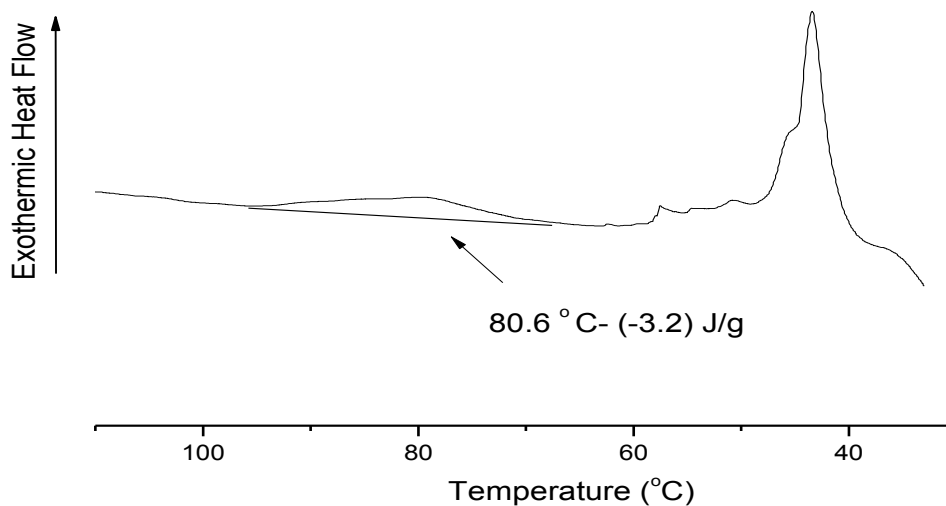
Παρατηρώντας τα θερμογραφήματα (Σχήματα 4.54, 4.55 & 4.56) διαπιστώνεται ότι όσο αυξάνεται ο χρόνος διαλυτοποίησής του λιπαρού οξέος πριν τη συμπλοκοποίηση τόσο μικρότερο είναι το εμβαδόν της πρώτης ενδόθερμης κορυφής τήξης του λιπαρού οξέος. Όπως προαναφέρθηκε (Ενότητα 4.2.1), πιθανότατα όσο αυξάνεται ο χρόνος διαλυτοποίησής του λιπαρού οξέος, το λιπαρό οξύ σχηματίζεται σε άλλη μορφή (π.χ. μικύλλια) που έχει ως αποτέλεσμα το στεατικό οξύ το οποίο δεν εγκλείεται μοριακά μέσα στην έλικα της αμυλόζης, να παγιδεύεται μηχανικά μεταξύ των ελίκων της. Τα αποτελέσματα αυτά είναι ταυτόσημα με τα δεδομένα που ελήφθησαν από τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X των αντίστοιχων συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος, όπου το εμβαδόν της κορυφής στις τιμές  $2\theta=21,7^\circ$  και  $23,8^\circ$  μειώθηκε με αύξηση του χρόνου διαλυτοποίησής του στεατικού οξέος. Επομένως, με βάση τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι ένα μέρος από το ελεύθερο στεατικό οξύ πιθανότατα παγιδεύεται μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης και οποιαδήποτε κατεργασία με πολικούς ή άπολους διαλύτες δεν μπορεί να απομακρύνει τα υπολείμματα του μη συμπλεγμένου στεατικού οξέος.

Κατά τη διεργασία της ψύξης, τα σύμπλοκα αμυλόζης με δεκανοϊκό και με παλμιτικό που παρασκευάστηκαν στους 70°C και στους 30°C αντίστοιχα, όπως και τα σύμπλοκα αμυλόζης-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30 ή 70°C χαρακτηρίστηκαν από εξώθερμες κορυφές

(Σχήματα 4.57, 4.58 & 4.59). Παρόμοια στα Σχήματα 4.60, 4.61 & 4.62 απεικονίζονται τα θερμογραφήματα των συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30 ή 50°C και των συμπλόκων αμυλόζης-λινελαϊκού οξέος (CLA) που παρασκευάστηκαν στους 70°C εμφάνισαν μια εξώθερμη κορυφή.

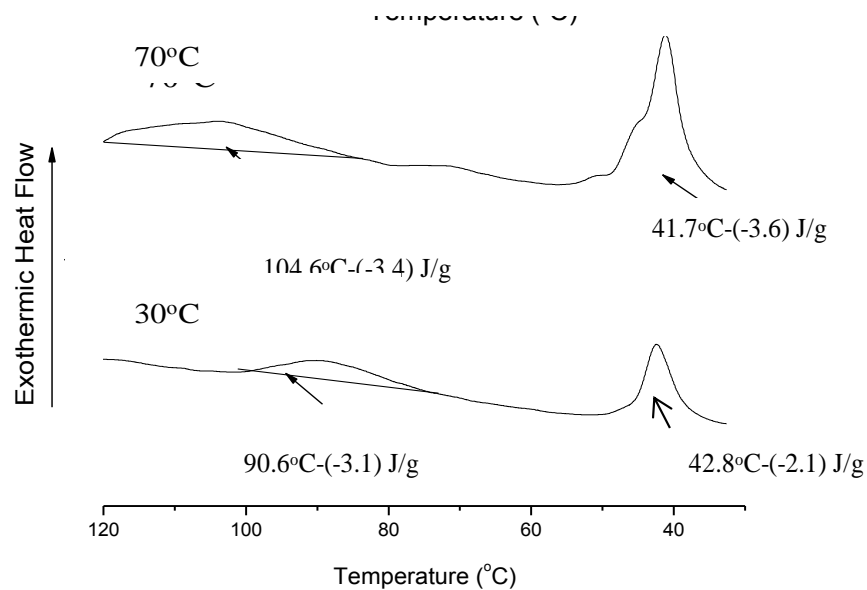


Σχήμα 4.57 Θερμογράφημα κατά την ψύξη συμπλόκου αμυλόζης-δεκανοϊκού οξέος που παρασκευάστηκε στις 70°C. Το σύμπλοκο υπέστη κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή του.

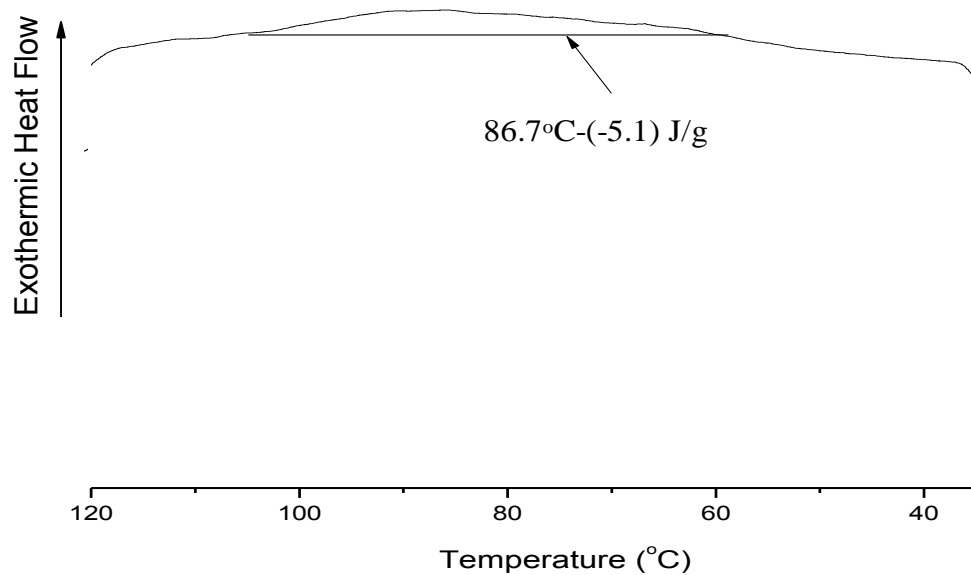


Σχήμα 4.58 Θερμογράφημα κατά την ψύξη συμπλόκου αμυλόζης-παλμιτικού οξέος που παρασκευάστηκε στις 30°C. Το σύμπλοκο υπέστη κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή του.

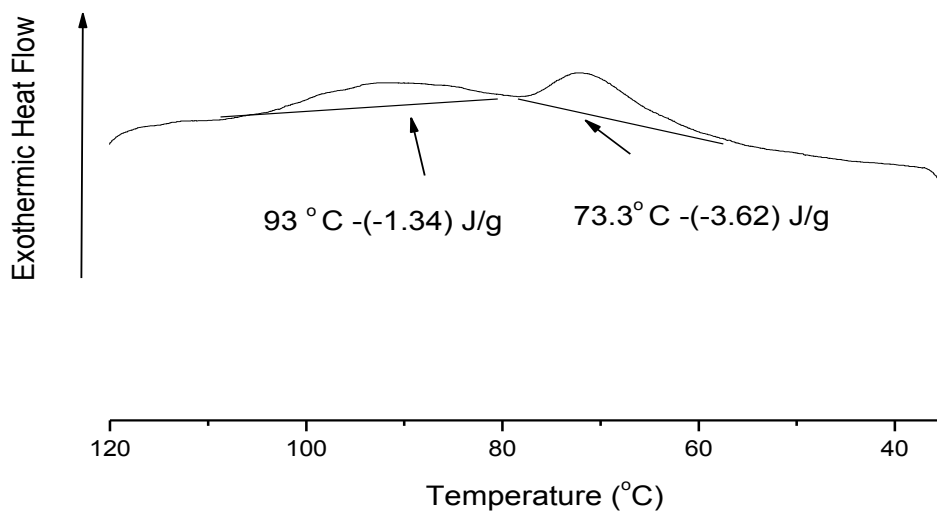




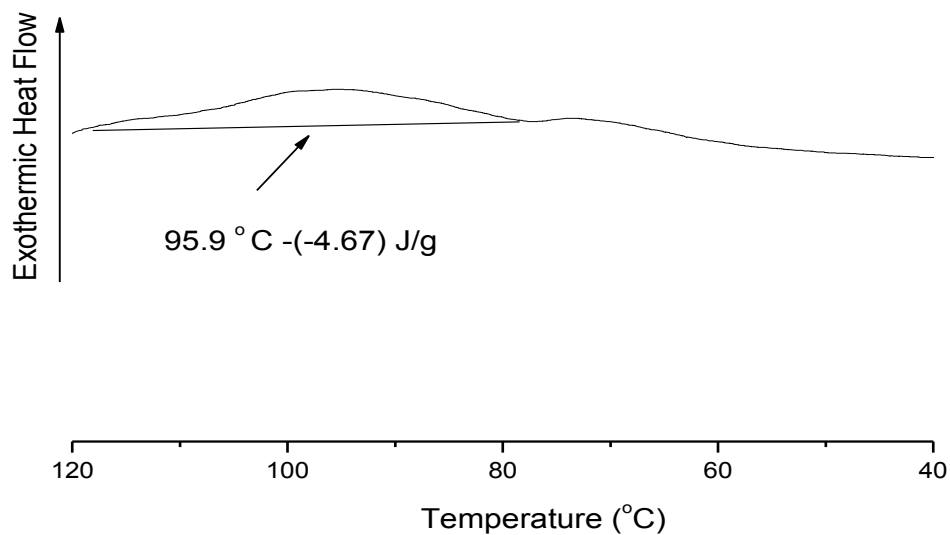
Σχήμα 4.59 Θερμογραφήματα κατά την ψύξη συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στις 30 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.



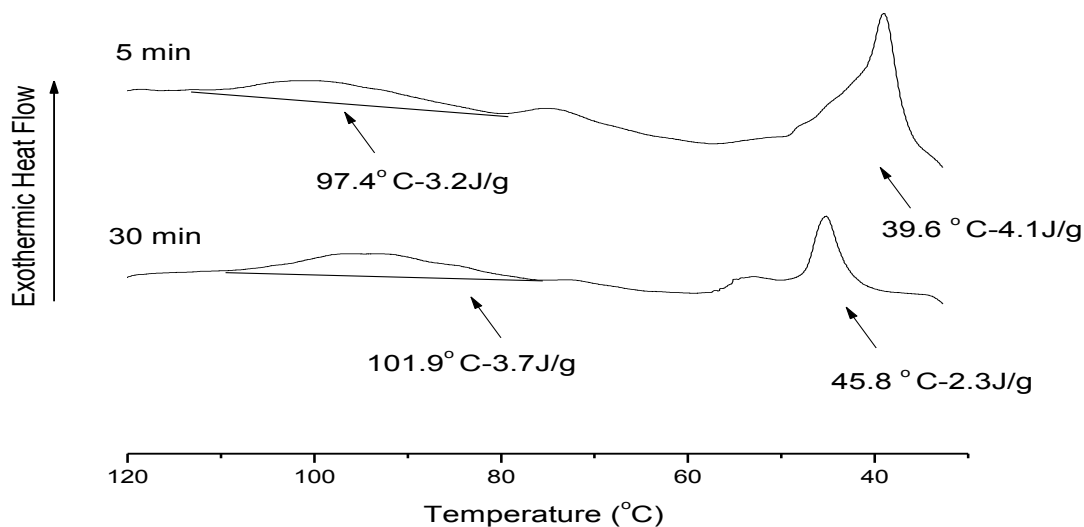
Σχήμα 4.60 Θερμογράφημα κατά την ψύξη συμπλόκου αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκε στους 30°C. Το σύμπλοκο υπέστη κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή του.



Σχήμα 4.61 Θερμογράφημα κατά την ψύξη συμπλόκου αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκε στους 50°C. Το σύμπλοκο υπέστη κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή του.



Σχήμα 4.62 Θερμογράφημα κατά την ψύξη συμπλόκου αμυλόζης-λινελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκε στους 70°C. Το σύμπλοκο υπέστη κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή του.



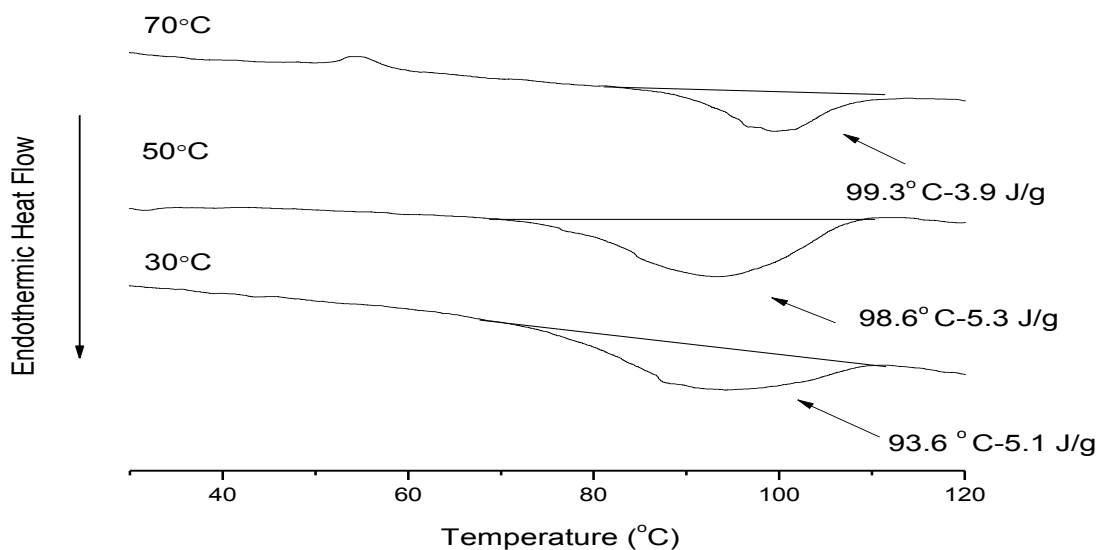
Σχήμα 4.63 Θερμογραφήματα κατά την ψύξη συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στις 70°C. Το στεατικό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5 ή 30 min. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.44 κατά την παρασκευή τους.

Παρατηρώντας τα θερμογραφήματα των συμπλόκων κατά την ψύξη διαπιστώνεται ότι οι θερμοκρασίες μετάπτωσης των συμπλόκων εμφανίστηκαν ~ 11 βαθμούς χαμηλότερα από τις αντίστοιχες θερμοκρασίες διάσπασης κατά τη θέρμανση. Η παρουσία αυτών των εξώθερμων κορυφών επιβεβαίωσε τον επανασχηματισμό των συμπλόκων και την επανακρυστάλλωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων. Όπως αναφέρεται από τους Biliaderis & Seneviratne (1990), η συμπλοκοποίηση μεταξύ αμυλόζης και ενός συμπλεκόμενου μορίου είναι αναστρέψιμη διαδικασία. Η ενθαλπία διάσπασης των συμπλόκων κατά την ψύξη εμφανίζεται να είναι κατά πολύ μικρότερη από την ενθαλπία κατά την θέρμανση. Όπως προαναφέρθηκε στο πειραματικό μέρος (Ενότητα 3.2.8), πριν την εξέταση των συμπλόκων με DSC, στο δείγμα προστίθεται 20 ml νερό. Επομένως, κατά τη θέρμανση το νερό δρά ως μεταφορέας θερμότητας στο δείγμα το οποίο βρίσκεται αρχικά σε κατάσταση αιωρήματος ή πολτού δημιουργώντας ένα ετερογενές σύστημα, ενώ μετά την ολοκλήρωση της θέρμανσης και κατά τη διάρκεια της ψύξης έχει ήδη διασπαρεί σε όλη τη μάζα του δείγματος και συμμετέχει στον επανασχηματισμό του συμπλόκου δημιουργώντας ένα ομογενές σύστημα. Στο Σχήμα 4.63 απεικονίζεται το θερμογράφημα συμπλόκου αμυλόζης-στεατικού οξέος όπου το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5 ή 30 min. Παρατηρώντας τις ενθαλπίες ελεύθερου στεατικού οξέος, επιβεβαιώνεται ο παραπάνω ισχυρισμός ότι ένας μέρος του

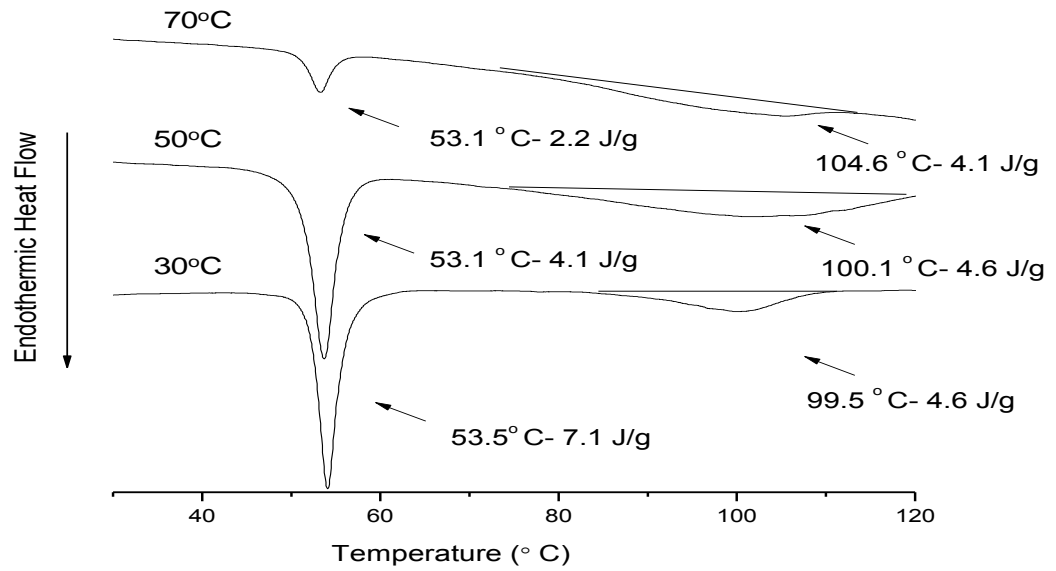
ελεύθερου λιπαρού οξέος απομακρύνθηκε με τη κατεργασία των συμπλόκων με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50), ενώ το υπόλοιπο συγκρατήθηκε μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης.

#### 4.3.2. Θερμική ανάλυση των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (pregel) με λιπαρά οξέα

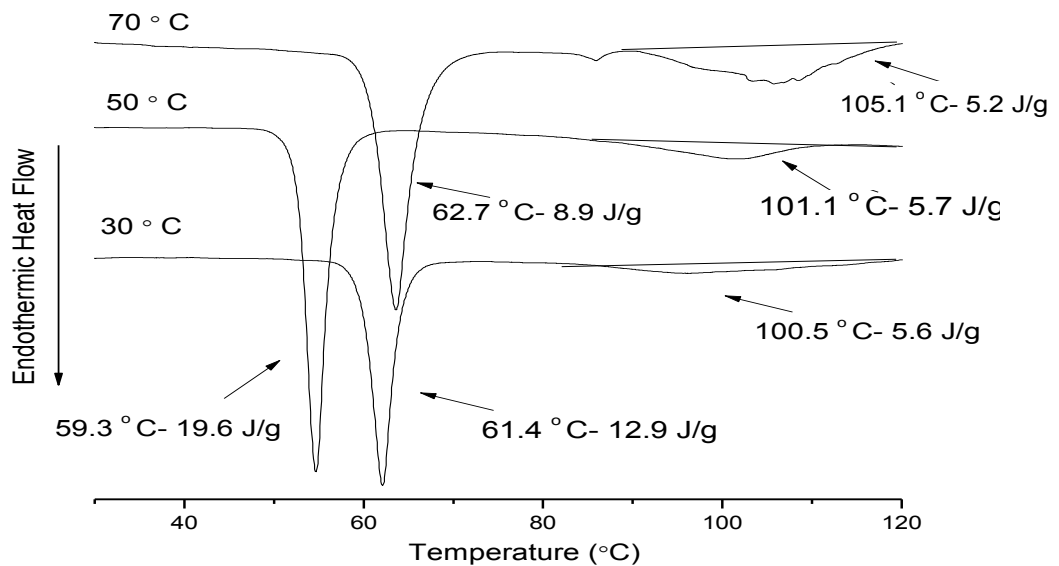
Στα Σχήματα 4.64, 4.65, 4.66, 4.67 & 4.68 παρουσιάζονται τα θερμογραφήματα των συμπλόκων pregel-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Στο Πίνακα 4.4 παρουσιάζονται οι θερμοκρασίες έναρξης της διάσπασης των συμπλόκων, οι θερμοκρασίες διάσπασης και οι θερμοκρασίες περάτωσης της διάσπασης των συμπλόκων.



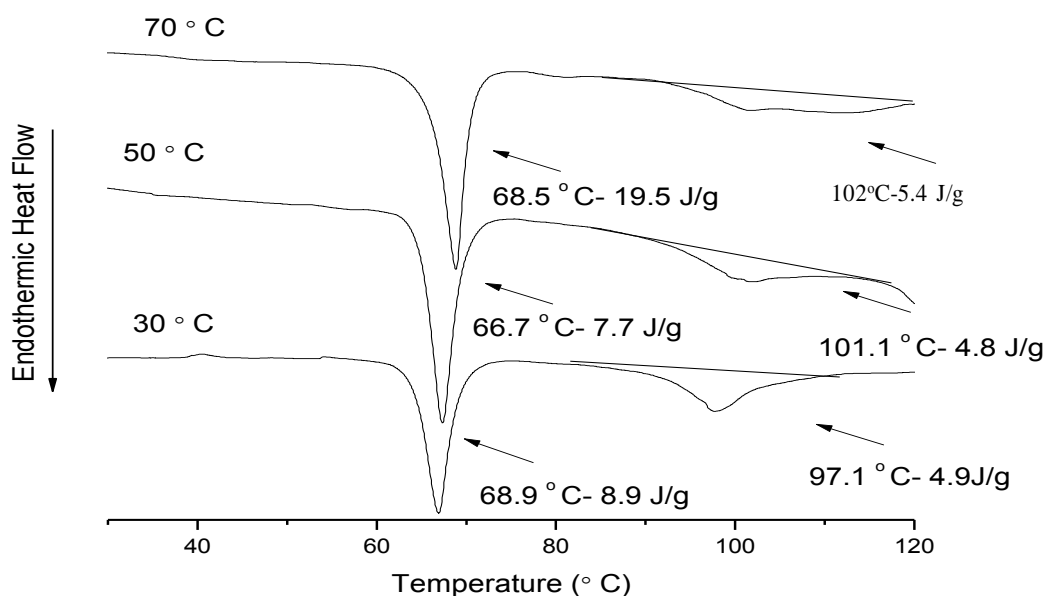
Σχήμα 4.64 Θερμογραφήματα συμπλόκων pregel-δεκανοϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρασή τους.



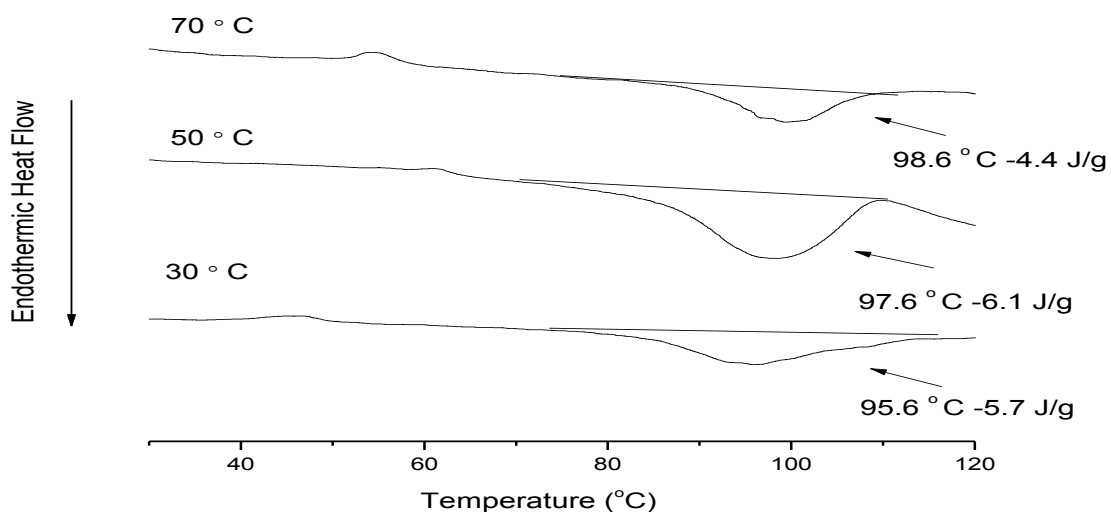
Σχήμα 4.65 Θερμογραφήματα συμπλόκων pregel-μυριστικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή τους.



Σχήμα 4.66 Θερμογραφήματα συμπλόκων pregel-παλμιτικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή τους.



Σχήμα 4.67 Θερμογραφήματα συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή τους.



Σχήμα 4.68 Θερμογραφήματα συμπλόκων pregel-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή τους.

Πίνακας 4.4 Θερμοκρασίες έναρξης διάσπασης των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού με τα λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ), θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων pregel αμύλου καλαμποκιού με τα λιπαρά οξέα και θερμοκρασίες περάτωσης διάσπασης των συμπλόκων pregel με τα λιπαρά οξέα. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70 °C.

Σύμπλοκο	Θερμοκρασία έναρξης διάσπασης των συμπλόκων (°C)	Θερμοκρασία διάσπασης των συμπλόκων (°C)	Θερμοκρασία περάτωσης διάσπασης των συμπλόκων (°C)
Pregel-δεκανοϊκό οξύ			
30 °C	69,4(±0,2)	93,6(±0,4)	111,2(±0,3)
50 °C	69,6(±0,3)	98,6(±0,2)	110,1(±0,2)
70 °C	67,3(±0,4)	99,3(±0,1)	110,3(±0,4)
Pregel-μυριστικό οξύ			
30 °C	88,2(±0,1)	99,5(±0,3)	110,2(±0,2)
50 °C	78,2(±0,2)	100,1(±0,2)	119,9(±0,3)
70 °C	78,4(±0,2)	104,6(±0,1)	116,2(±0,1)
Pregel-παλμιτικό οξύ			
30 °C	83,4(±0,1)	100,5(±0,3)	119,3(±0,4)
50 °C	87,1(±0,3)	101,1(±0,4)	113,2(±0,3)
70 °C	88,3(±0,2)	105,1(±0,2)	120,2(±0,2)
Pregel-στεατικό οξύ			
30 °C	83,4(±0,3)	97,1(±0,1)	113,1(±0,3)
50 °C	87,5(±0,4)	101,4(±0,2)	119,5(±0,2)
70 °C	88,3(±0,3)	102,0(±0,3)	113,2(±0,3)
Pregel-ελαϊκό οξύ			
30 °C	73,2(±0,1)	93,5(±0,3)	117,7(±0,4)
50 °C	72,5(±0,2)	97,6(±0,1)	112,6(±0,4)
70 °C	74,1(±0,3)	98,6(±0,2)	111,2(±0,2)

Στα θερμογραφήματα των συμπλόκων pregel με τα λιπαρά οξέα (Σχήματα 4.64, 4.65, 4.66, 4.67 & 4.68) εμφανίζονται δύο ενδόθερμες κορυφές διάσπασης. Η πρώτη ενδόθερμη κορυφή πιθανότατα οφείλεται στη θερμοκρασία τήξης του μη συμπλεγμένου λιπαρού οξέος (Tufvesson et al., 2003b; Godet et al., 1995a,b), δεδομένου ότι το σημείο τήξης του μυριστικού, παλμιτικού και στεατικού οξέος εμφανίζεται περίπου στους 54, 62, και 68°C, αντίστοιχα. Η δεύτερη κορυφή αντιστοιχεί στη

θερμοκρασία διάσπασης των συμπλόκων και είναι ευρεία που υποδηλώνει την ημικρυσταλλική δομή των συμπλόκων, δηλαδή την ύπαρξη συστήματος που αποτελείται είτε από έλικες αμυλόζης μη διατεταγμένες (τυχαίες) στο χώρο, είτε από έλικες αμυλόζης που είναι διευθετημένες στο χώρο και σχηματίζουν διατεταγμένες δομές (αναδιπλωμένες λαμέλλες-folded lamellae), δηλ. Κρυσταλλίτες, και είτε από έλικες αμυλόζης όπου ένα τμήμα τους είναι τυχαία διευθετημένο στο χώρο και το άλλο συμμετέχει στη δομή ενός κρυσταλλίτη (fringed micelles). Αναφορικά με τις ενδόθερμες κορυφές οι Tufvesson et al. (2003b) αναφέρουν ότι τα σύμπλοκα αμυλόζης-λιπαρών οξέων εμφανίζουν τρεις ενδόθερμες κορυφές: η πρώτη ενδόθερμη κορυφή αντιστοιχεί σε τήξη ελεύθερου λιπαρού οξέος (<70°C), η δεύτερη ενδόθερμη κορυφή αντιστοιχεί σε διάσπαση συμπλόκων «τύπου I» (άμορφα) και εμφανίζεται σε ένα εύρος θερμοκρασιών μεταξύ 90 έως 104°C και η τρίτη ενδόθερμη κορυφή αντιστοιχεί σε διάσπαση συμπλόκων «τύπου II» (ημικρυσταλλικά) και εμφανίζονται σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 104°C. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρθηκαν και από άλλους ερευνητές (Siswoyo et al., 2002; Seneviratne & Biliaderis, 1991; Raphaelides & Karkalas, 1988).

Στη περίπτωση των συμπλόκων pregel-δεκανοϊκού οξέος (Σχήμα 4.64), δεν ανιχνεύθηκαν οι ενδόθερμες κορυφές τήξης του λιπαρού, καθώς τα λιπαρά οξέα με μήκος αλυσίδας των 10 ή λιγότερων ατόμων άνθρακα, εμφανίζονται να είναι πιο ευδιάλυτα και πιο ευκίνητα σε σχέση με τα άλλα κορεσμένα λιπαρά οξέα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία. Παρόμοια, στην περίπτωση συμπλοκοποίησης του pregel με το ελαϊκό οξύ (Σχήμα 4.68), η πρώτη ενδόθερμη κορυφή δεν εμφανίζεται καθώς το ελαϊκό οξύ είναι υγρό σε θερμοκρασία δωματίου.

Όπως προαναφέρθηκε (Ενότητα 4.2.2) στα φάσματα περίθλασης ακτίνων X, όλα τα σύμπλοκα ανεξάρτητα της θερμοκρασίας παρασκευής τους (30, 50 ή 70°C) εμφάνισαν ημικρυσταλλική δομή. Παρόμοια, παρατηρώντας τις θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων pregel με τα λιπαρά οξέα επιβεβαιώνεται η ημικρυσταλλική δομή των συμπλόκων. Επίσης, τα αποτελέσματα από τη διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης έδειξαν ότι, αυξάνοντας το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας των λιπαρών οξέων, η θερμοκρασία διάσπασης των συμπλόκων αυξήθηκε. Αυτό πιθανότατα συμβαίνει λόγω της μικρότερης υδροφιλικότητας των μακρύτερων λιπιδικών αλυσίδων που τους επιτρέπει να διευθετηθούν μέσα στην υδρόφοβη ελικοειδή κοιλότητα. Παρόμοια εξήγηση δόθηκε και στις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα (Ενότητα 4.3.1). Επίσης, παρατηρώντας τα θερμογραφήματα των συμπλόκων, διαπιστώνεται ότι όσο αυξάνεται η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων, αυξάνεται η θερμοκρασία διάσπασής τους. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με τους Eliasson (1994), Karkalas et al. (1995) και Tufvesson et al. (2003a,b). Παρατηρώντας το Σχήμα 4.68, συμπεραίνεται ότι η θερμοκρασία διάσπασης των συμπλόκων pregel-ελαϊκού οξέος είναι χαμηλότερη σε σχέση με αυτήν των



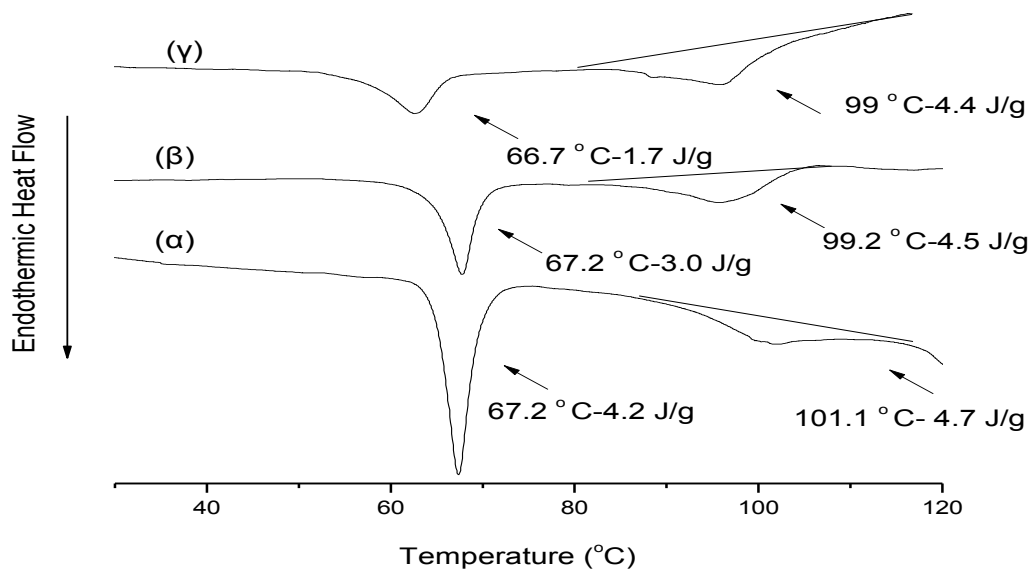
συμπλόκων με το αντίστοιχο κορεσμένο λιπαρό οξύ (στεατικό οξύ). Σύμφωνα με τους Eliasson & Krog (1985), ο αριθμός των διπλών δεσμών στην αλειφατική αλυσίδα επηρεάζει σημαντικά τη θερμική σταθερότητα των συμπλόκων. Όσο μεγαλύτερος είναι ο βαθμός ακορεστότητας, τόσο μικρότερη είναι η θερμική σταθερότητα των συμπλόκων όπως αναφέρεται από τους Karkalas et al. (1995).

Αναφορικά με τις ενθαλπίες διάσπασης των συμπλόκων, παρατηρώντας τα θερμογραφήματα διαπιστώνεται ότι οι ενθαλπίες διαφέρουν ελάχιστα μεταξύ τους. Οι Tufvesson et al. (2003b), αναφέρουν ότι η ενθαλπία αντικατοπτρίζει την ποσότητα των συμπλόκων και ότι λιπαρό οξύ με την υψηλότερη διαλυτότητα σε σχέση με άλλα, π.χ. το μυριστικό οδηγεί στο σχηματισμό μεγαλύτερης ποσότητας συμπλόκων. Όπως προαναφέρθηκε στις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα (Ενότητα 4.3.1), η ενθαλπία δεν σχετίζεται με την διαλυτότητα των λιπαρών οξέων και με την κρυσταλλικότητά των παραγόμενων συμπλόκων. Επομένως, δεδομένου ότι τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στις ίδιες συνθήκες αναμένεται να εμφανίζουν παρόμοιες τιμές ενθαλπίες. Συγκρίνοντας τα θερμογραφήματα των συμπλόκων αμυλόζης-κορεσμένων και ακόρεστων λιπαρών οξέων με τα αντίστοιχα θερμογραφήματα των συμπλόκων με pregel, διαπιστώνεται ότι σε όλες τις περιπτώσεις τα σύμπλοκα παρουσίασαν παρόμοια συμπεριφορά. Επίσης, λαμβάνοντας υπόψη ότι η περιεκτικότητά του pregel σε διαθέσιμη αμυλόζη (αμυλόζη που μπορεί να συμπλεχθεί με τα λιπαρά οξέα και να σχηματίσει σύμπλοκα) είναι ~22% (Ενότητα 4.1.1), η ενθαλπία διάσπασης των συμπλόκων και στις δύο περιπτώσεις συμπλοκοποίησης (αμυλόζη & pregel) ήταν συγκρίσιμη. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνουν την αποτελεσματική συμπλοκοποίηση της αμυλόζης ανεξάρτητα της παρουσίας ή μη της αμυλοπηκτίνης.

Επομένως, με βάση τα παραπάνω, η συμπλοκοποίηση του pregel με τα λιπαρά οξέα εξαρτάται από τη θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων, από το μήκος αλυσίδας και το βαθμό ακορεστότητας των λιπαρών οξέων ενώ η ενθαλπία διάσπασης των συμπλόκων είναι ανεξάρτητη της κρυσταλλικότητάς και της διαλυτότητας των λιπαρών οξέων. Επίσης, τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι η παρουσία της αμυλοπηκτίνης δεν παρεμπόδισε το σχηματισμό των συμπλόκων pregel με τα λιπαρά οξέα.

Όπως φαίνεται στα θερμογραφήματα των συμπλόκων pregel με μυριστικό, παλμιτικό & στεατικό οξύ (Σχήματα 4.65, 4.66 & 4.67) ακόμη και αν τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50), η πρώτη ενδόθερμη κορυφή του λιπαρού οξέος εξακολουθεί να είναι ορατή γεγονός που αποδεικνύει ότι η συγκεκριμένη κατεργασία δεν απομάκρυνε αποτελεσματικά τα ελεύθερα λιπαρά οξέα. Με σκοπό να διευκρινιστεί η φύση αυτής της κορυφής, τα σύμπλοκα pregel-στεατικού οξέος που υπέστησαν κατεργασία κατά τη συμπλοκοποίηση με διάλυμα

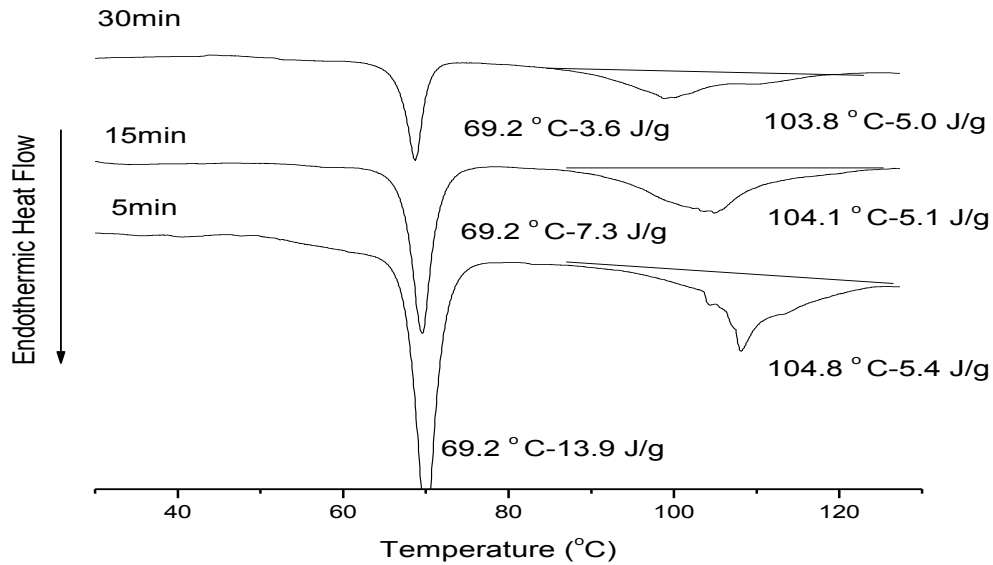
αιθανόλης/νερού (50/50), υπέστησαν επανεκατεργασία με εξάνιο και χλωροφόρμιο (Σχήμα 4.69). Συγκεκριμένα, σε ποσότητες (~ 0,6 g) δείγματος του συμπλόκου pregel-στεατικού οξέος αναμίχθηκαν με 10ml από τους παραπάνω διαλύτες και αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Κατόπιν, το υπερκείμενο υγρό μεταφέρθηκε σε δοκιμαστικό σωλήνα, φυγοκεντρήθηκε και έπειτα οι διαλύτες εξατμίστηκαν σε ρεύμα αζώτου (Ενότητα 4.8.3).



Σχήμα 4.69 Θερμογραφήματα συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή τους (α) και έπειτα υπέστησαν επανεκατεργασία με χλωροφόρμιο (β) και με εξάνιο (γ). Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.

Τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι η πρώτη ενδόθερμη κορυφή ήταν ακόμα ορατή, αλλά παρατηρήθηκε μια μικρή μείωση στην ενθαλπία, η οποία ήταν μεγαλύτερη στην περίπτωση που χρησιμοποιήθηκε το εξάνιο. Πιθανότατα, το εξάνιο, ως πιο δραστικός διαλύτης, απομάκρυνε πιο αποτελεσματικά το ελεύθερο λιπαρό οξύ, αλλά δεν μπόρεσε να αφαιρέσει το παγιδευμένο λιπαρό οξύ το οποίο εγκλωβίστηκε μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης. Όσον αφορά στην ενδόθερμη κορυφή των συμπλόκων, δεδομένου ότι η ενθαλπία παρέμεινε σχεδόν η ίδια, αποδεικνύεται ότι οι διαλύτες απομάκρυναν μόνο το ελεύθερο (μη συμπλεγμένο) λιπαρό οξύ. Στο Σχήμα 4.70 απεικονίζονται θερμογραφήματα συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) κατά την παρασκευή τους και κατόπιν υπέστησαν επανεκατεργασία με μεθανόλη (απόλυτη). Συγκεκριμένα, ποσότητες (~ 0,6 g) δείγματος του συμπλόκου pregel-στεατικού οξέος αναμίχθηκαν υπό συνεχή ανάδευση με 10ml μεθανόλης για 5 ή 15 ή 30min (Σχήμα

4.70) και κατόπιν φυγοκεντρήθηκαν και τα ιζήματα αφέθηκαν να ξηραθούν υπό συνεχή διέλευση ρεύματος αέρα.



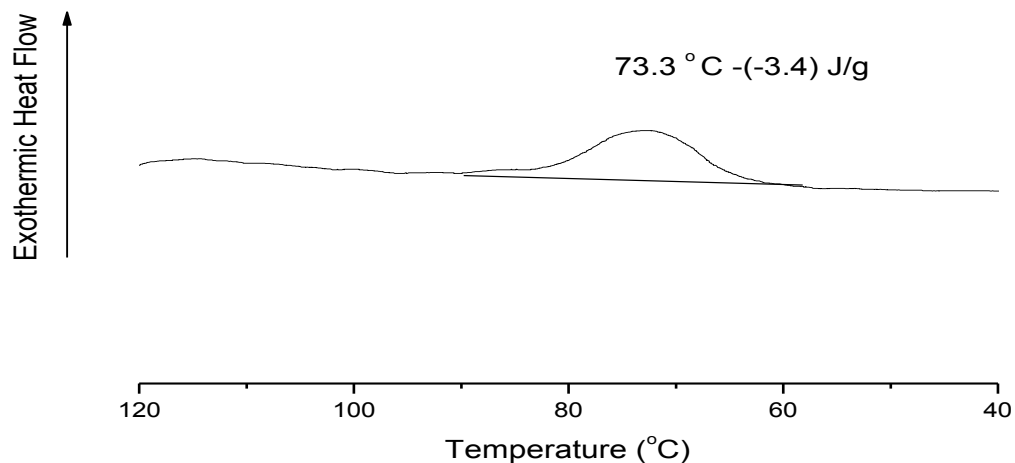
Σχήμα 4.70 Θερμογραφήματα συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή τους και κατόπιν αναμίχθηκαν με μεθανόλη για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 50°C.

Παρατηρώντας το Σχήμα 4.70, συμπεραίνεται ότι σε όλες τις περιπτώσεις οι ενδόθερμες κορυφές των λιπαρών οξέων παρέμειναν, με μικρότερο όμως εμβαδόν γεγονός που αποτελεί ένδειξη ότι ένα μέρος του λιπαρού οξέος απομακρύνθηκε αποτελεσματικά, ενώ το υπόλοιπο παγιδεύτηκε μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης. Επίσης, στα θερμογραφήματα των συμπλόκων, παρατηρείται ότι η ενθαλπία διάσπασης των συμπλόκων παρέμεινε η ίδια, ωστόσο, παρατηρείται ότι η ενδόθερμη κορυφή διάσπασης των συμπλόκων ήταν λιγότερο ευρεία σε σχέση με τις ενθαλπίες των συμπλόκων με στεατικό οξύ που δεν υπέστησαν κατεργασία με μεθανόλη (Σχήμα 4.70). Η διαφορά αυτή πιθανότατα οφείλεται στην αφυδάτωση που προκάλεσε η μεθανόλη στο σύμπλοκο και οδήγησε στο σχηματισμό πιο συμπαγούς κρυσταλλικής δομής, κάτι που παρατηρήθηκε από τους Raphaelides & Karkalas (1988).

Με βάση τα παραπάνω, συμπεραίνεται ότι το στεατικό οξύ πιθανότατα παγιδεύεται μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης και οποιαδήποτε κατεργασία με διάφορους διαλύτες δεν μπορεί να απομακρύνει τα υπολείμματα του μη συμπλεγμένου στεατικού οξέος. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν στις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με στεατικό οξύ (Ενότητα 4.3.1), το οποίο υπέστη κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) κατά την παρασκευή του και υπέστη επανακατεργασία με διαλύτες όπως εξάνιο, χλωροφόρμιο, διαιθυλαιθέρα και μεθανόλη. Με

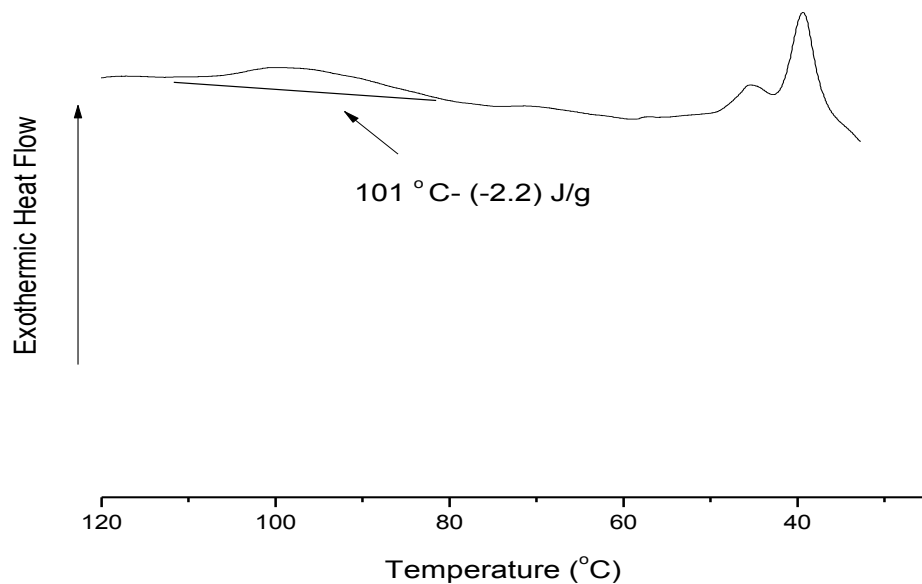
δεδομένο το γεγονός ότι οι παραπάνω διαλύτες απομάκρυναν μόρια ελεύθερων λιπαρών οξέων που δεν απομακρύνθηκαν μετά από τη κατεργασία των συμπλόκων με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50), κρίνεται ίσως απαραίτητη κατά την παρασκευή των συμπλόκων η επιπλέον κατεργασία τους με διαλύτες, όπως το χλωροφόρμιο και το εξάνιο, καθώς αποδείχθηκαν πιο αποτελεσματικοί στην απομάκρυνση των ελεύθερων λιπαρών οξέων.

Κατά τη διεργασία της ψύξης, τα θερμογραφήματα των συμπλόκων pregel με δεκανοϊκό & στεατικό οξύ που παρασκευάστηκαν στους 30 ή 70°C εμφάνισαν μια εξώθερμη κορυφή (Σχήματα 4.71 & 4.72). Στο Σχήμα 4.73 απεικονίζονται θερμογραφήματα των συμπλόκων pregel με στεατικό οξύ, στο οποίο προστέθηκε μεθανόλη και αναμίχθηκε για 5, 15 ή 30 min.

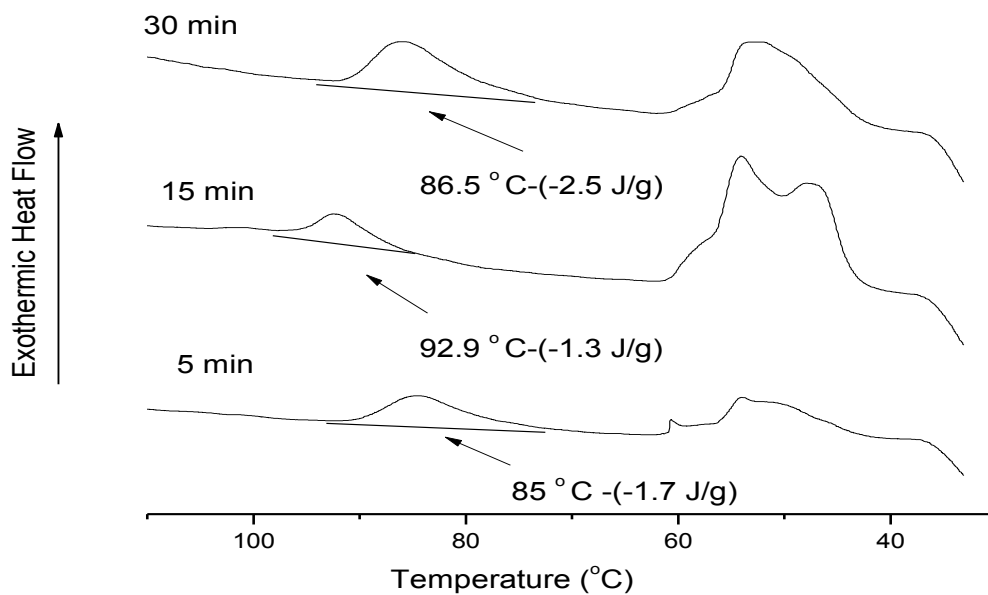


Σχήμα 4.71 Θερμογράφημα κατά την ψύξη συμπλόκου pregel-δεκανοϊκού οξέος που υπέστη κατεργασία στους 30°C. Το σύμπλοκο υπέστη κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή του.

Με βάση τα Σχήματα 4.71 & 4.72, διαπιστώνεται ότι η εξώθερμη κορυφή παρατηρήθηκε περίπου 10 έως 15°C χαμηλότερα από την αντίστοιχη κορυφή διάσπασης στη θέρμανση και επιβεβαίωσε τον επανασχηματισμό των συμπλόκων. Επίσης, η ενθαλπία διάσπασης των συμπλόκων κατά την ψύξη εμφανίζεται να είναι κατά πολύ μικρότερη από την ενθαλπία κατά την θέρμανση. Παρατηρώντας στο Σχήμα 4.73, διαπιστώνεται ότι όσο αυξάνεται ο χρόνος ανάδευσης των συμπλόκων με τη μεθανόλη, το εμβαδόν της κορυφής μετάπτωσης του ελεύθερου λιπαρού οξέος μειώνεται, γεγονός που επιβεβαιώνει ότι μέρος του λιπαρού οξέος παγιδεύτηκε μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης.



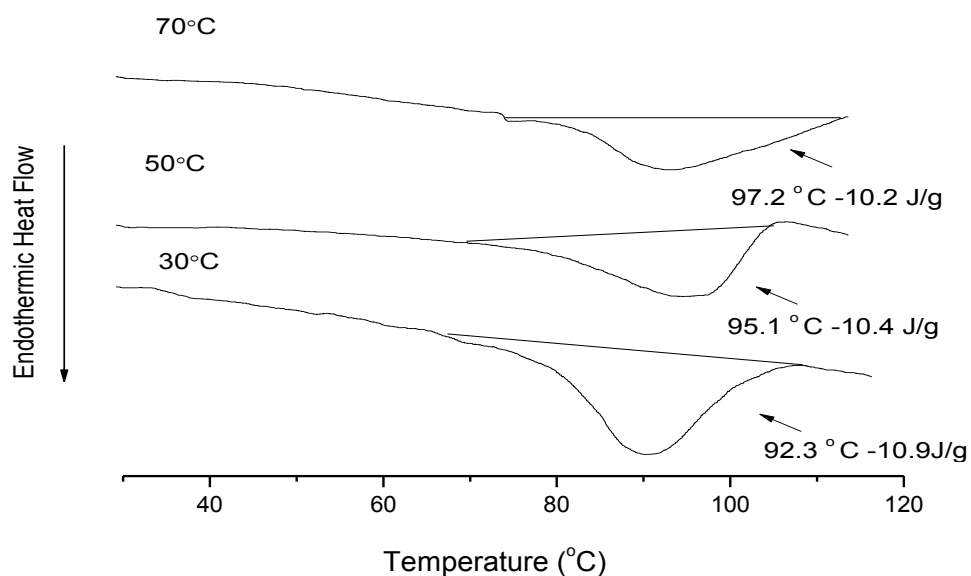
Σχήμα 4.72 Θερμογράφημα κατά την ψύξη συμπλόκου pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκε στους 70°C. Το σύμπλοκο υπέστη κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή του.



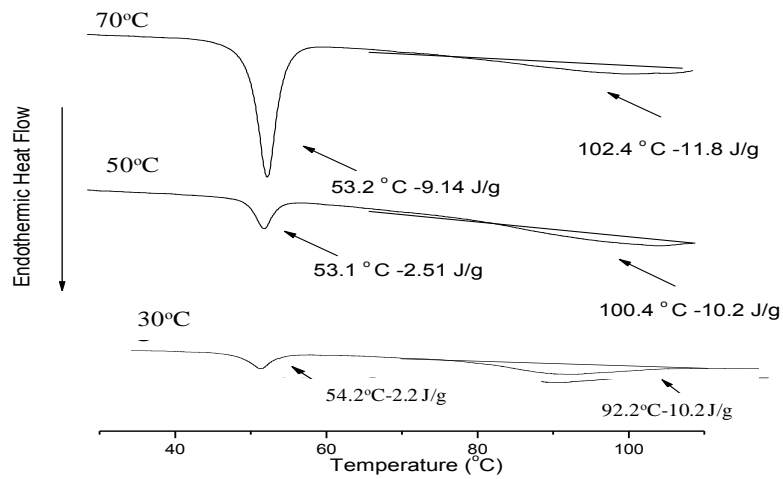
Σχήμα 4.73 Θερμογραφήματα κατά την ψύξη συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.64 κατά την παρασκευή τους και κατόπιν αναμίχθηκαν με μεθανόλη για 5, 15 ή 30 min. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 50°C.

### 4.3.3. Θερμική ανάλυση των συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης (Hylon VII)-λιπαρών οξέων

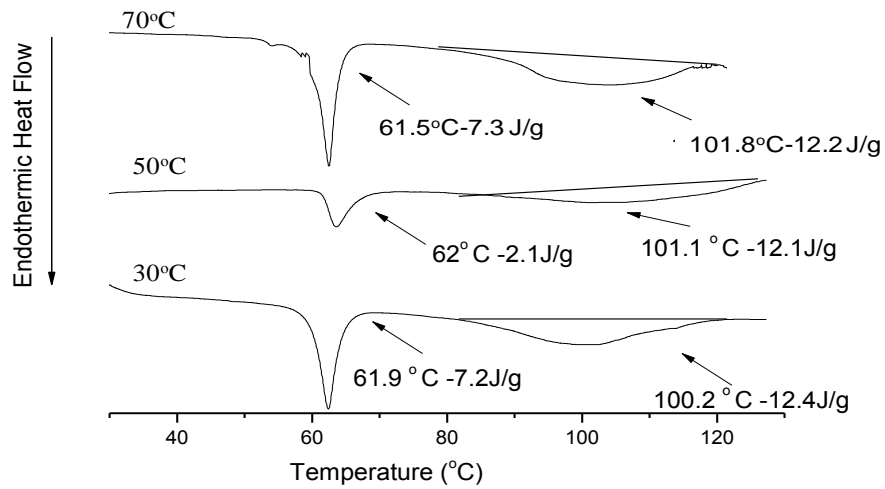
Στα Σχήματα 4.74, 4.75, 4.76, 4.77 & 4.78 παρουσιάζονται τα θερμογραφήματα των συμπλόκων Hylon VII με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Στον Πίνακα 4.5 παρουσιάζονται οι θερμοκρασίες έναρξης της διάσπασης των συμπλόκων, οι θερμοκρασίες διάσπασης και οι θερμοκρασίες περάτωσης της διάσπασης των συμπλόκων.



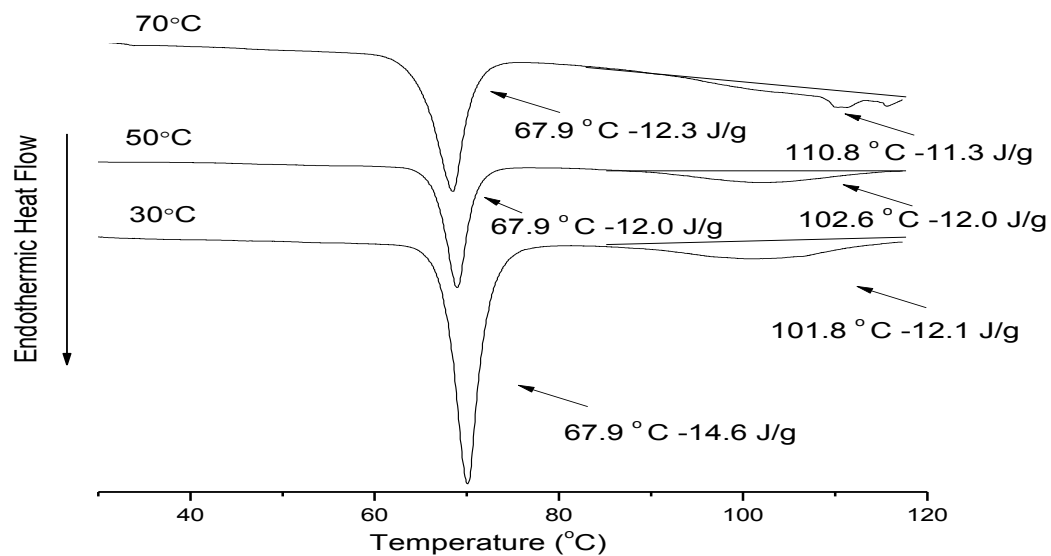
Σχήμα 4.74 Θερμογραφήματα συμπλόκων Hylon VII-δεκανοϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70 °C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους .



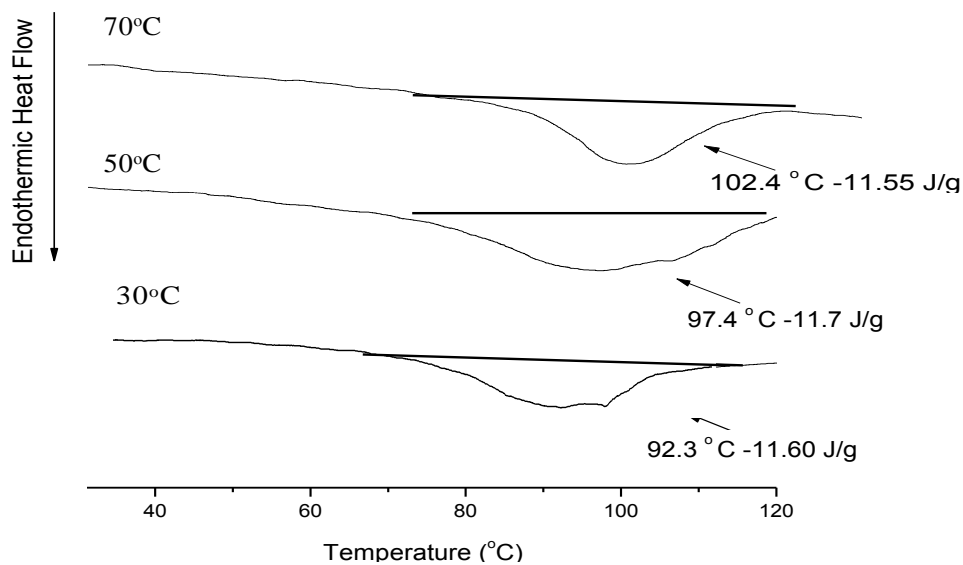
Σχήμα 4.75 Θερμογραφήματα συμπλόκων Hylon VII-μυριστικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30 ή 50 °C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.74 κατά την παρασκευή τους.



Σχήμα 4.76 Θερμογραφήματα συμπλόκων Hylon VII-παλμιτικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70 °C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.74 κατά την παρασκευή τους.



Σχήμα 4.77 Θερμογραφήματα συμπλόκων Hylon VII-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.74 κατά την παρασκευή τους.



Σχήμα 4.78 Θερμογραφήματα συμπλόκων Hylon VII-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.74 κατά την παρασκευή τους.



Πίνακας 4.5 Θερμοκρασίες έναρξης διάσπασης των συμπλόκων Hylon VII με τα λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ), θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων Hylon VII με τα λιπαρά οξέα και θερμοκρασίες περάτωσης διάσπασης των συμπλόκων Hylon VII με τα λιπαρά οξέα. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70 °C.

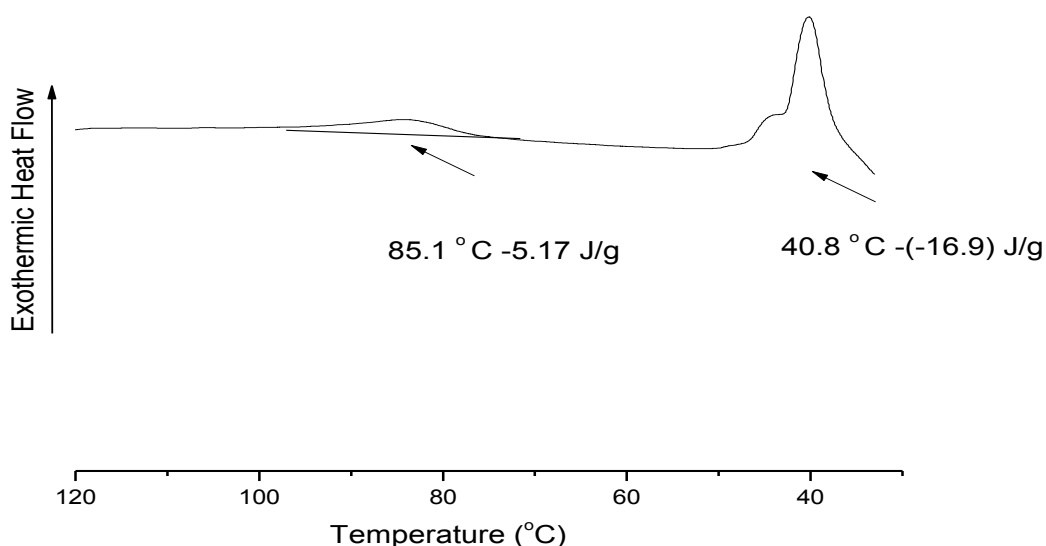
Σύμπλοκο	Θερμοκρασία έναρξης διάσπασης των συμπλόκων (°C)	Θερμοκρασία διάσπασης των συμπλόκων (°C)	Θερμοκρασία περάτωσης διάσπασης των συμπλόκων (°C)
Hylon VII- δεκανοϊκό οξύ			
30 °C	69,4(±0,2)	92,3(±0,3)	118,2(±0,2)
50 °C	69,6(±0,4)	95,1(±0,3)	110,1(±0,4)
70 °C	72,3(±0,3)	97,2(±0,4)	110,3(±0,3)
Hylon VII-μυριστικό οξύ			
30 °C	71,2(±0,2)	92,2(±0,2)	109,2(±0,4)
50 °C	68,2(±0,3)	100,4(±0,3)	109,9(±0,3)
70 °C	68,4(±0,2)	102,4(±0,1)	196,2(±0,3)
Hylon VII-παλμιτικό οξύ			
30 °C	82,6(±0,2)	100,2(±0,3)	119,4(±0,2)
50 °C	82,1(±0,4)	101,1(±0,4)	118,2(±0,4)
70 °C	81,5(±0,3)	101,8(±0,1)	120,4(±0,2)
Hylon VII-στεατικό οξύ			
30 °C	85,5(±0,3)	101,8(±0,1)	120,1(±0,3)
50 °C	87,3(±0,4)	102,6(±0,2)	119,3(±0,2)
70 °C	86,4(±0,2)	110,8(±0,4)	120,2(±0,3)
Hylon VII-ελαϊκό οξύ			
30 °C	68,4(±0,3)	92,3(±0,1)	119,5(±0,3)
50 °C	72,5(±0,4)	97,4(±0,2)	118,2(±0,1)
70 °C	72,4(±0,3)	102,4(±0,1)	113,8(±0,4)

Παρατηρώντας τα θερμογραφήματα (Σχήματα 4.74, 4.75, 4.76, 4.77 & 4.78) των συμπλόκων, διαπιστώνεται ότι τα σύμπλοκα Hylon VII με μυριστικό, παλμιτικό και με στεατικό οξύ, εμφάνισαν δύο ενδόθερμες κορυφές διάσπασης. Όπως προαναφέρθηκε στις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης και του pregel με μυριστικό, παλμιτικό και με στεατικό οξύ (Ενότητα 4.3.2), η πρώτη ενδόθερμη κορυφή τήξης αντιστοιχεί κατά ένα μέρος σε ελεύθερα λιπαρά οξέα που δεν μπόρεσαν

να απομακρυνθούν μετά από κατεργασία των δειγμάτων με διάλυμα αιθανόλης-νερού (50/50) ενώ το υπόλοιπο οφείλεται σε λιπαρά οξέα που παγιδεύτηκαν μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης. Όπως και στις περιπτώσεις των συμπλόκων της αμυλόζης και του pregel, έτσι και στην περίπτωση των συμπλόκων του Hylon VII με δεκανοϊκό και με ελαϊκό οξύ (Σχήματα 4.74 & 4.78), στα θερμογραφήματα δεν εμφανίζεται η πρώτη ενδόθερμη κορυφή τήξης του δεκανοϊκού και του ελαϊκού οξέος. Επίσης, με βάση τα θερμογραφήματα, διαπιστώνεται ότι η θερμοκρασία διάσπασης των συμπλόκων Hylon VII αυξάνεται με αύξηση του μήκους της ανθρακικής αλυσίδας του λιπαρού οξέος και της θερμοκρασίας παρασκευής των συμπλόκων. Στα θερμογραφήματα, η δεύτερη ενδόθερμη κορυφή αντιστοιχεί στη θερμοκρασία διάσπασης των συμπλόκων (Eliasson, 1994; Karkalas et al., 1995; Tufvesson et al., 2003a,b).

Αναφορικά με τις ενθαλπίες διάσπασης των συμπλόκων με βάση τα θερμογραφήματα, διαπιστώνεται ότι το μήκος αλυσίδας του λιπαρού οξέος είναι ανεξάρτητο από την ενθαλπία διάσπασης των συμπλόκων. Συγκρίνοντας τις ενθαλπίες διάσπασης των συμπλόκων Hylon VII σε σχέση με τις ενθαλπίες των συμπλόκων αμυλόζης και pregel, παρατηρείται ότι οι ενθαλπίες των συμπλόκων είναι συγκρίσιμες γεγονός που επιβεβαιώνει ότι η παρουσία της αμυλοπηκτίνης στο Hylon VII δεν παρεμπόδισε τη συμπλοκοποίησή του με τα λιπαρά οξέα. Επομένως, με βάση τα δεδομένα αυτά επιβεβαιώνεται ότι τόσο η αμυλόζη όσο και τα άμυλα (Hylon VII, pregel) ανεξάρτητα του ποσοστού της αμυλοπηκτίνης που περιέχουν, κάτω από τις ίδιες συνθήκες συμπλοκοποίησης μπορούν να συμπλοκοποιηθούν αποτελεσματικά με τα λιπαρά οξέα.

Το σύμπλοκο Hylon VII-παλμιτικού οξέος που παρασκευάστηκε στους 30°C (Σχήμα 4.79), εμφάνισε μια εξώθερμη κορυφή κατά την ψύξη που επιβεβαιώνει το επανασχηματισμό του συμπλόκου. Η εξώθερμη κορυφή του συμπλόκου παρουσίασε θερμοκρασία μετάπτωσης ~15 °C χαμηλότερη από την αντίστοιχη κορυφή διάσπασής του κατά τη θέρμανση, ενώ η ενθαλπία διάσπασης κατά την ψύξη εμφανίζεται να είναι κατά πολύ μικρότερη από την ενθαλπία κατά την θέρμανση. Επίσης, η πρόσθετη κορυφή που εμφανίστηκε γύρω στους 40°C αποδίδεται σε επανακρυστάλλωση των μορίων του ελεύθερου λιπαρού οξέος.

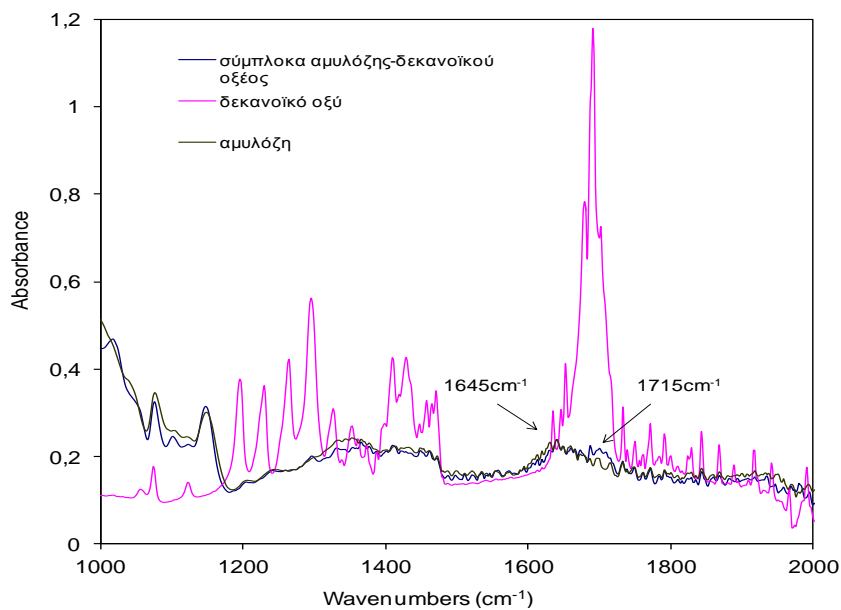


Σχήμα 4.79 Θερμογράφημα κατά την ψυξή συμπλόκων Hylon VII-παλμιτικού οξέος που παρασκευάστηκε στους 30 °C. Το σύμπλοκο υπέστη κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.74 κατά την παρασκευή του.

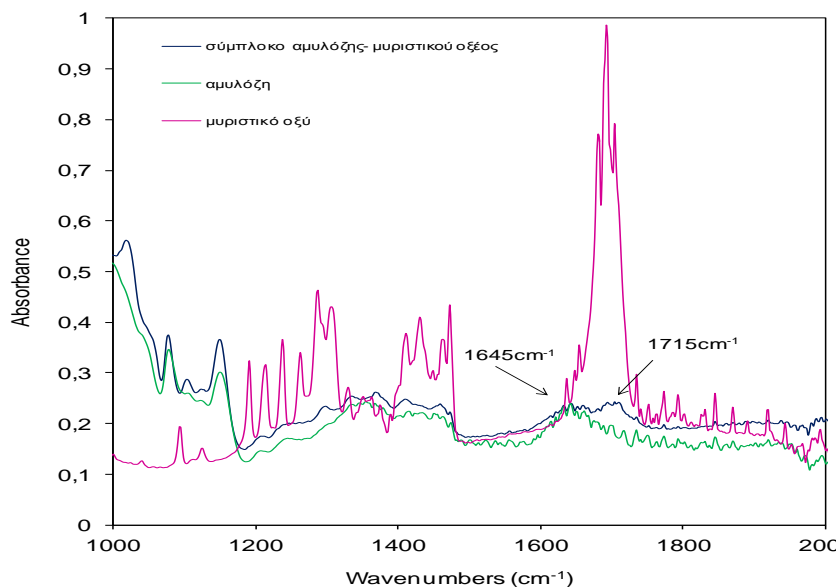
#### 4.4. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΜΠΛΟΚΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΜΕ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ FOURIER (FTIR)

##### 4.4.1. Μελέτη της συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με λιπαρά οξέα

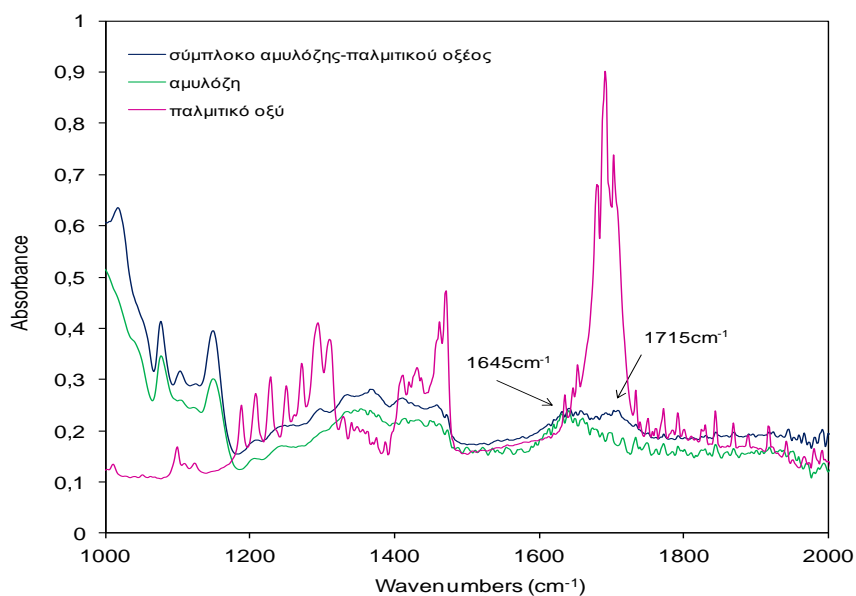
Στα Σχήματα 4.80, 4.81, 4.82, 4.83 & 4.84 απεικονίζονται τα φάσματα FTIR των συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό, και ελαϊκό οξύ, τα φάσματα του δεκανοϊκού, μυριστικού, παλμιτικού, στεατικού και ελαϊκού οξέος και το φάσμα της αμυλόζης. Τα φάσματα των συμπλόκων με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό και στεατικό οξύ που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C παρουσίασαν παρόμοια συμπεριφορά, οπότε στα Σχήματα 4.80, 4.81, 4.82, 4.83 & 4.84, παρουσιάζονται μόνο αντιπροσωπευτικά φάσματα των συμπλόκων που παρασκευάστηκαν στους 30°C.



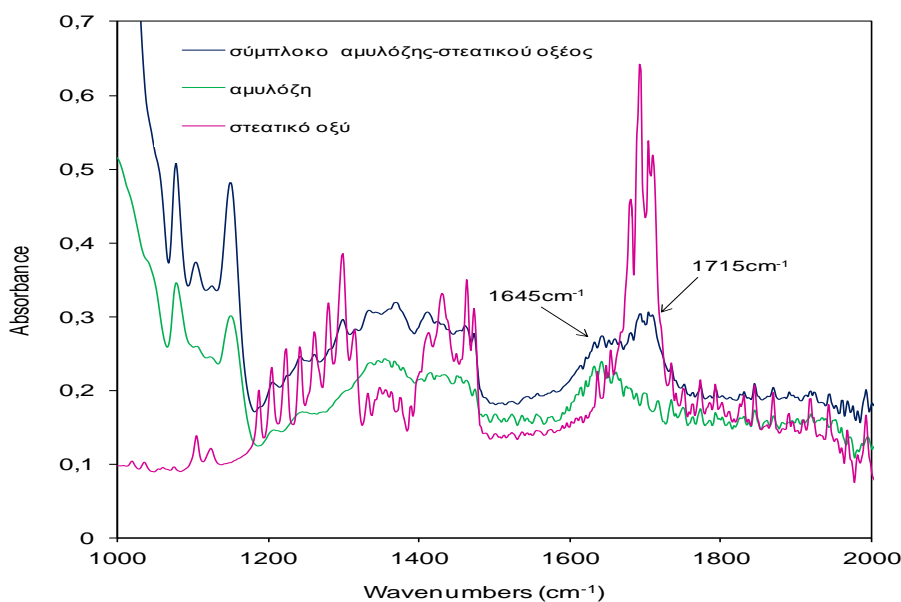
Σχήμα 4.80 Φάσματα FTIR της αμυλόζης (πράσινη γραμμή), του δεκανοϊκού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου αμυλόζης-δεκανοϊκού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρασή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.



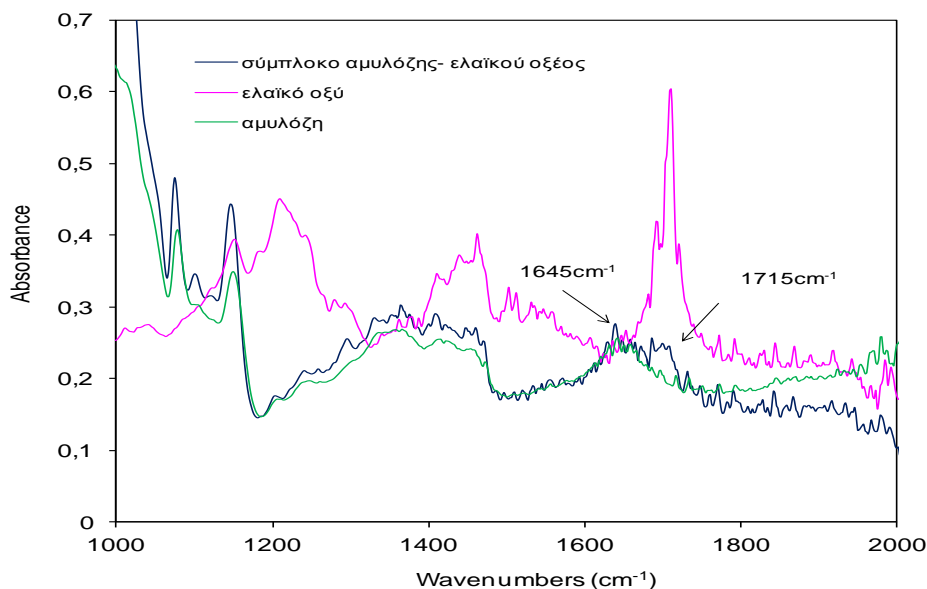
Σχήμα 4.81 Φάσματα FTIR της αμυλόζης (πράσινη γραμμή), του μυριστικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου αμυλόζης-μυριστικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.80 κατά την παρασκευή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.



Σχήμα 4.82 Φάσματα FTIR της αμυλόζης (πράσινη γραμμή), του παλμιτικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου αμυλόζης-παλμιτικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.80 κατά την παρασκευή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.



Σχήμα 4.83 Φάσματα FTIR της αμυλόζης (πράσινη γραμμή), του στεατικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου αμυλόζης-στεατικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.80 κατά την παρασκευή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.



Σχήμα 4.84 Φάσματα FTIR της αμυλόζης (πράσινη γραμμή), του ελαϊκού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου αμυλόζης αμύλου-ελαϊκού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.80 κατά την παρασκευή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.

Στα φάσματα FTIR των λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ) (Σχήματα 4.80, 4.81, 4.82, 4.83 & 4.84) παρατηρείται η χαρακτηριστική κορυφή απορρόφησης των καρβονυλίων στα  $1700\text{cm}^{-1}$ . Παρατηρώντας τα φάσματα FTIR των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων και το φάσμα FTIR της αμυλόζης, διαπιστώνεται ότι τα φάσματα FTIR των συμπλόκων διαφοροποιούνται σε σχέση με το φάσμα FTIR της αμυλόζης (μάρτυρας). Στο φάσμα FTIR της αμυλόζης παρατηρείται η ύπαρξη μιας κορυφής στα  $1645\text{cm}^{-1}$ , δηλαδή στην αριστερή πλευρά της χαρακτηριστικής κορυφής απορρόφησης ( $1700\text{cm}^{-1}$ ) της καρβονυλικής ομάδας των λιπαρών οξέων (μάρτυρες). Μετά τη συμπλοκοποίηση, παρατηρείται ότι εκτός από τη συγκεκριμένη κορυφή της αμυλόζης εμφανίζεται μια νέα κορυφή στη περιοχή των  $1715\text{cm}^{-1}$  δηλαδή στη δεξιά πλευρά της κορυφής του καρβονυλίου του λιπαρού οξέος ( $1700\text{cm}^{-1}$ ). Η μετατόπιση της κορυφής του καρβονυλίου σε υψηλότερο κυματάριθμο αποτελεί ένδειξη για τη επιτυχή συμπλοκοποίηση της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα. Επιπλέον, με δεδομένο ότι το ελαϊκό οξύ είναι υγρό σε θερμοκρασία δωματίου και η περίσσεια των ελεύθερων λιπαρών οξέων απομακρύνθηκε πλήρως κατά την κατεργασία των συμπλόκων με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50), όπως αποδείχθηκε από τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X (Ενότητα 4.2.1) και τα θερμογραφήματα των συμπλόκων (Ενότητα

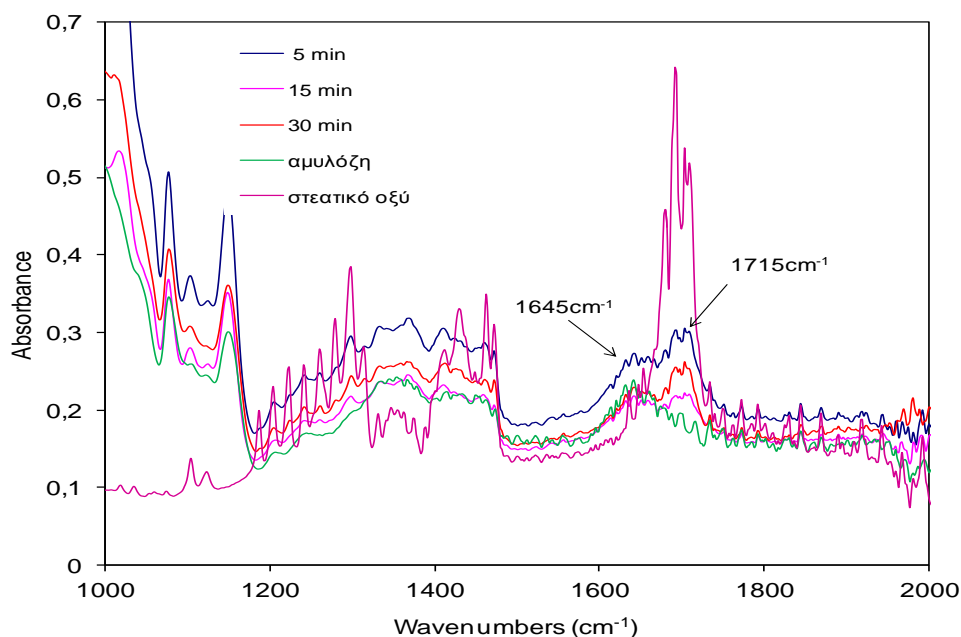
4.3.1), η συγκεκριμένη κορυφή ( $1715\text{cm}^{-1}$ ) οφείλεται σε μόρια ελαϊκού οξέος που συμπλέχθηκαν με τις αμυλοζικές έλικες και όχι σε ελεύθερα μόρια λιπαρών οξέων.

Οι Lay Ma et al. (2011), που μελέτησαν τη συμπλοκοποίηση της αμυλόζης με εστέρες λιπαρών οξέων με την τεχνική FTIR, απέδωσαν τον επιτυχή σχηματισμό των συμπλόκων στην μετατόπιση της κορυφής της καρβονυλικής ομάδας των λιπαρών οξέων σε υψηλότερο κυμματάριθμο. Οι Tozuka et al. (2006) παρατήρησαν μια παρόμοια μετατόπιση της κορυφής του καρβονυλίου σε υψηλότερο κυμματάριθμο και απέδωσαν τη συγκεκριμένη μετατόπιση στον σχηματισμό δεσμών υδρογόνου μεταξύ της καρβονυλικής ομάδας του φιλοξενούμενου μορίου και υδροξυλίων της αμυλόζης. Επίσης, οι Uchino et al. (2002) παρατήρησαν την ίδια μετατόπιση στην κορυφή της καρβονυλικής ομάδας σε σύμπλοκα αμυλόζης με ανάλογα (analogues) σαλικυλικού οξέος και απέδωσαν αυτή τη μετατόπιση στη διάσπαση των δεσμών υδρογόνου μεταξύ των καρβονυλικών ομάδων των μορίων των ανάλογων σαλικυλικού οξέος, με αποτέλεσμα το σαλικυλικό οξύ να εγκλείεται μέσα στην έλικα της αμυλόζης.

Συγκρίνοντας την ένταση της κορυφής στον κυμματάριθμο  $1715\text{cm}^{-1}$  των συμπλόκων της αμυλόζης με τα διάφορα λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ) διαπιστώνεται ότι, στην περίπτωση συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με το στεατικό οξύ, η ένταση της κορυφής είναι μεγαλύτερη και ακολουθεί εκείνη του παλμιτικού, του μυριστικού, του ελαϊκού και του δεκανοϊκού οξέος. Η διαφοροποίηση αυτή που παρατηρείται στην ένταση της συγκεκριμένης κορυφής πιθανότατα οφείλεται στο ότι κατά τη συμπλοκοποίηση της αμυλόζης με τα μεγάλου μήκους λιπαρά οξέα, όπως είναι το στεατικό οξύ, τα μόρια λιπαρών οξέων που δεν συμπλοκοποιούνται με την αμυλόζη αυτο-οργανώνονται σε άλλες μεσομορφικές μορφές (π.χ. διμερή, μικύλλια) και παγιδεύονται μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης. Επομένως, αναμένεται η ένταση της συγκεκριμένης κορυφής να εμφανίζεται μεγαλύτερη καθώς στην συγκεκριμένη κορυφή πέρα από τα συμπλεγμένα μόρια λιπαρών οξέων, εγκλείονται και παγιδευμένα μόρια λιπαρών οξέων. Στις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με το δεκανοϊκό οξύ, παρατηρώντας τα φάσματα FTIR των συμπλόκων, διαπιστώνεται ότι η συγκεκριμένη κορυφή, στον κυμματάριθμο  $1715\text{cm}^{-1}$  δεν είναι τόσο εμφανής γεγονός που πιθανότατα σχετίζεται με το μικρό μήκος αλυσίδας του δεκανοϊκού οξέος που, όπως προαναφέρθηκε είναι εξαιρετικά ευκίνητο, με αποτέλεσμα να μην συμπλοκοποιείται πλήρως με την αμυλόζη.

Στο Σχήμα 4.85 παρουσιάζονται φάσματα FTIR των συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος όπου το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε για 5, 15 ή 30 min πριν τη συμπλοκοποίηση. Όπως προαναφέρθηκε (Ενότητα 4.2.1), η διαλυτοποίησή των λιπαρών οξέων πριν τη συμπλοκοποίηση σε διαφορετικούς

χρόνους πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη μελέτη της επίδρασης του χρόνου διαλυτοποίησής του λιπαρού οξέος στη συμπλοκοποίηση. Παρατηρώντας τα φάσματα FTIR των συμπλόκων, προκύπτει ότι η ένταση της κορυφής  $1715\text{ cm}^{-1}$  είναι ανεξάρτητη της θερμοκρασίας παρασκευής των συμπλόκων και του χρόνου διαλυτοποίησής του στεατικού οξέος. Επομένως, τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι η συγκεκριμένη κορυφή αποτελεί ένδειξη επιτυχούς σχηματισμού των συμπλόκων και δεν σχετίζεται με τη δομή τους.



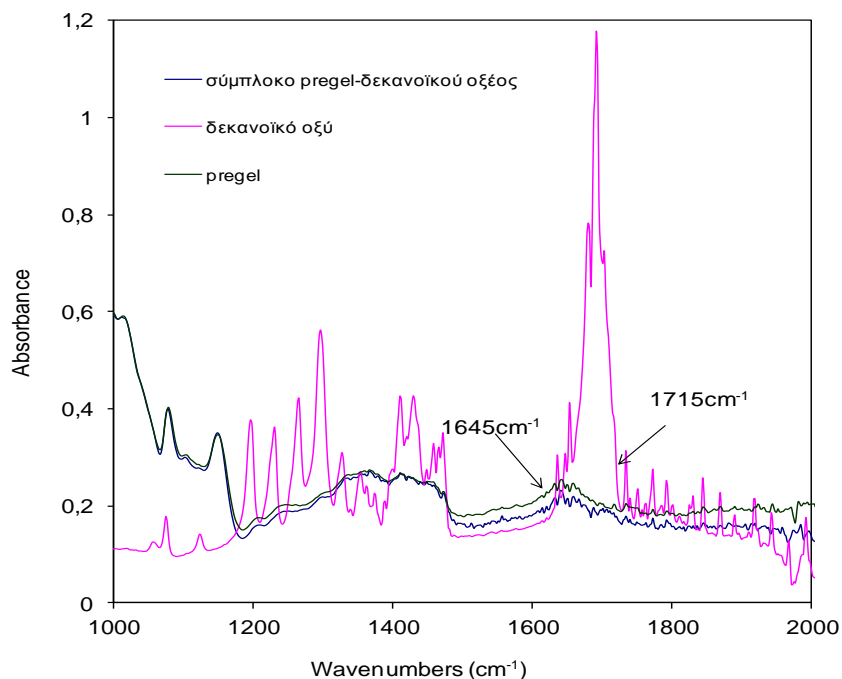
Σχήμα 4.85 Φάσματα FTIR της αμυλόζης (πράσινη γραμμή), του στεατικού οξέος (ιώδης γραμμή) και των συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος όπου το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5 min (κυανή γραμμή), 15 min (ρόδινη γραμμή) και 30 min (κόκκινη γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.80 κατά την παρασκευή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους  $30^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.4.2 Μελέτη της συμπλοκοποίησης του προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (pregel) με λιπαρά οξέα

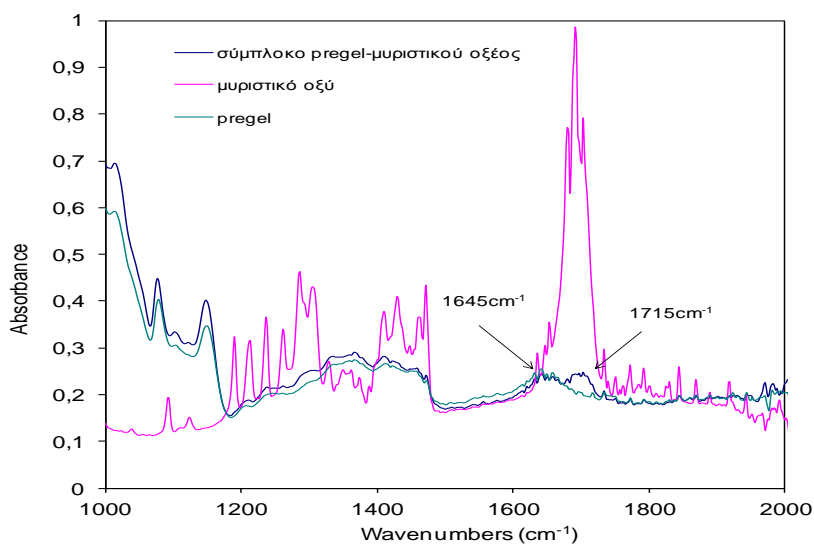
Στα Σχήματα 4.86, 4.87, 4.88, 4.89 & 4.90 απεικονίζονται τα φάσματα FTIR των λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) του pregel και των συμπλόκων pregel με τα λιπαρά οξέα που παρασκευάστηκαν στους  $30^{\circ}\text{C}$ . Όπως και στην περίπτωση των συμπλόκων αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα (Ενότητα 4.4.1), τα φάσματα των συμπλόκων pregel που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή  $70^{\circ}\text{C}$  είχαν παρόμοια συμπεριφορά οπότε στα Σχήματα 4.86,



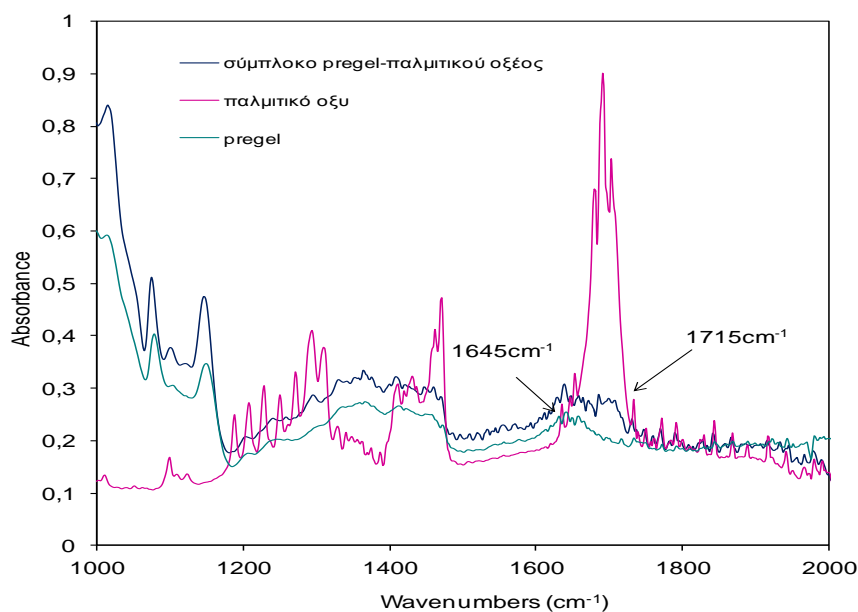
4.87, 4.88, 4.89 & 4.90 απεικονίζονται μόνο αντιπροσωπευτικά φάσματα συμπλόκων που παρασκευάστηκαν στους 30° C.



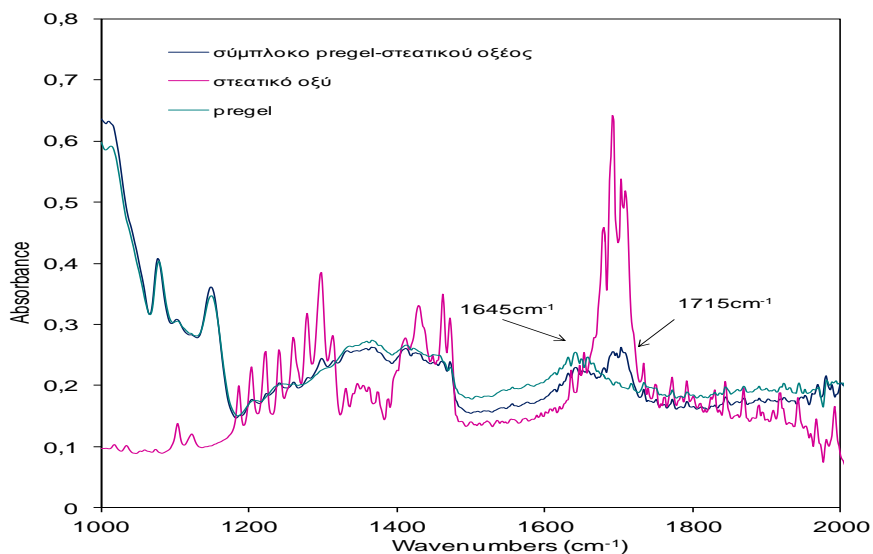
Σχήμα 4.86 Φάσματα FTIR του pregel (πράσινη γραμμή), του δεκανοϊκού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου pregel-δεκανοϊκού οξέος (κυανή γραμμή). Τα συμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους. Τα συμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.



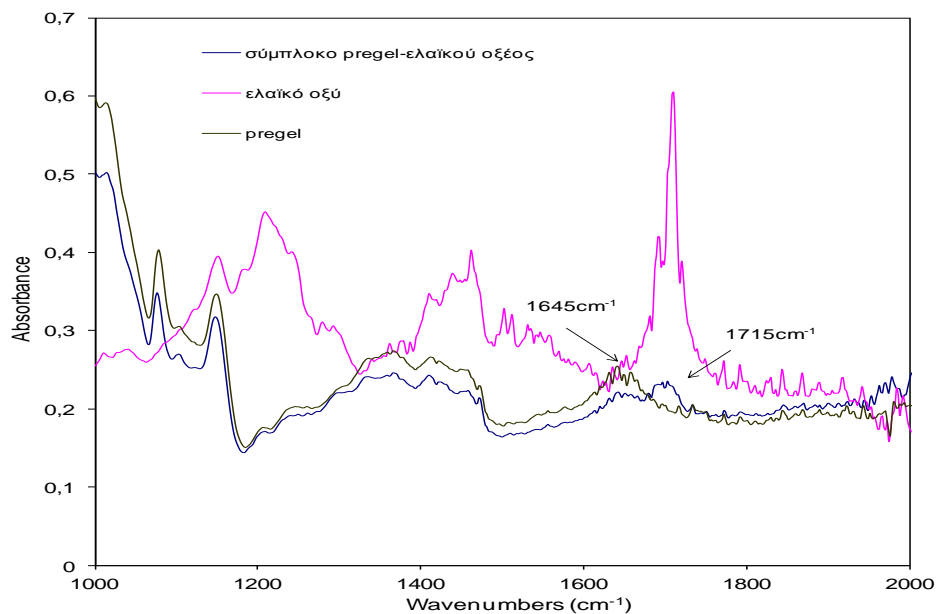
Σχήμα 4.87 Φάσματα FTIR του pregel (πράσινη γραμμή), του μυριστικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου pregel-μυριστικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα συμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.86 κατά την παρασκευή τους. Τα συμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C



Σχήμα 4.88 Φάσματα FTIR του pregel (πράσινη γραμμή), του παλμιτικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου pregel-παλμιτικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.86 κατά την παρασκευή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.



Σχήμα 4.89 Φάσματα FTIR του pregel (πράσινη γραμμή), του στεατικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου pregel-στεατικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.86 κατά την παρασκευή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.

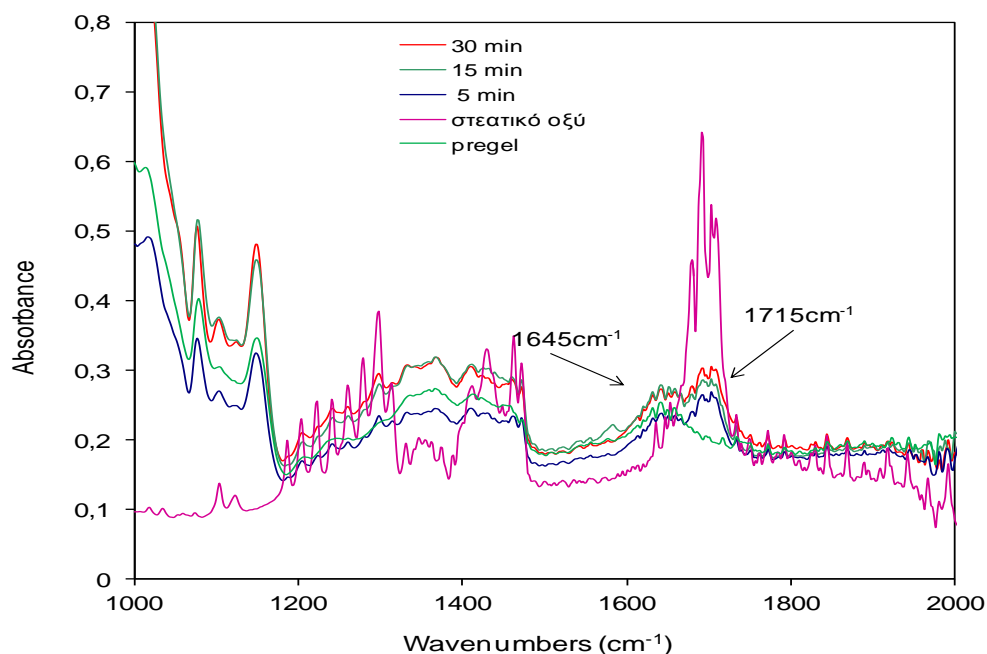


Σχήμα 4.90 Φάσματα FTIR του pregel (πράσινη γραμμή), του ελαϊκού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου pregel-ελαϊκού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.86 κατά την παρασκευή τους. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C.

Συγκρίνοντας τα φάσματα FTIR των συμπλόκων pregel-λιπαρών οξέων με το φάσμα FTIR του pregel, παρατηρείται ότι στο φάσμα του pregel εμφανίζεται μια απορρόφηση (κορυφή) περίπου στους  $1645\text{cm}^{-1}$ , δηλαδή στην αριστερή πλευρά της χαρακτηριστικής κορυφής απορρόφησης της καρβονυλικής ομάδας των λιπαρών οξέων ( $1700\text{cm}^{-1}$ ) (μάρτυρες). Ωστόσο, μετά τη συμπλοκοποίηση του pregel με τα λιπαρά οξέα παρατηρείται ότι εμφανίζεται μια επιπλέον κορυφή στην περιοχή των  $1715\text{cm}^{-1}$  δηλαδή στη δεξιά πλευρά της κορυφής του καρβονυλίου ( $1700\text{cm}^{-1}$ ). Όπως προαναφέρθηκε (Ενότητα 4.4.1), η μετατόπιση της συγκεκριμένης κορυφής του καρβονυλίου σε υψηλότερο κυματάριθμο υποδηλώνει την επιτυχή συμπλοκοποίηση του pregel με τα λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) και αποδεικνύει ότι η παρουσία της αμυλοπηκτίνης στο pregel δεν παρεμπόδισε τον σχηματισμό των συμπλόκων. Παρατηρώντας το φάσμα των συμπλόκων pregel με δεκανοϊκό οξύ, διαπιστώνεται ότι η ένταση της συγκεκριμένης κορυφής δεν είναι μεγάλη λόγω της μικρής περιεκτικότητάς της διαθέσιμης αμυλόζης στο pregel. Επιπλέον, παρατηρώντας τα φάσματα των συμπλόκων, παρατηρείται ότι στην περίπτωση της συμπλοκοποίησης με το παλμιτικό και με το στεατικό οξύ, η ένταση της κορυφής είναι μεγαλύτερη. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω (Ενότητα 4.2.2), κατά τη συμπλοκοποίηση του pregel με το παλμιτικό και το στεατικό οξύ, τα λιπαρά οξέα μπορούν να οργανώνονται σε άλλες μεσομορφές και να παγιδεύονται μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης. Επομένως, η έντονη κορυφή που

παρατηρείται στην περίπτωση των συμπλόκων pregel με στεατικό και το παλμιτικό οξύ οφείλεται στο ότι στην κορυφή απορρόφησης  $1715\text{ cm}^{-1}$  περιλαμβάνονται συμπλεγμένα μόρια λιπαρών οξέων, καθώς και μόρια λιπαρών οξέων που παγιδεύονται μηχανικά μεταξύ των ελίκων.

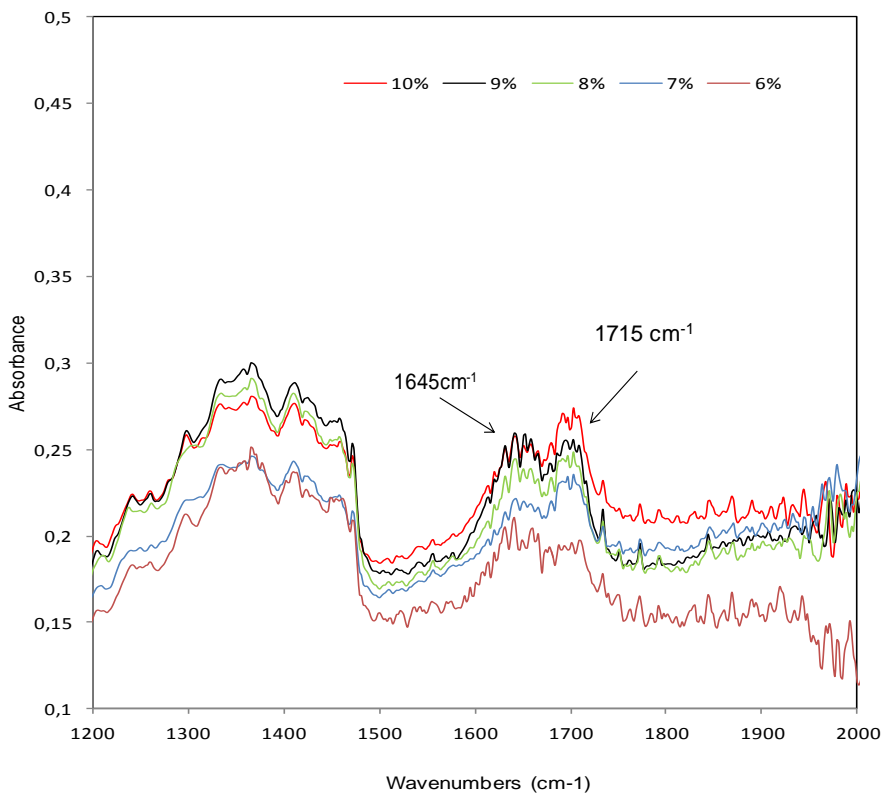
Στα Σχήματα 4.91 απεικονίζονται τα φάσματα FTIR των συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος, στα οποία το στεατικό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5, 15 ή 30 min. Στα φάσματα FTIR των συμπλόκων διαπιστώνεται ότι η ένταση της κορυφής σε όλες τις περιπτώσεις διαλυτοποιήσής του στεατικού οξέος πριν τη συμπλοκοποίηση του με το pregel ήταν παρόμοια, γεγονός που υποδεικνύει ότι η συγκεκριμένη κορυφή επιβεβαιώνει τον επιτυχή σχηματισμό των συμπλόκων και δεν σχετίζεται με τη δομή τους.



Σχήμα 4.91 Φάσματα FTIR του στεατικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και των συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30°C όπου το λιπαρό οξύ διαλυτοποιήθηκε πριν τη συμπλοκοποίηση για 5 (κυανή γραμμή), 15 (πράσινη γραμμή) ή 30 min (κόκκινη γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.86 κατά την παρασκευή τους.

Στο Σχήμα 4.92 παρουσιάζονται τα φάσματα FTIR των συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος, στα οποία το λιπαρό οξύ προστέθηκε κατά τη συμπλοκοποίηση σε 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις (6, 7, 8, 9 ή 10%). Παρατηρώντας τα φάσματα των συμπλόκων, συμπεραίνεται ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του προστιθέμενου στεατικού οξέος, η ένταση και το εμβαδόν της κορυφής στην περιοχή  $1715\text{ cm}^{-1}$  αυξάνεται. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα περίθλασης ακτίνων X των συμπλόκων pregel με στεατικό οξύ (Ενότητα 4.2.2). Επομένως, λαμβάνοντας υπόψη τα φάσματα περίθλασης των συμπλόκων αμυλόζης με το στεατικό οξύ, όπου

το λιπαρό οξύ προστέθηκε σε 4 διαφορετικές συγκεντρώσεις, και τα φάσματα FTIR των αντίστοιχων συμπλόκων, και δεδομένου ότι όσο αυξάνεται το μήκος αλυσίδας του λιπαρού οξέος στοιχειομετρικά απαιτούνται λιγότερα μόρια λιπαρού οξέος για να συμπλοκοποιηθούν με το pregel, συμπεραίνεται ότι τα μεγάλοι μήκους αλυσίδας λιπαρά οξέα (παλμιτικό & στεατικό οξύ) οργανώνονται σε άλλες μεσομορφές, και παγιδεύονται μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης.



Σχήμα 4.92 Φάσματα FTIR συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος στα οποία το στεατικό οξύ προστέθηκε σε συγκεντρώσεις 6, 7, 8, 9 ή 10 % (w/w) του βάρους της αμυλόζης. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.86 κατά την παρασκευή τους.

Με βάση τα παραπάνω συνάγεται ότι η παρουσία της αμυλοπηκτίνης δεν παρεμπόδισε το σχηματισμό των συμπλόκων pregel-λιπαρών οξέων, ωστόσο η συμπλοκοποίηση του pregel επηρεάστηκε από το μήκος αλυσίδας του λιπαρού οξέος, και από τη συγκέντρωση του προστιθέμενου λιπαρού οξέος ενώ ήταν ανεξάρτητη από τη θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων και από το χρόνο διαλυτοποίησής του λιπαρού οξέος πριν τη διεργασία της συμπλοκοποίησης.

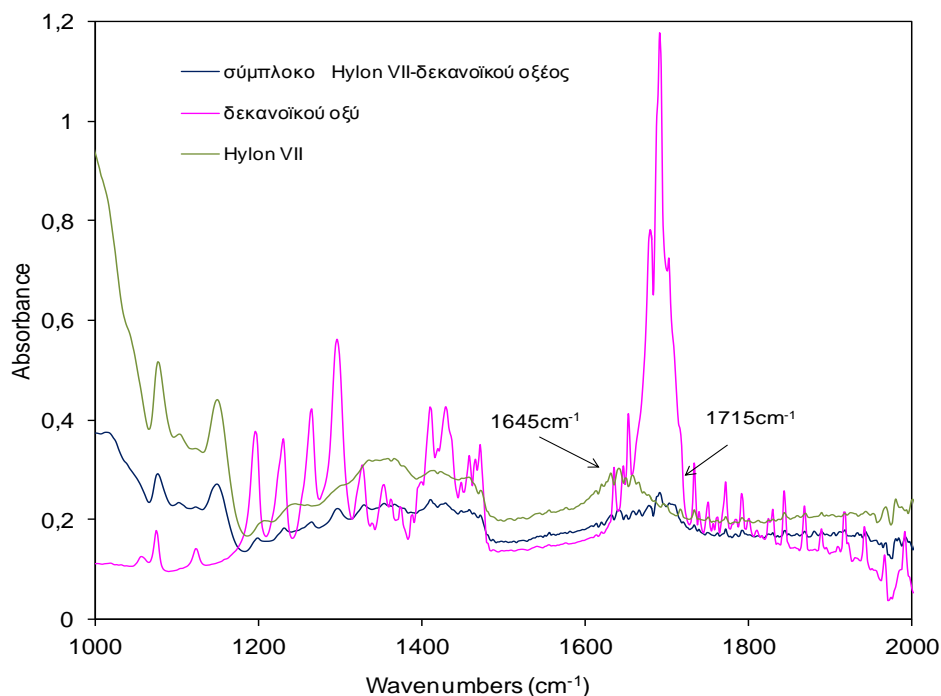
#### 4.4.3 Μελέτη της συμπλοκοποίησης του αμύλου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης (Hylon VII) με λιπαρά οξέα

Στα Σχήματα 4.93, 4.94, 4.95, 4.96 & 4.97, παρουσιάζονται τα φάσματα FTIR των λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ) και τα φάσματα FTIR των συμπλόκων Hylon VII με τα λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30°C.

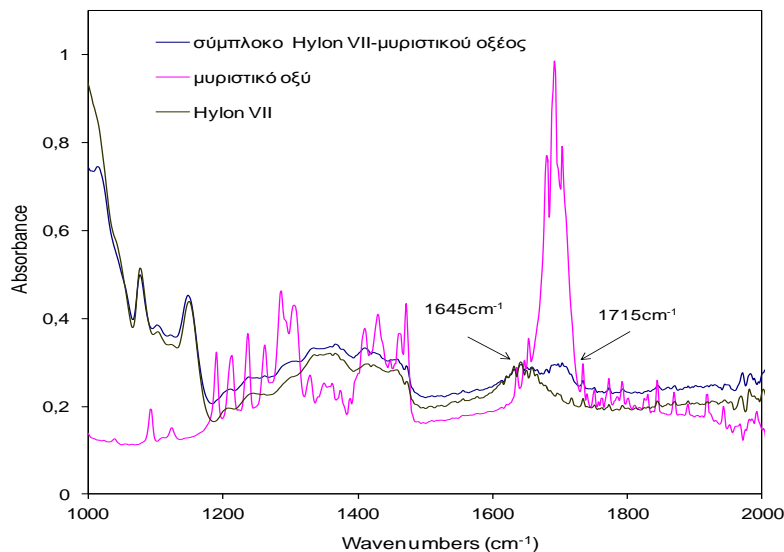
Όπως παρόμοια παρατηρήθηκε στις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης με την αμυλόζη και με το pregel, στα φάσματα FTIR του Hylon VII παρατηρείται μια κορυφή περίπου στον κυμματάριθμο  $1645\text{cm}^{-1}$  δηλαδή στην αριστερή πλευρά της χαρακτηριστικής κορυφής της απορρόφησης της καρβονυλικής ομάδας των λιπαρών οξέων ( $1700\text{cm}^{-1}$ ). Μετά τη συμπλοκοποίηση παρατηρείται ότι εκτός από τη συγκεκριμένη κορυφή της αμυλόζης, εμφανίζεται και μια νέα κορυφή στη περιοχή των  $1715\text{cm}^{-1}$  δηλαδή στη δεξιά πλευρά της κορυφής του καρβονυλίου του λιπαρού οξέος ( $1700\text{cm}^{-1}$ ) γεγονός που αποτελεί ένδειξη εγκλεισμού των λιπαρών οξέων μέσα στις αμυλοζικές έλικες.

Παρατηρώντας τα φάσματα FTIR των συμπλόκων Hylon VII με το μυριστικό, παλμιτικό, και στεατικό οξύ, διαπιστώνεται ότι όσο αυξάνεται το μήκος αλυσίδας του λιπαρού οξέος αυξάνεται και η ένταση της συγκεκριμένης κορυφής ( $1715\text{cm}^{-1}$ ), γεγονός που επιβεβαιώνει ότι τα ελεύθερα μόρια λιπαρών οξέων που δεν συμπλέχθηκαν με την αμυλόζη και δεν απομακρύνθηκαν μετά από κατεργασία των συμπλόκων με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) κατά την παρασκευή τους, παγιδεύτηκαν μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης.

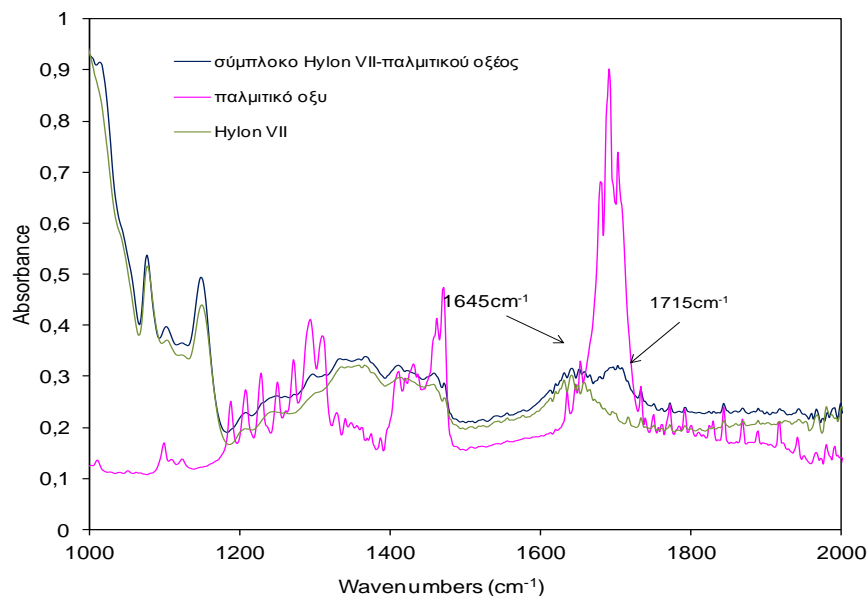
Τα παραπάνω αποτελέσματα επιβεβαιώνουν την επιτυχή συμπλοκοποίηση του Hylon VII με τα λιπαρά οξέα και αποδεικνύουν ότι η παρουσία της αμυλοπηκτίνης στο Hylon VII δεν παρεμπόδισε την συμπλοκοποίηση του αμύλου με τα λιπαρά οξέα.



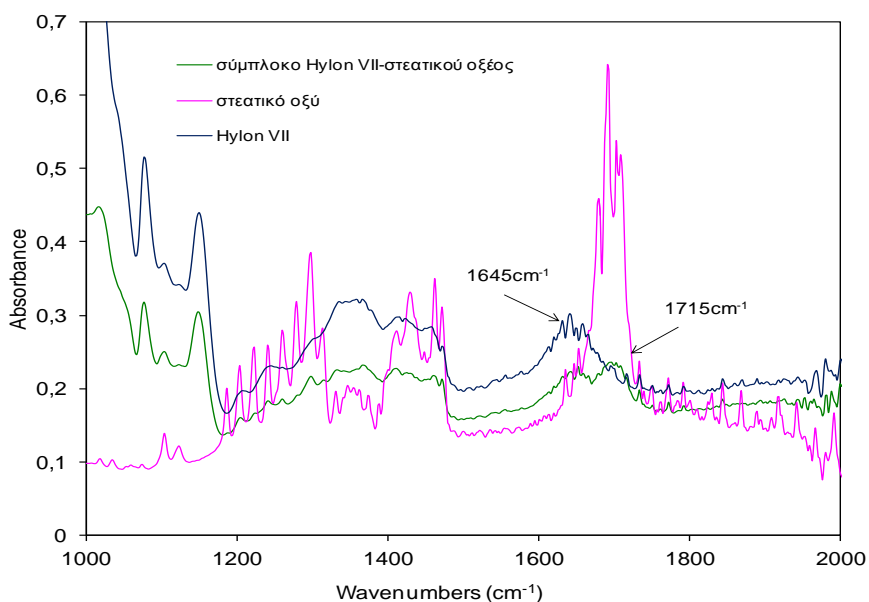
Σχήμα 4.93 Φάσματα FTIR του Hylon VII (πράσινη γραμμή), του δεκανοϊκού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου Hylon VII-δεκανοϊκού οξέος (κυανή γραμμή). Τα συμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.



Σχήμα 4.94 Φάσματα FTIR του Hylon VII (πράσινη γραμμή), του μυριστικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου Hylon VII-μυριστικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα συμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.93 κατά την παρασκευή τους.

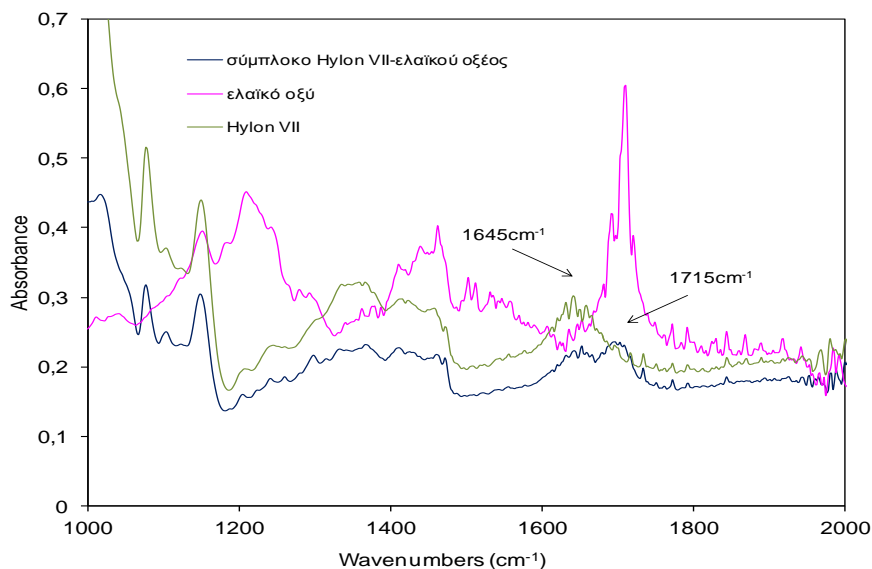


**Σχήμα 4.95** Φάσματα FTIR του Hylon VII (πράσινη γραμμή), του παλμιτικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου αμύλου Hylon VII-παλμιτικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.93 κατά την παρασκευή τους.



**Σχήμα 4.96** Φάσματα FTIR του Hylon VII (πράσινη γραμμή), του στεατικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου Hylon VII-στεατικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.94 κατά την παρασκευή τους.



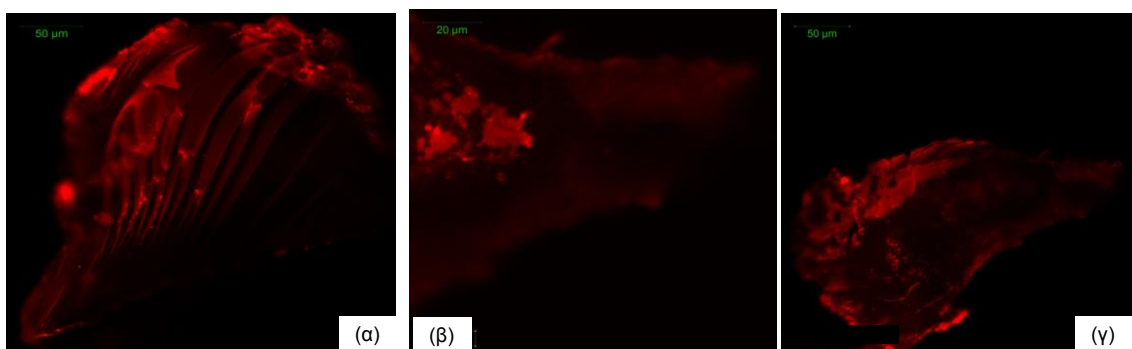


Σχήμα 4.97 Φάσματα FTIR του Hylon VII (πράσινη γραμμή), του ελαιικού οξέος (ρόδινη γραμμή) και του συμπλόκου Hylon VII-ελαιικού οξέος (κυανή γραμμή). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.93 κατά την παρασκευή τους.

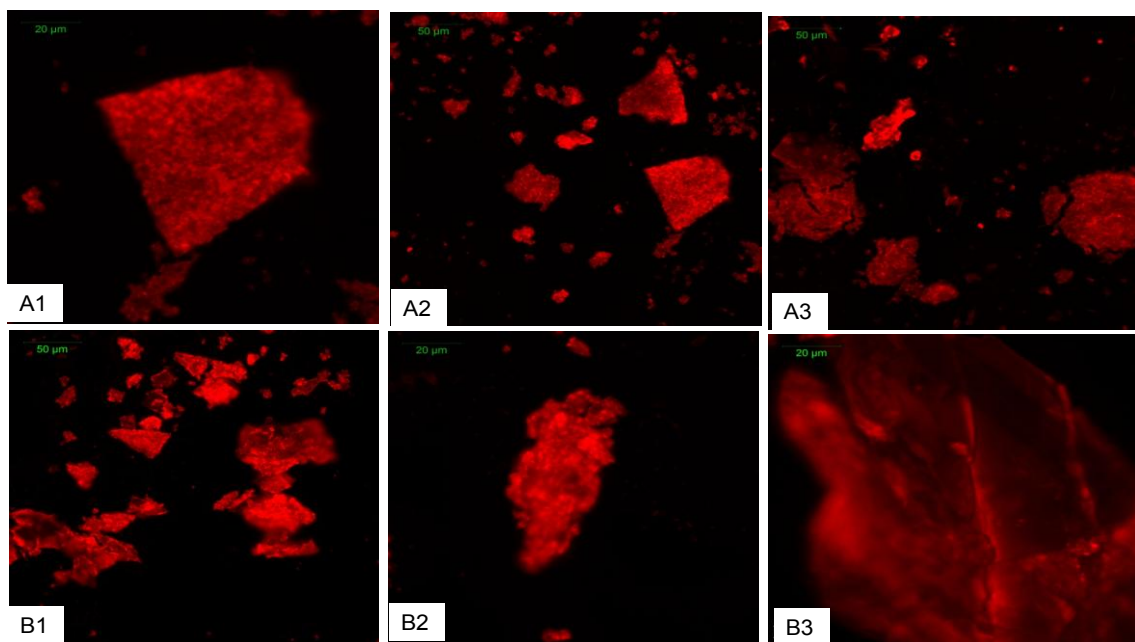
#### 4.5. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΑΜΥΛΟΖΗΣ-ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΣΥΝΕΣΤΙΑΚΗΣ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑΣ ΣΑΡΩΣΗΣ ΜΕ LEIZEP (CLSM)

Στο Σχήμα 4.98 απεικονίζονται μικροφωτογραφίες της αναδιατεταγμένης αμυλόζης (α, β & γ). Όπως αναμενόταν, η αμυλόζη δεν παρουσίασε έντονο φθορισμό. Στα Σχήματα 4.99 & 4.100 απεικονίζονται οι μικροφωτογραφίες των συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό (A1, A2 & A3), μυριστικό (B1, B2 & B3), παλμιτικό (Γ1, Γ2 & Γ3) και στεατικό οξύ (Δ1, Δ2 & Δ3) που παρασκευάστηκαν στους 30°C αντίστοιχα. Στις μικροφωτογραφίες των συμπλόκων τα λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό και στεατικό οξύ) εμφανίζονται ως κόκκινες κηλίδες. Παρατηρώντας τις μικροφωτογραφίες των συμπλόκων, διαπιστώνεται η παρουσία του λιπαρού οξέος στη μήτρα της αμυλόζης γεγονός που επιβεβαιώνει τον επιτυχή εγκλεισμό των λιπαρών οξέων στην αμυλοζική έλικα. Συγκεκριμένα, παρατηρώντας τις μικροφωτογραφίες φαίνεται ότι σε όλες τις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα, το λιπαρό οξύ κατανέμεται ομοιόμορφα σε όλη τη μήτρα της αμυλόζης και όχι μόνο επιδερμικά δηλ. στην εξωτερική επιφάνεια. Επίσης, συγκρίνοντας τα σύμπλοκα αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα μεταξύ τους διαπιστώνεται ότι οι μικροφωτογραφίες σε όλες τις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης

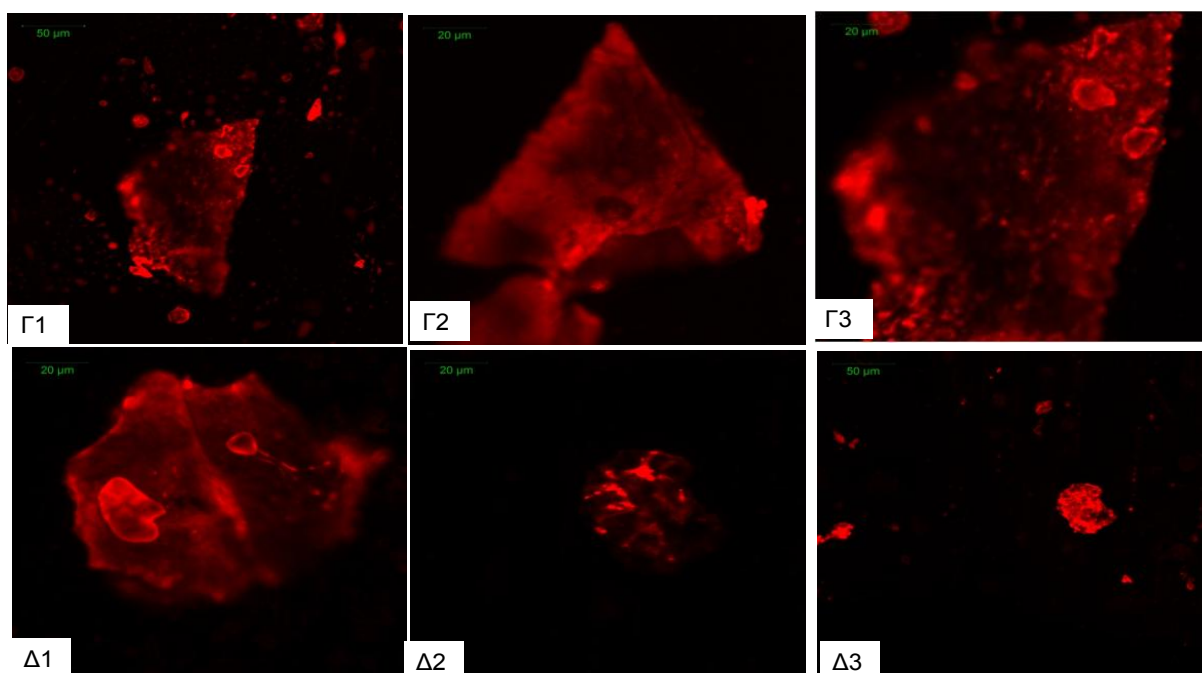
είναι παρόμοιες. Με δεδομένο ότι η αρχή λειτουργίας της συνεστιακής μικροσκοπίας σάρωσης στηρίζεται στη διαίρεση φθορισμού μέσω λέιζερ, κάθε φορά από ένα σημείο του δείγματος και ο φωτισμός και η παρατήρηση είναι περιορισμένα σε ένα σημείο του παρασκευάσματος, με τη συγκεκριμένη τεχνική δεν μπορούν να ανιχνευθούν τυχόν διαφορές που σχετίζονται με τα λιπαρά οξέα και συγκεκριμένα με το μήκος αλυσίδας του λιπαρού οξέος. Πρόσφατα, οι Chang et al. (2013) εφάρμοσαν τη συνεστιακή μικροσκοπία σάρωσης για να μελετήσουν τη συμπλοκοποίηση του αμύλου και του λαυρικού οξέος. Τα αποτελέσματα της μελέτης τους έδειξαν ότι το λιπαρό οξύ διείσδυσε αποτελεσματικά στο εσωτερικό των αμυλοκκόκων, θεωρώντας κατ'αυτούς ότι συμπλοκοποιήθηκε με την αμυλόζη, χωρίς ωστόσο να δίδεται κάποια εξήγηση.



Σχήμα 4.98 Μικροφωτογραφίες CLSM αναδιεταγμένης αμυλόζης (α, β & γ)



Σχήμα 4.99 Μικροφωτογραφίες CLSM συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό οξύ (A1, A2 & A3) και μυριστικό οξύ (B1, B2 & B3). Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50).

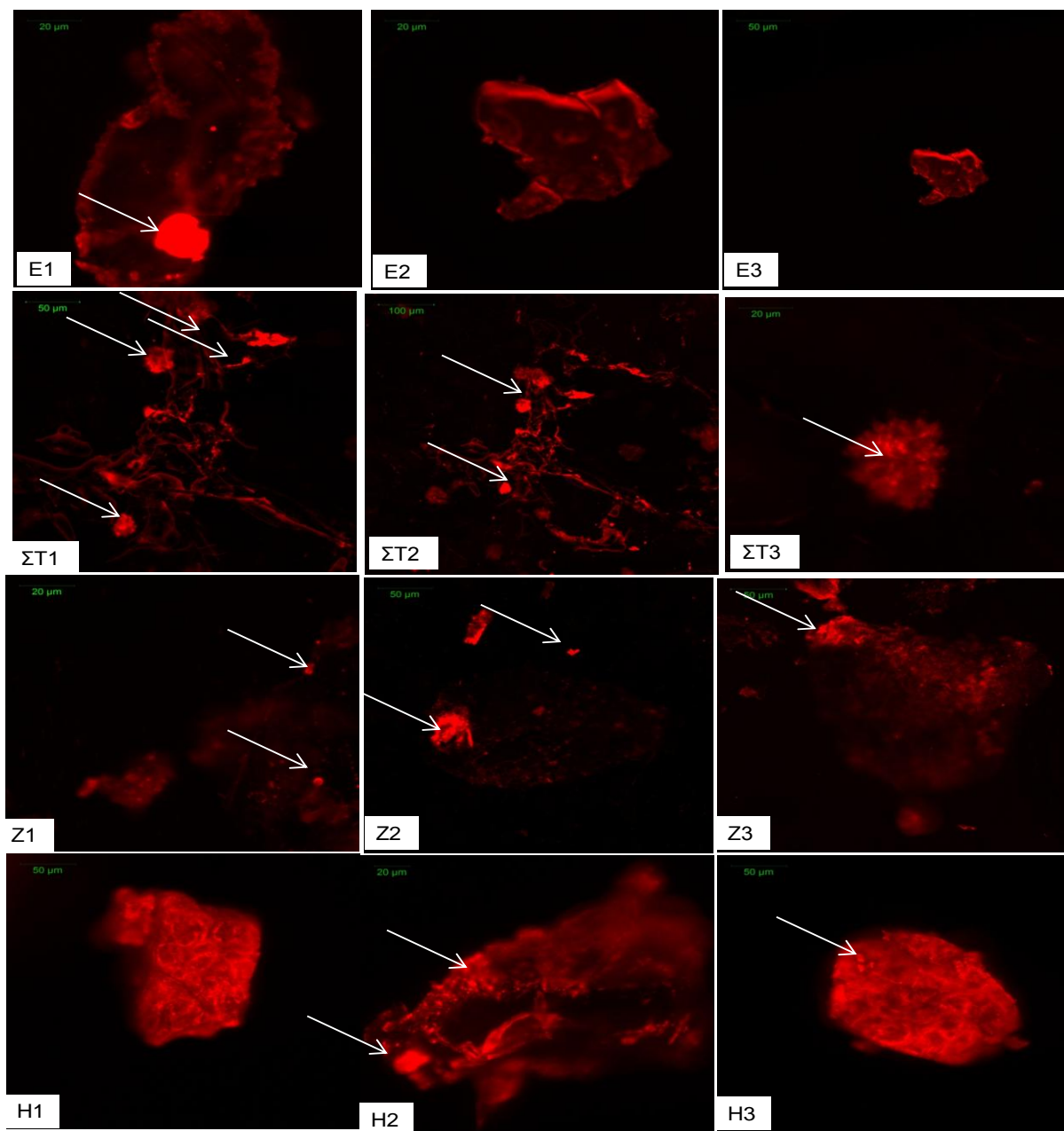


Σχήμα 4.100 Μικροφωτογραφίες CLSM συμπλόκων αμυλόζης παλμιτικό (Γ1, Γ2 & Γ3) και με στεατικό οξύ (Δ1, Δ2 & Δ3). Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50).

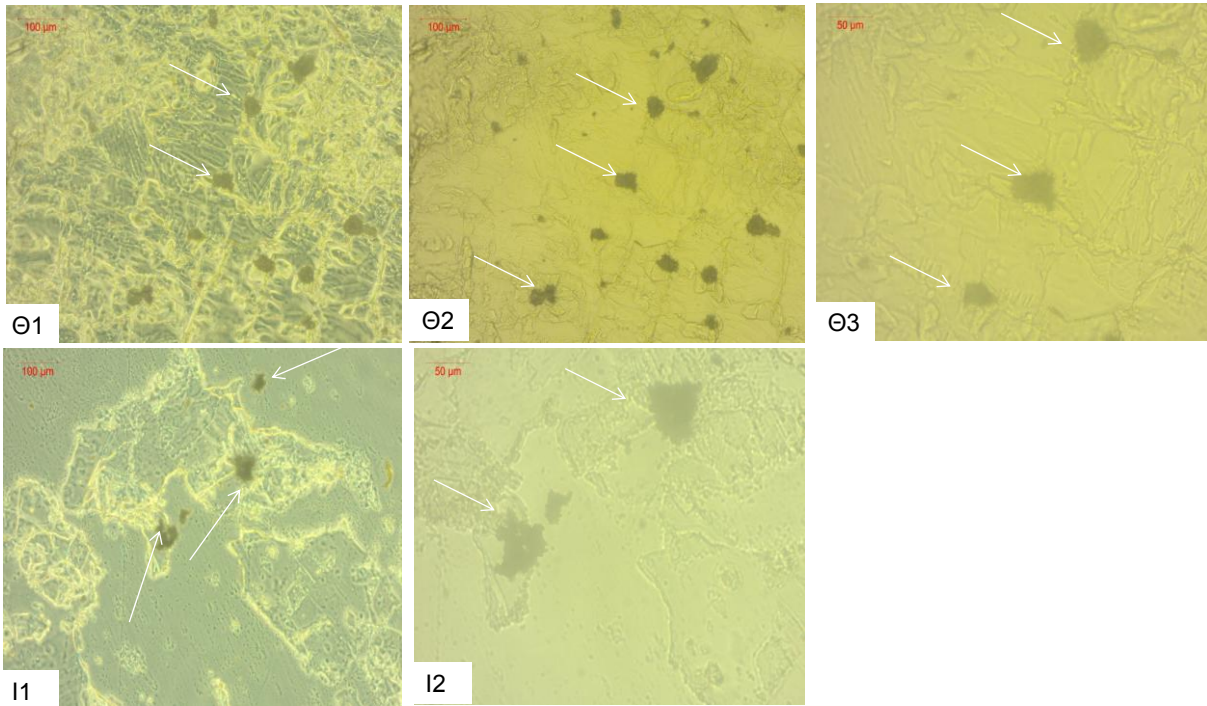
Όπως αναφέρθηκε στο πειραματικό μέρος, ως δείγμα αναφοράς (control) χρησιμοποιήθηκε μίγμα αμυλόζης και λιπαρού οξέος σε στερεή κατάσταση που διασπάρθηκε σε νερό (Ενότητα 3.10). Στο Σχήμα 4.101 απεικονίζονται μικροφωτογραφίες από το συνεστιακό μικροσκόπιο σάρωσης μιγμάτων αμυλόζης με δεκανοϊκό (E1, E2 & E3), με μυριστικό (ΣΤ1, ΣΤ2 & ΣΤ3), με παλμιτικό (Z1, Z2 & Z3) και με στεατικό οξύ (H1, H2 & H3) που παρασκευάστηκαν στους 30°C, αντίστοιχα. Επίσης, στο Σχήμα 4.102 παρουσιάζονται μικροφωτογραφίες από το οπτικό μικροσκόπιο μιγμάτων αμυλόζης με μυριστικού (Θ1, Θ2 & Θ3) και με παλμιτικό οξύ (I2 & I2) που παρασκευάστηκαν στους 30°C αντίστοιχα.

Οι μικροφωτογραφίες των μιγμάτων αμυλόζης-λιπαρών οξέων (Σχήμα 4.101) δείχνουν μια ανομοιογενή κατανομή των λιπαρών οξέων σε όλο τον κρύσταλλο της αμυλόζης. Συγκεκριμένα, παρατηρώντας τις μικροφωτογραφίες των μιγμάτων της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα, διαπιστώνεται ότι το λιπαρό οξύ κατανέμεται στην εξωτερική περιοχή (επιφάνεια) του κρυστάλλου της αμυλόζης και δεν εισέρχεται στο εσωτερικό της, υποδεικνύοντας ότι τα λιπαρά οξέα δεν αντέδρασαν με τη αμυλόζη και ότι απλά αναμίχθηκαν μαζί της. Στο ίδιο συμπέρασμα καταλήγουμε παρατηρώντας τις εικόνες από το οπτικό μικροσκόπιο (Σχήμα 4.102).

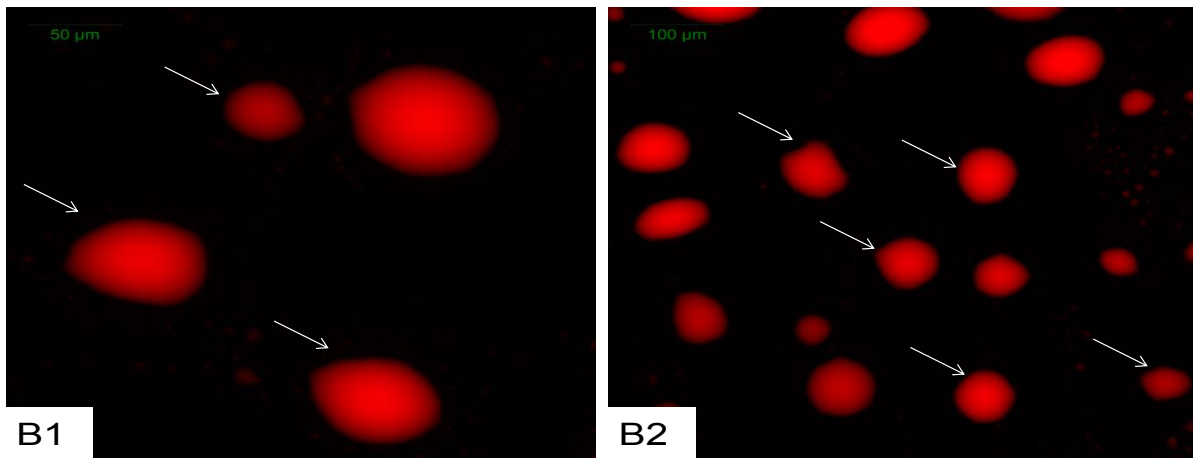
Στο Σχήμα 4.103 παρουσιάζονται μικροφωτογραφίες του ελαϊκού οξέος (B1 & B2) ενώ στο Σχήμα 4.104 απεικονίζονται μικροφωτογραφίες των συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30°C (Γ1 & Γ2), 50°C(Δ1 & Δ2) ή 70°C (E1& E2).



Σχήμα 4.101 Μικροφωτογραφίες CLSM μιγμάτων αμυλόζης - δεκανοϊκού (E1, E2 & E3), - μυριστικού (ΣΤ1, ΣΤ2 & ΣΤ3), - παλμιτικού (Z1, Z2 & Z3) και - στεατικού οξέος (H1, H2 & H3). Τα μίγματα παρασκευάστηκαν ύστερα από διασπορά της αμυλόζης και των λιπαρών οξέων σε νερό και δεν υπέστησαν κατεργασία με νερό και με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους. Τα βέλη συμβολίζουν περιοχές με κηλίδες λιπαρών οξέων.

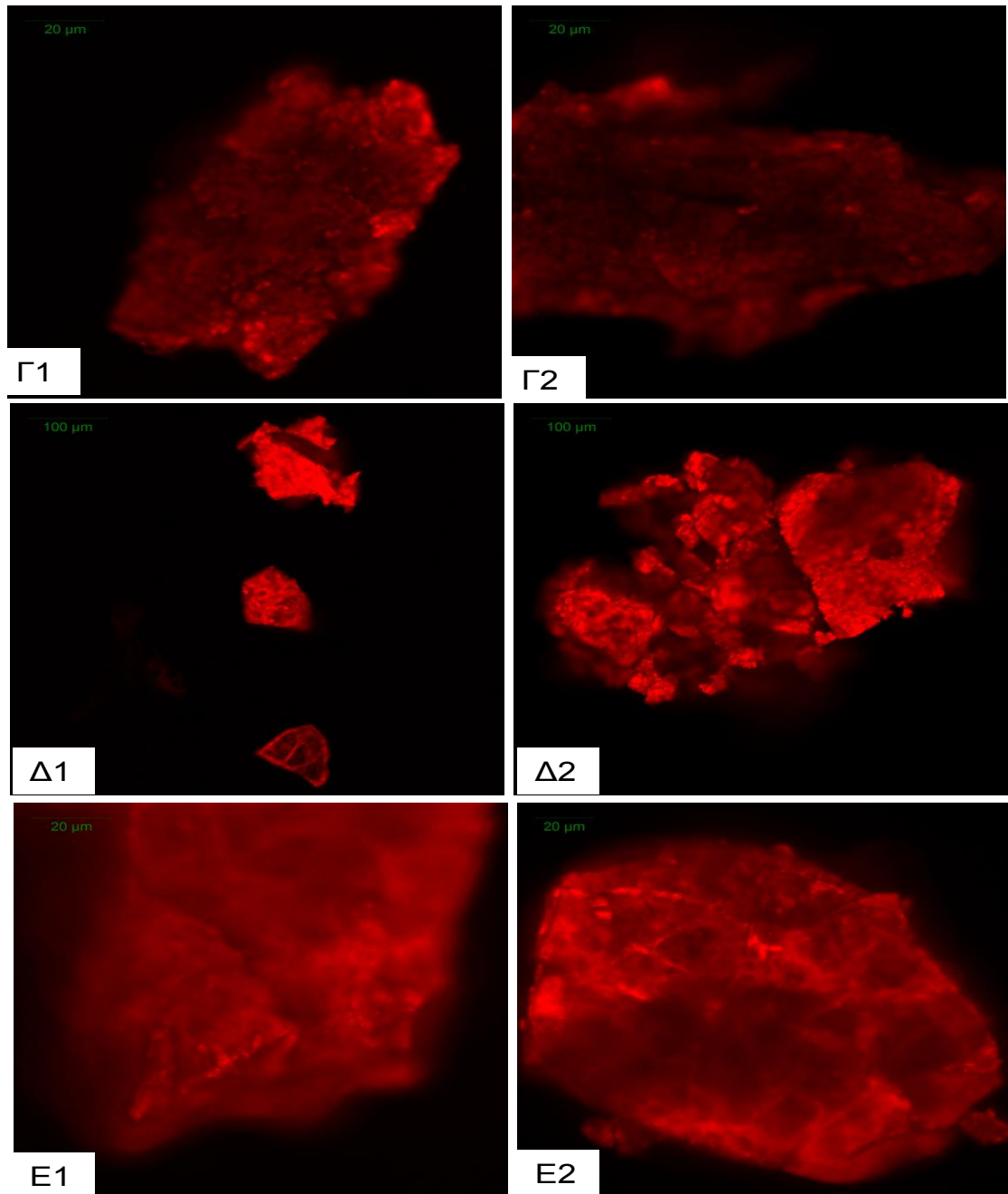


Σχήμα 4.102 Μικροφωτογραφίες οπτικού μικροσκοπίου σάρωσης μιγμάτων αμυλόζης με μυριστικό (Θ1, Θ2 & Θ3) και με παλμιτικό οξύ (Ι1 & Ι2) που παρασκευάστηκαν στους 30°C. Τα βέλη συμβολίζουν περιοχές με κηλίδες λιπαρών οξέων.

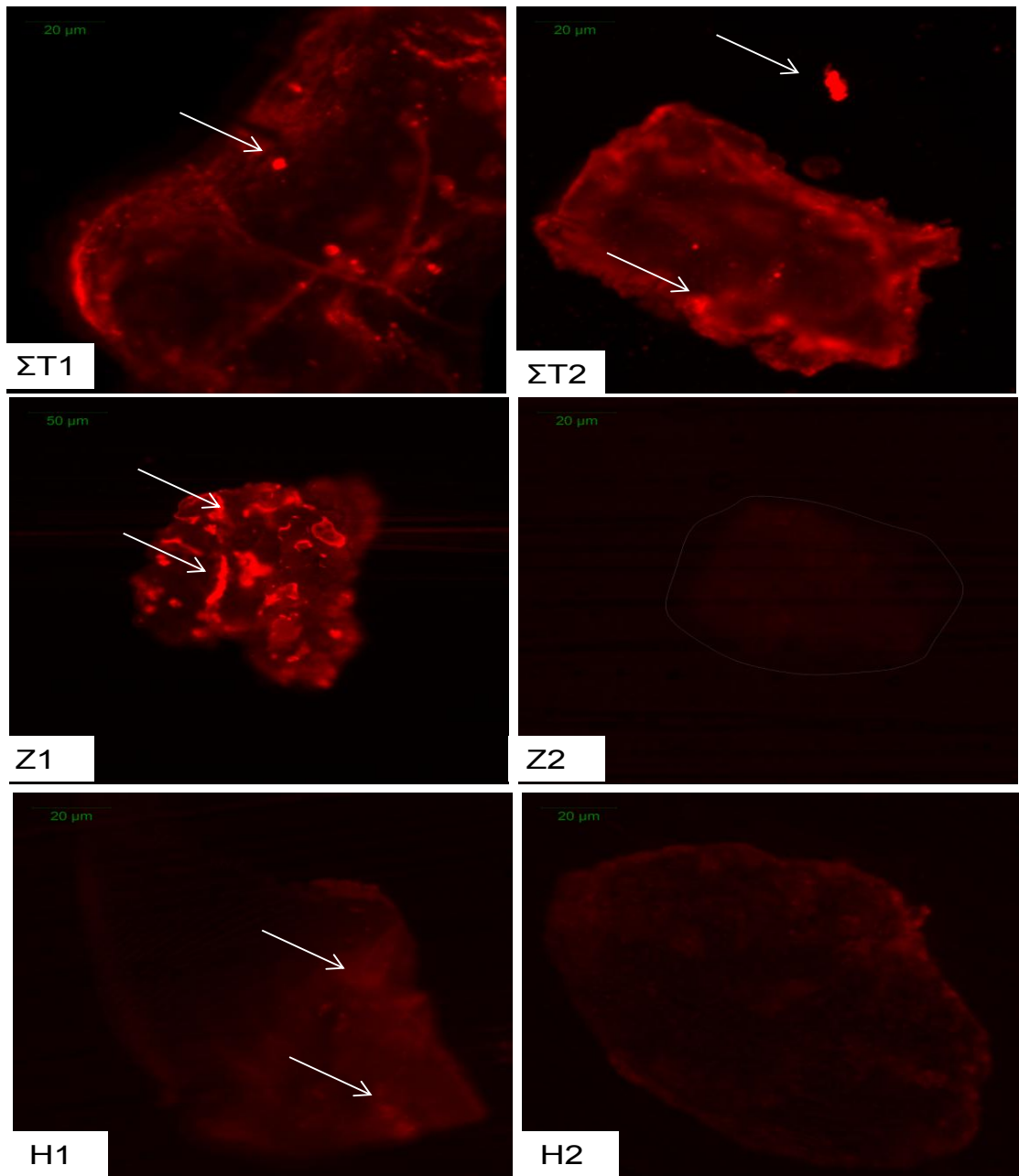


Σχήμα 4.103 Μικροφωτογραφίες CLSM σταγονιδίων ελαϊκού οξέος (B1, B2)

Στις μικροφωτογραφίες των συμπλόκων αμυλόζης με το ελαϊκό οξύ (Σχήμα 4.104), παρατηρείται μια ομοιογενής διάχυση του ελαϊκού οξέος σε όλη τη μήτρα της αμυλόζης γεγονός που αποδεικνύει την επιτυχή διείσδυση του λιπαρού οξέος στην έλικα της αμυλόζης. Παρόμοια εξήγηση δόθηκε και στην περίπτωση συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό & στεατικό οξύ. Στο Σχήμα 4.105 απεικονίζονται μικροφωτογραφίες μιγμάτων αμυλόζης και ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30°C (ΣΤ1 & ΣΤ2), 50°C (Ζ1 & Ζ2) ή 70°C (Η1 & Η2). Στις μικροφωτογραφίες των μιγμάτων αμυλόζης με ελαϊκό οξύ, παρατηρούνται έντονες φωτεινές περιοχές γύρω από τη μήτρα της αμυλόζης και μια ετερογενής κατανομή του λιπαρού οξέος στη μήτρα της αμυλόζης. Η απουσία του ελαϊκού οξέος στο εσωτερικό της μήτρας της αμυλόζης πιθανότατα αποδεικνύει ότι το ελαϊκό οξύ δεν εγκλείεται μέσα στην έλικα της αμυλόζης. Στις μικροφωτογραφίες των συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 50 και 70°C, διαπιστώνεται πιο έντονος φθορισμός του ελαϊκού οξέος σε σύγκριση με τις μικροφωτογραφίες των συμπλόκων αμυλόζης που παρασκευάστηκαν στους 30°C, γεγονός που πιθανώς δείχνει ότι τα σύμπλοκα εγκλεισμού εμφάνισαν μια πιο συμπαγή μορφή σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από τους 50°C και σχετίζεται με την αυξημένη κρυσταλλικότητά που παρουσιάζουν τα σύμπλοκα σε υψηλές θερμοκρασίες, όπως αποδείχθηκε από τα φάσματα περίθλασης ακτίνων Χ και από το βαθμό κρυσταλλικότητάς των συμπλόκων (Ενότητα 4.2.1)



Σχήμα 4.104 Μικροφωτογραφίες CLSM συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30°C (Γ1 & Γ2), 50 °C (Δ1 & Δ2) ή 70°C (E1 & E2). Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.100 κατά την παρασκευή τους.



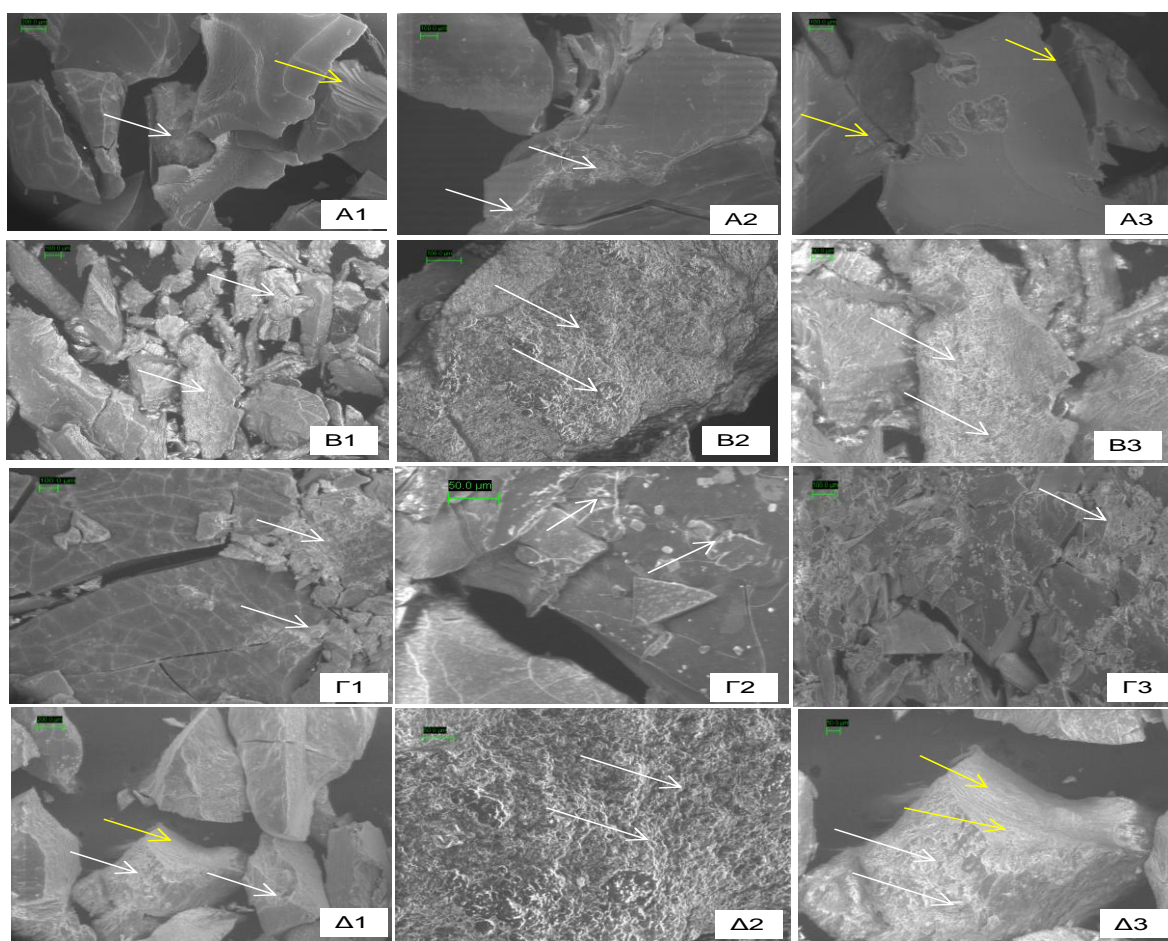
Σχήμα 4.105 Μικροφωτογραφίες CLSM μιγμάτων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30°C (ΣΤ1 & ΣΤ2), 50 °C (Ζ1 & Ζ2) ή 70°C (Η1 & Η2). Τα μίγματα παρασκευάστηκαν ύστερα από διασπορά της αμυλόζης και των λιπαρών οξέων σε νερό και κατόπιν δεν υπέστησαν κατεργασία με νερό και με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους. Τα βέλη συμβολίζουν περιοχές με κηλίδες λιπαρών οξέων.



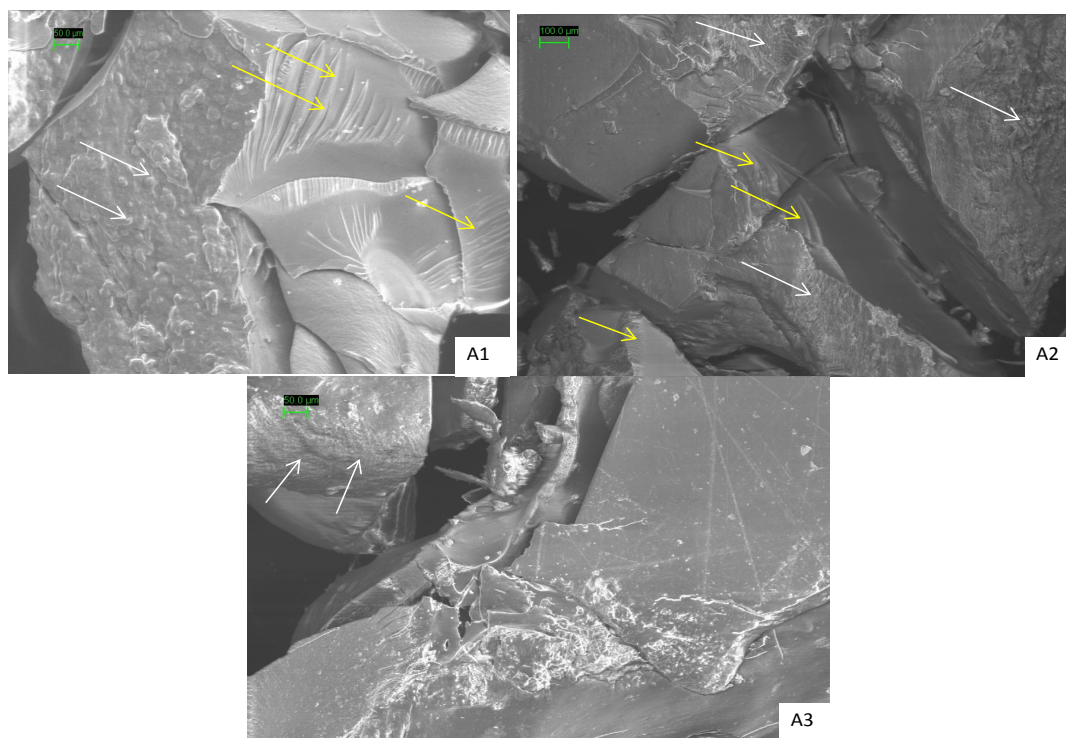
#### 4.6. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑΣ ΣΑΡΩΣΗΣ (SEM)

##### 4.6.1. Μικροσκοπική ανάλυση της δομής των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων

Οι μικροφωτογραφίες SEM των συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό & στεατικό οξύ που παρασκευάστηκαν στους 30°C απεικονίζονται στο Σχήμα 4.106 ενώ, στα Σχήματα 4.107 & 4.108 παρουσιάζονται οι μικροφωτογραφίες SEM των συμπλόκων αμυλόζης με ελαϊκό και με λινελαϊκό οξύ (CLA) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C.

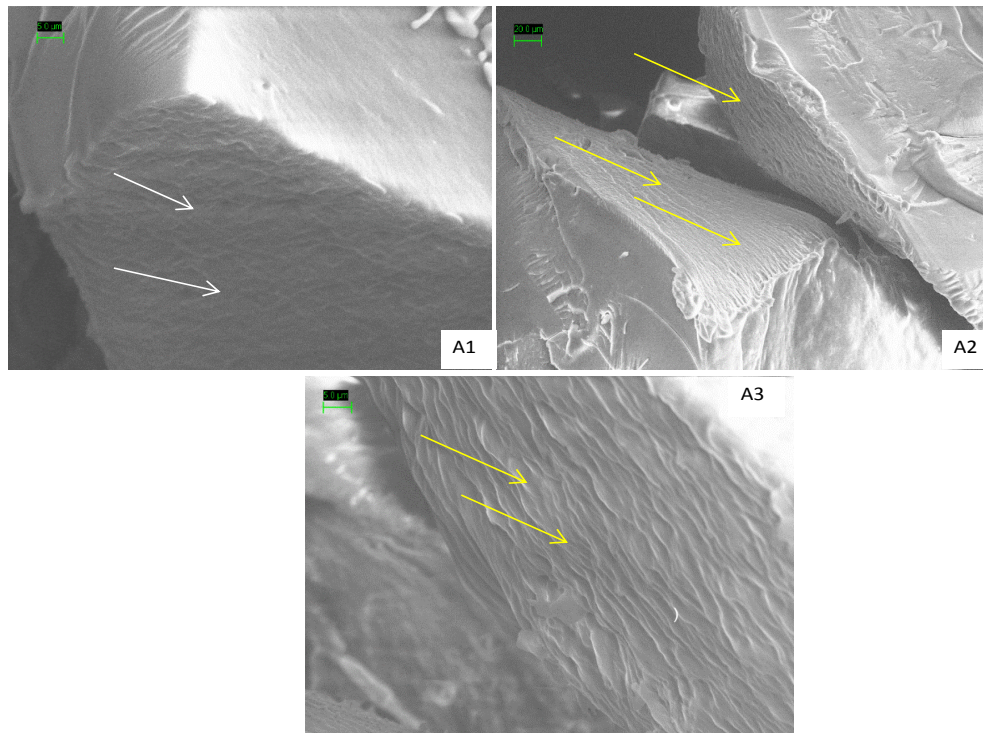


Σχήμα 4.106 Μικροφωτογραφίες SEM συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό (A1, A2 & A3), μυριστικό (B1, B2 & B3), παλμιτικό (Γ1, Γ2 & Γ3) και στεατικό οξύ (Δ1, Δ2 & Δ3). Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους. Τα άσπρα βέλη συμβολίζουν τους σφαιρουλίτες ενώ τα κίτρινα βέλη τις λαμέλλες.



Σχήμα 4.107 Μικροφωτογραφίες SEM συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30°C (A1), 50°C (A2) ή 70°C (A3). Τα σύμπλοκα επεξεργάστηκαν όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.106 κατά την παρασκευή τους. Τα άσπρα βέλη συμβολίζουν τους σφαιρουλίτες ενώ τα κίτρινα βέλη τις λαμέλλες

Η SEM έδειξε ότι μεταξύ των συμπλόκων αμυλόζης με τα κορεσμένα και με τα ακόρεστα λιπαρά οξέα δεν παρατηρήθηκαν διακριτές μορφολογικές διαφορές. Συγκεκριμένα, παρατηρώντας τις μικροφωτογραφίες των συμπλόκων, διαπιστώνεται ότι όλα τα σύμπλοκα εμφάνισαν συμπαγή και συνεκτική δομή. Σε όλες τις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα η επιφάνεια των συμπλόκων ήταν τραχεία με ραβδώσεις γεγονός που πιθανότατα σχετίζεται με την αυξημένη κρυσταλλικότητά τους. Επίσης, οι ραβδώσεις, που παρατηρήθηκαν στα σύμπλοκα εμφανίζονται όχι μόνο στην επιφάνεια των συμπλόκων αλλά και στο σημείο τομής τους, γεγονός που υποδεικνύει την ύπαρξη κρυσταλλικά διατεταγμένων δομών με τη μορφή γραμμώσεων σε όλη την επιφάνεια των συμπλόκων. Επιπλέον, παρατηρώντας τις μικροφωτογραφίες των συμπλόκων, διακρίνεται η παρουσία των κρυστάλλων των συμπλόκων είτε με τη μορφή των σφαιρουλιτών που προεξέχουν από την επιφάνεια των σωματιδίων ή με τη μορφή επιμηκυσμένων λαμελλών, που έχουν κυλινδρικό σχήμα και συναθροίζονται και διατάσσονται παράλληλα μεταξύ τους. Μεταξύ των λαμελλών διακρίνονται οι άμορφες περιοχές.



Σχήμα 4.108 Μικροφωτογραφίες SEM συμπλόκων αμυλόζης-λινελαϊκού οξέος (CLA) που παρασκευάστηκαν στους 30°C (A1), 50°C (A2) ή 70°C (A3). Τα σύμπλοκα επεξεργάστηκαν όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.106 κατά την παρασκευή τους. Τα άσπρα βέλη συμβολίζουν τους σφαιρουλίτες ενώ τα κίτρινα βέλη τις λαμέλλες

Παρόμοια οι Godet et al. (1996), με τεχνική της μικροσκοπίας μετάδοσης ηλεκτρονίου (Transmission Electron Microscopy, TEM), μελέτησαν τη μορφολογία των συμπλόκων κλασμάτων αμυλόζης με βαθμό πολυμερισμού (DP) 20, 40, 80 και 900 με λιπαρά οξέα διαφορετικού μήκους αλυσίδας (οκτανοϊκό, λαυρικό και παλμιτικό οξύ). Οι μικροφωτογραφίες TEM των συμπλόκων έδειξαν ότι τα σύμπλοκα αποτελούνταν από κρυσταλλικές περιοχές (οργανωμένες σε λαμέλλες) και άμορφες περιοχές, ο βαθμός οργάνωσης και οι διαστάσεις των οποίων εξαρτιόταν τόσο από το βαθμό πολυμερισμού της αμυλόζης όσο και από το μήκος αλυσίδας των λιπαρών οξέων.

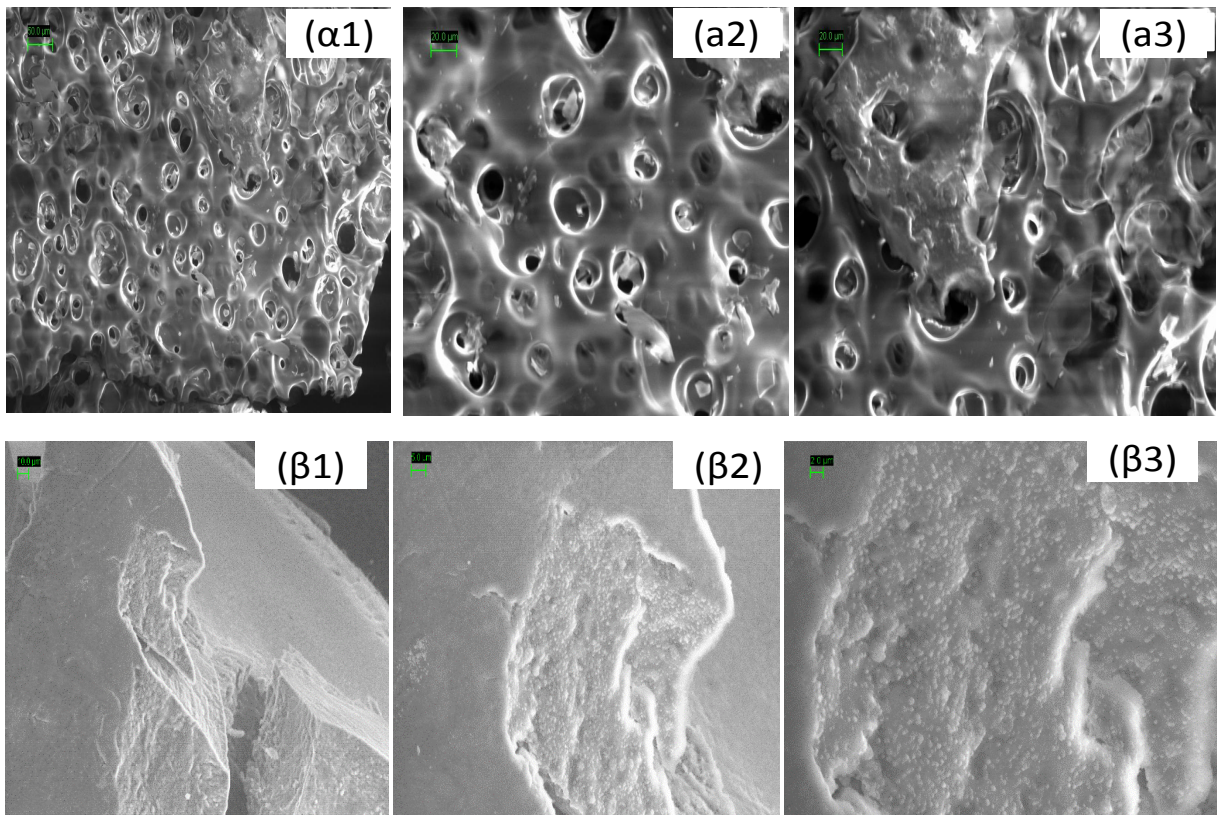
Αναφορικά με τη θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων, παρατηρώντας τις μικροφωτογραφίες των συμπλόκων αμυλόζης με ελαϊκό οξύ που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C (Σχήμα 4.107) και των συμπλόκων αμυλόζης-λινελαϊκού οξέος (CLA) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C (Σχήμα 4.108) δεν διαπιστώνονται διακριτές διαφορές στη μορφολογία τους. Συγκεκριμένα, στις μικροφωτογραφίες διαπιστώνεται ότι όλα τα σύμπλοκα εμφάνισαν παρόμοια μορφολογία, ανεξάρτητα της θερμοκρασίας παρασκευής τους. Παρόμοια, οι Zabar et al. (2009) μελέτησαν την μορφολογία των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων και ανέφεραν ότι η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων δεν επηρέασε σημαντικά την μικροδομή τους. Αντίθετα, οι Zabar et al.

(2010), παρατήρησαν σημαντικές διαφορές στη μορφολογία των συμπλόκων αμυλόζης-λαυρικού οξέος που παρασκευάστηκαν σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Συγκεκριμένα, οι συγγραφείς αναφέρουν ότι, τα σύμπλοκα αμυλόζης-λαυρικού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30 και 60°C εμφάνισαν ομοιόμορφη δομή χωρίς ετερογένειες και ανωμαλίες, ενώ στους 90°C εμφάνισαν πορώδη και συνεκτική δομή. Οι συγγραφείς απέδωσαν αυτή τη συμπεριφορά στην υψηλή θερμοκρασία συμπλοκοποίησης (90°C) την οποία θεωρούν ότι είναι κοντά στο σημείο ζέσεως του υδατικού διαλύματος (0,1N KOH) στο οποίο σχηματίστηκαν τα σύμπλοκα, κάτι που θεωρείται εντελώς απίθανο να έχει συμβεί. Οι Yamashita & Hirai (1966) ανέφεραν ότι η μορφολογία των συμπλόκων αμυλόζης με ισομερή βουτυλικής αλκοόλης, ήταν αυτή των ορθογώνιων λαμελλών, ενώ όταν η συγκέντρωση των συμπλόκων ήταν αρκετά υψηλή, οι λαμέλλες μετασχηματίστηκαν σε σφαιρουλίτες. Οι ερευνητές ανέφεραν ότι η κρυσταλλική δομή των συμπλόκων ήταν εκείνη των αναδιπλωμένων λαμελλών (folded lamellae).

Με γνώμονα τα δεδομένα της παρούσας εργασίας, συνάγεται ότι τα σύμπλοκα αμυλόζης-λιπαρών οξέων εμφάνισαν συμπαγή και συνεκτική δομή και επιπλέον σε όλες τις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα, η μορφολογία των συμπλόκων ήταν ανεξάρτητη τόσο του μήκους αλυσίδας όσο και του βαθμού ακορεστότητας των λιπαρών οξέων καθώς και της θερμοκρασίας παρασκευής των συμπλόκων.

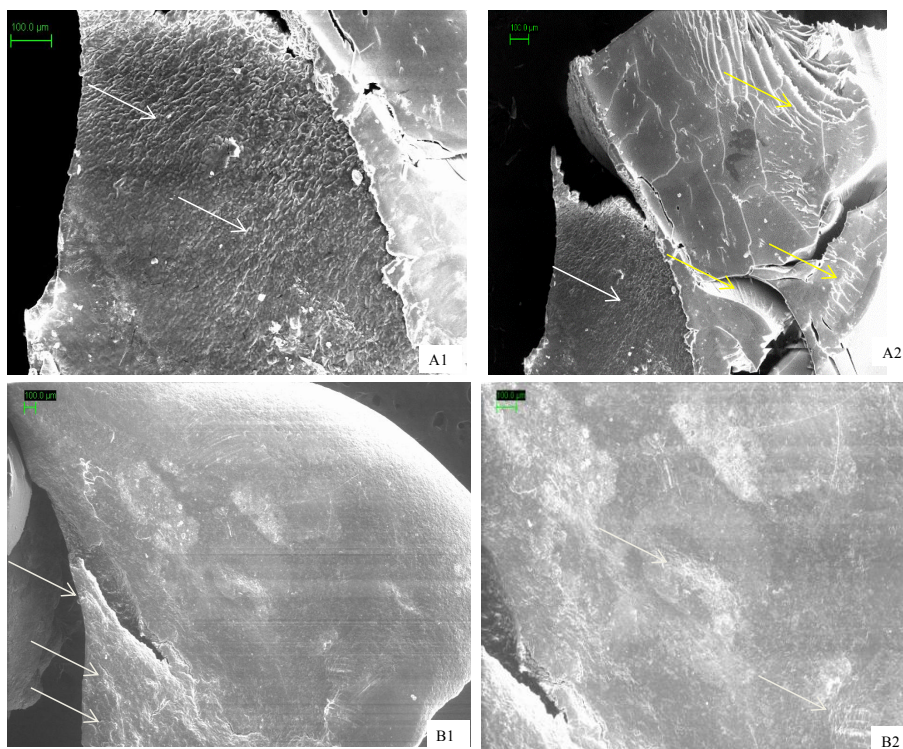
#### **4.6.2. Μικροσκοπική ανάλυση της δομής των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (pregel)-λιπαρών οξέων**

Οι μικροφωτογραφίες από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) του pregel ως έχει και μετά από διαλυτοποίησή του στους 90°C για ~10 min σε διάλυμα 0,1N KOH και ακόλουθη ξήρανσή στο περιβάλλον σε ρεύμα αέρα, παρουσιάζονται στο Σχήμα 4.109, ενώ στο Σχήμα 4.110 απεικονίζονται οι μικροφωτογραφίες των συμπλόκων pregel με μυριστικό και παλμιτικό οξύ που παρασκευάστηκαν στους 30°C. Από τις μικροφωτογραφίες SEM των συμπλόκων της αμυλόζης με ελαϊκό και με λινελαϊκό οξύ (Ενότητα 4.6.1) αποδεικνύεται ότι η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων, το μήκος αλυσίδας και ο βαθμός ακορεστότητας των λιπαρών οξέων δεν επηρέασαν τη μορφολογία των δειγμάτων, οπότε στην περίπτωση των συμπλόκων pregel απεικονίζονται μόνο αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες.



Σχήμα 4.109 Μικροφωτογραφίες SEM pregel (α1, α2 & α3) ως έχει και μετά από διαλυτοποίηση στους 90° C για ~10 min σε αλκαλικό περιβάλλον (0,1N KOH) και ακόλουθη φυσική ξήρανσή σε ρεύμα αέρα (β1, β2 & β3).

Στις μικροφωτογραφίες του pregel ως έχει (α1, α2 & α3) (Σχήμα 4.109) παρατηρείται η κυψελωτή δομή του με την παρουσία στην επιφάνεια χαρακτηριστικών πόρων. Αντίστοιχη δομή παρατηρήθηκε και από τους Laonachirasuwan et al. (2010) σε δείγματα προζελατινοποιημένου αμύλου σιταριού που παράχθηκε σε ξηραντήριο τυμπάνων. Ωστόσο, στις μικροφωτογραφίες του pregel που διαλυτοποιήθηκε σε διάλυμα KOH (0,1N) στους 90°C για 10min και μετά ξηράνθηκε στο περιβάλλον, παρατηρείται ότι η κυψελωτή δομή εξαφανίσθηκε και αντ' αυτού εμφάνισε μια συμπαγή ετερογενή δομή όπου διακρίνεται η παρουσία κρυστάλλων καυστικού καλίου. Όπως αποδείχθηκε από φάσματα περίθλασης ακτίνων X (Ενότητα 4.2.2), η διαλυτοποίησή του pregel σε διάλυμα 0,1N KOH για 10 min και η ξήρανσή του υπό την επίδραση συνεχούς ρεύματος αέρα στους 25°C, οδήγησε στη δημιουργία ενός πλήρως άμορφου αμύλου. Συγκεκριμένα, η βίαιη και ακαριαία εξάτμιση του νερού στο ξηραντήριο τυμπάνων κατά την αφυδάτωση έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία χαρακτηριστικών πόρων από όπου διαφεύγουν οι υδρατμοί (Σχήμα 4.109 α1, α2, α3). Ωστόσο, όπως προαναφέρθηκε (Ενότητα 4.2.2), η διαλυτοποίησή του pregel σε διάλυμα 0,1N KOH στους 90°C για 10 min και η ακόλουθη ξήρανσή του συστήματος οδήγησε σε αύξηση της



Σχήμα 4.110 Μικροφωτογραφίες SEM pregel με μυριστικό (A1 & A2) και συμπλόκων pregel με παλμιτικό οξύ (B1 & B2) που παρασκευάστηκαν στους 30° C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και έπειτα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους. Τα άσπρα βέλη συμβολίζουν τους σφαιρουλίτες ενώ τα κίτρινα βέλη τις λαμέλλες

συγκέντρωσης του αλκάλειου στη μήτρα του αμύλου με αποτέλεσμα την εμφάνιση κρυστάλλων στην επιφάνεια του αμύλου.

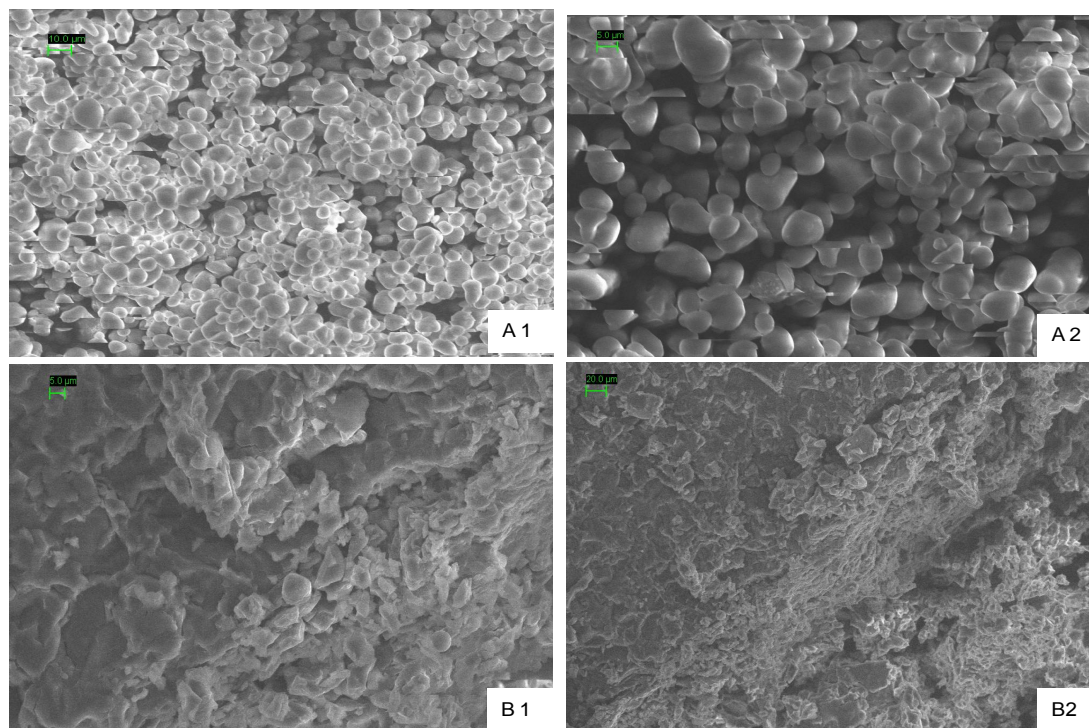
Στις μικροφωτογραφίες των συμπλόκων pregel με μυριστικό (A1 & A2) (Σχήμα 4.110) και με παλμιτικό οξύ (B1 & B2) που παρασκευάστηκαν στους 30°C, διαπιστώνεται ότι τα σύμπλοκα εμφάνισαν συνεκτική, συμπαγή και διαστρωματωμένη δομή, χωρίς την παρουσία των χαρακτηριστικών πόρων γεγονός που υποδηλώνει αυξημένη κρυσταλλικότητά των συμπλόκων. Επιπλέον, παρατηρώντας τις μικροφωτογραφίες των συμπλόκων διακρίνεται η παρουσία των κρυστάλλων των συμπλόκων είτε με τη μορφή του σφαιρουλιτών που προεξέχουν από την επιφάνεια των σωματιδίων είτε με τη μορφή επιμηκυσμένων λαμελλών, που έχουν κυλινδρικό σχήμα και συναθροίζονται και διατάσσονται παράλληλα μεταξύ τους. Μεταξύ των λαμελλών διακρίνονται οι άμορφες περιοχές.

Επομένως, με βάση τα παραπάνω, συμπεραίνεται ότι ο εγκλεισμός των λιπαρών οξέων στην έλικα της αμυλόζης τροποποίησε ολοκληρωτικά τη μορφολογία του pregel. Σύγκριση των μικροφωτογραφιών των συμπλόκων pregel με λιπαρά οξέα με τις αντίστοιχες των συμπλόκων

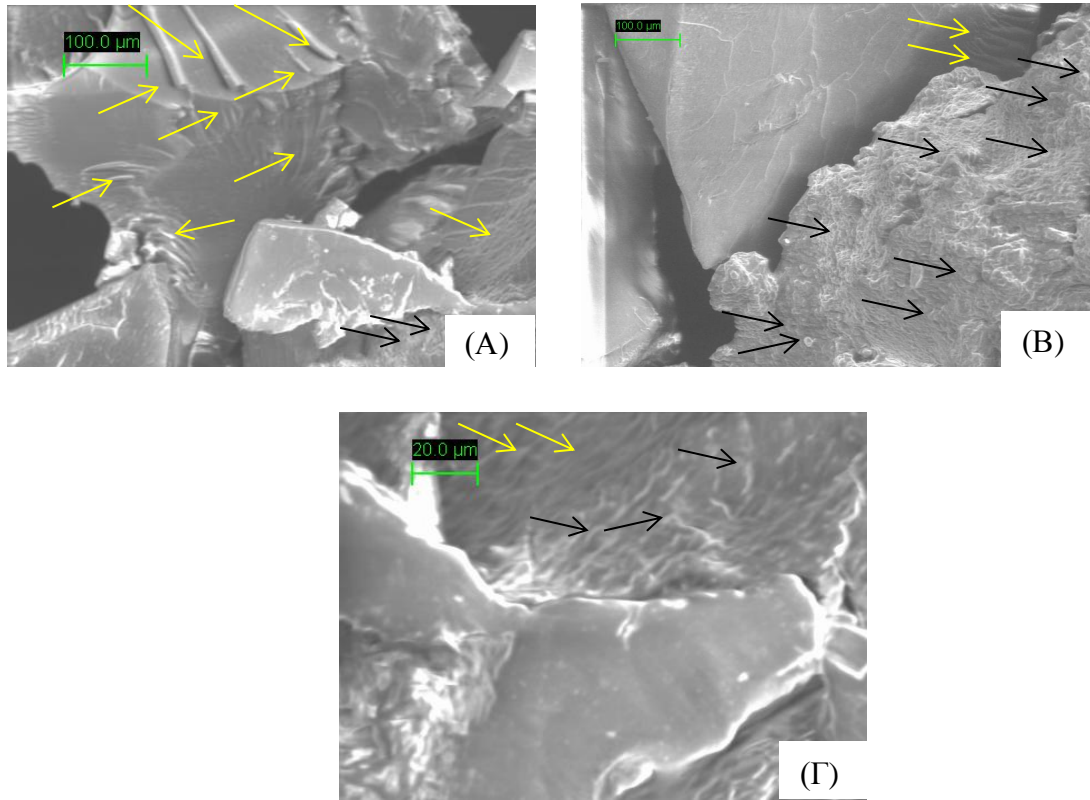
αμυλόζης δείχνει ότι είναι ταυτόσημες γεγονός που υποδηλώνει ότι η πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε για τη συμπλοκοποίηση (καθαρή αμυλόζη ή pregel) δεν παίζει κανένα ρόλο.

#### 4.6.3. Μικροσκοπική ανάλυση της δομής των συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης (Hylon VII)-λιπαρών οξέων

Στο Σχήμα 4.111 παρουσιάζονται μικροφωτογραφίες SEM του φυσικού αμύλου Hylon VII (A1 & A2) και μετά από διαλυτοποίησή του στους 90°C για ~10 min σε αλκαλικό διάλυμα 0,1 N KOH και ακόλουθη φυσική ξήρανσή σε ρεύμα αέρα, ενώ στο Σχήμα 4.112 απεικονίζονται μικροφωτογραφίες SEM των συμπλόκων Hylon VII με μυριστικό (Σχήμα 4.112A), παλμιτικό (Σχήμα 4.112B) και στεατικό οξύ (Σχήμα 4.112A) που παρασκευάστηκαν στους 30°C. Στις μικροφωτογραφίες του φυσικού Hylon VII (A1 & A2) διαπιστώνεται η παρουσία αμυλοκόκκων, ενώ στο θερμικά επεξεργασμένο, διαπιστώνεται η παρουσία μικρού αριθμού αμυλοκόκκων και εμφανίζεται μια συμπαγή άμορφη συνεκτική μάζα που οφείλεται στη δημιουργία μιας ενιαίας μήτρας της γλουκάνης.



Σχήμα 4.111 Μικροφωτογραφίες SEM φυσικού αμύλου Hylon VII (A1 & A2) ως έχει και μετά από διαλυτοποίησή στους 90° C για ~10 min σε αλκαλικό περιβάλλον (0,1N KOH) και ακόλουθη φυσική ξήρανσή σε ρεύμα αέρα (B1 & B2).



Σχήμα 4.112 Μικροφωτογραφίες SEM συμπλόκων Hylon VII με μυριστικό (Α), παλμιτικό (Β) και στεατικό οξύ (Γ) που παρασκευάστηκαν στους 30°C. Τα συμπλόκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και έπειτα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν τη ξήρανσή τους. Τα μαύρα βέλη συμβολίζουν τους σφαιρουλίτες ενώ τα κίτρινα βέλη τις λαμέλλες.

Παρόμοια με τις περιπτώσεις των συμπλόκων αμυλόζης και pregel, η μορφολογία των συμπλόκων του Hylon VII με τα λιπαρά οξέα ήταν τραχεία με έντονες ραβδώσεις σε όλη την επιφάνεια τους που αποτελεί ένδειξη αυξημένης κρυσταλλικότητας των συμπλόκων. Σε όλες τις μικροφωτογραφίες των συμπλόκων διακρίνεται η παρουσία των κρυστάλλων των συμπλόκων είτε με τη μορφή του σφαιρουλιτών που προεξέχουν από την επιφάνεια των σωματιδίων είτε με τη μορφή επιμηκυσμένων λαμελλών, που έχουν κυλινδρικό σχήμα και συναθροίζονται και διατάσσονται παράλληλα μεταξύ τους. Μεταξύ των λαμελλών διακρίνονται οι άμορφες περιοχές. Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώνει ότι η συμπλοκοποίηση είναι ανεξάρτητη της πρώτης ύλης που χρησιμοποιήθηκε (καθαρή αμυλόζη, pregel, Hylon VII).

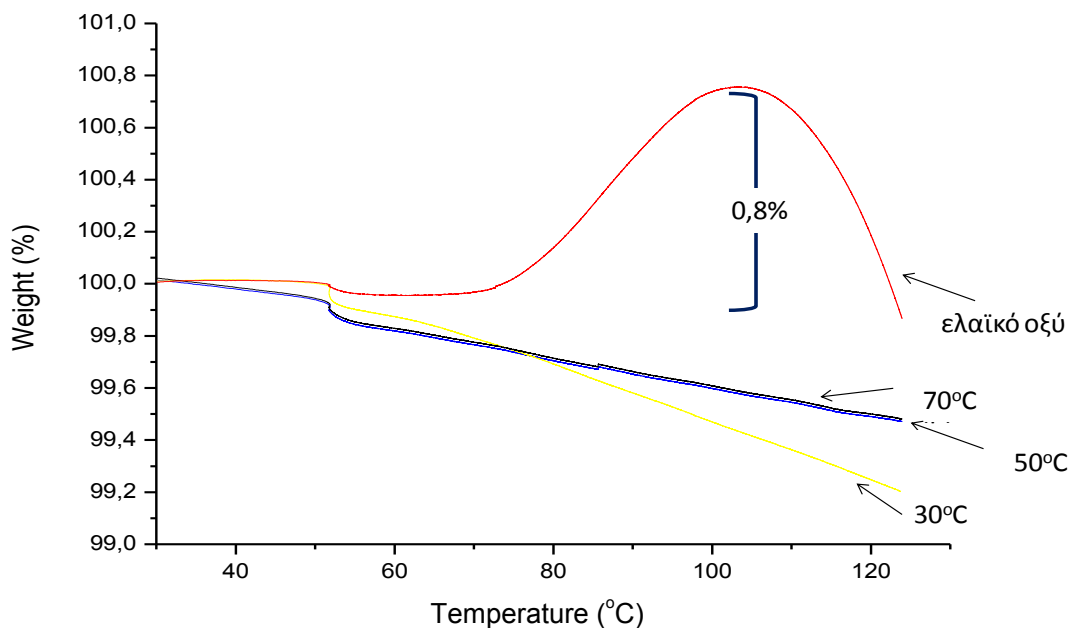
Συμπερασματικά, με βάση τα αποτελέσματα που ελήφθησαν από την ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης προκύπτει ότι η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων, το μήκος αλυσίδας και ο βαθμός ακορεστότητας των λιπαρών οξέων, το ποσοστό της διαθέσιμης αμυλόζης και η παρουσία της αμυλοπηκτίνης δεν επηρεάζουν τη μορφολογία των συμπλόκων.



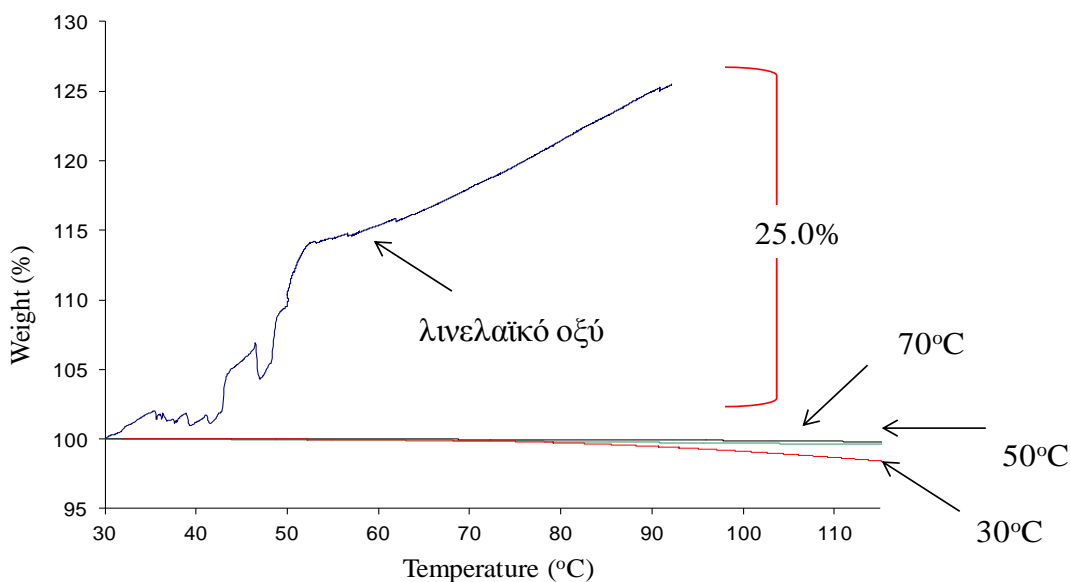
#### 4.7. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΣΤΑΘΜΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ (TGA)

##### 4.7.1. Μελέτη της οξειδωτικής σταθερότητας των συμπλόκων αμυλόζης με ελαϊκό και λινελαϊκό οξύ (CLA)

Στο Σχήμα 4.113 απεικονίζονται οι καμπύλες θερμοσταθμικής ανάλυσης του ελαϊκού οξέος και των συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος, ενώ στο Σχήμα 4.114 παρουσιάζονται οι καμπύλες θερμοσταθμικής ανάλυσης του λινελαϊκού οξέος και των συμπλόκων αμυλόζης με λινελαϊκό οξύ. Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε ατμόσφαιρα οξυγόνου.



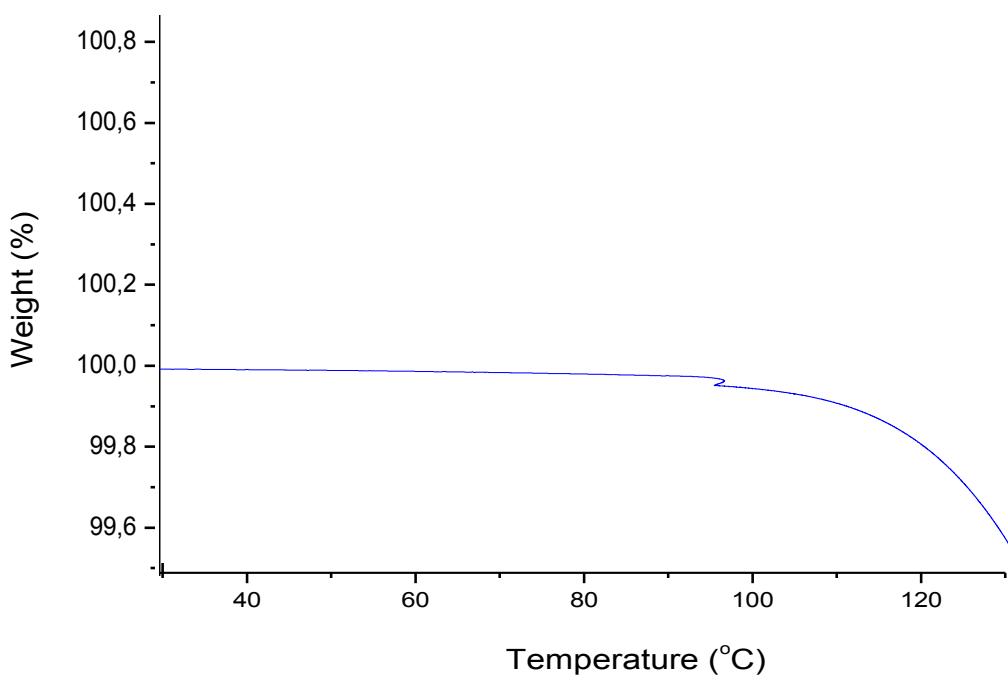
Σχήμα 4.113 Καμπύλες θερμοσταθμικής ανάλυσης ελαϊκού οξέος και συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.



Σχήμα 4.114 Καμπύλες θερμοσταθμικής ανάλυσης λινελαϊκού οξέος (CLA) και συμπλόκων αμυλόζης-λινελαϊκού οξέος (CLA) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους

Παρατηρώντας την καμπύλη του ελαϊκού οξέος, διαπιστώνεται μια μικρή αύξηση (0,8%) στη μάζα του λιπαρού οξέος από τους 50 έως τους 102°C ( $T_{max}$ ), ενώ στην περίπτωση του λινελαϊκού οξέος διαπιστώνεται μια αύξηση (25,0%) της μάζας του από τους 30 έως τους 103°C που πιθανότατα οφείλεται στην θερμική οξείδωσή τους. Πιθανότατα, κατά τη διάρκεια της θέρμανσης λόγω αύξησης της θερμοκρασίας, τα ομόλογα C-H στα άτομα άνθρακα γειτονικά στον διπλό δεσμό διασπώνται, οδηγώντας στην αφαίρεση του υδρογόνου και στην προσκόλληση του οξυγόνου στους ακόρεστους δεσμούς, με αποτέλεσμα το σχηματισμό υπεροξειδίων. Όπως ήταν αναμενόμενο, στην περίπτωση του λινελαϊκού οξέος (CLA), η αύξηση της μάζας ήταν μεγαλύτερη σε σχέση με το ελαϊκό οξύ καθώς το λινελαϊκό οξύ (CLA) έχει μεγαλύτερη ακορεστότητα και επομένως προσλαμβάνει μεγαλύτερη ποσότητα οξυγόνου. Επίσης, δεδομένου ότι η αύξηση της μάζας του λινελαϊκού οξέος (CLA) ξεκίνησε από τους 30°C, ενώ στο ελαϊκό οξύ από τους 50°C, επιβεβαιώνει την ευαισθησία του λινελαϊκού οξέος (CLA) στην οξείδωση σε σχέση με το ελαϊκό οξύ. Σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 103°C παρατηρείται μια σημαντική μείωση στη μάζα του ελαϊκού οξέος λόγω της θερμικής αποικοδόμησής του.

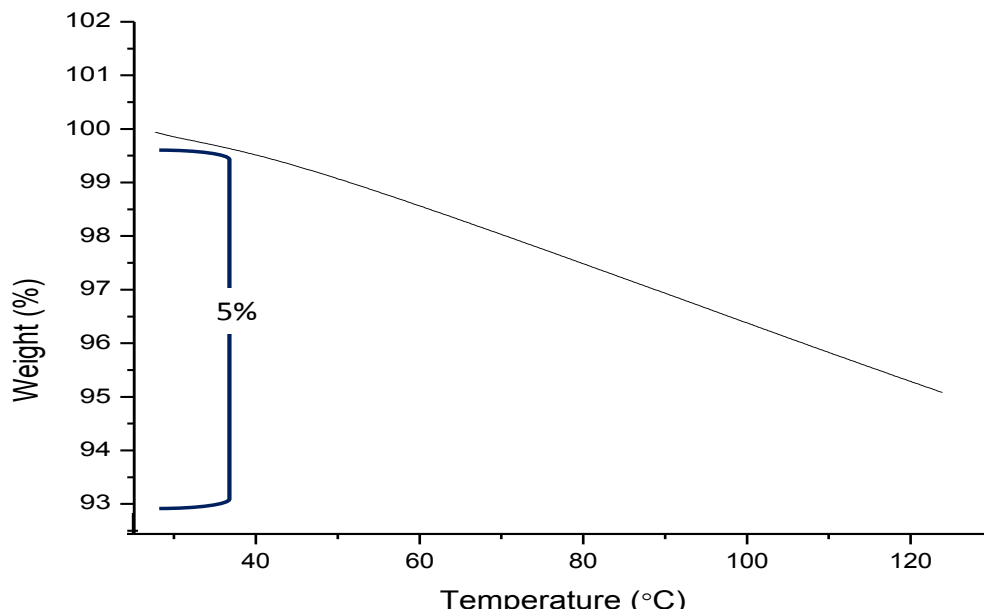
Στο Σχήμα 4.115 απεικονίζεται η καμπύλη θερμοσταθμικής ανάλυσης του ελαϊκού οξέος υπό ατμόσφαιρα αζώτου που, όπως αναμενόταν δεν παρατηρήθηκε καμία αύξηση στη μάζα του λιπαρού οξέος. Ωστόσο, παρατηρώντας την καμπύλη διαπιστώνεται ότι σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από τους 103°C παρατηρείται μια μείωση στη μάζα του που επιβεβαιώνει τη θερμική αποικοδόμηση του, όπως παρόμοια παρατηρήθηκε και στην καμπύλη θερμοσταθμικής ανάλυσης του ελαϊκού οξέος σε ατμόσφαιρα οξυγόνου (Σχήμα 4.113).



Σχήμα 4.115 Καμπύλες θερμοσταθμικής ανάλυσης ελαϊκού οξέος σε ατμόσφαιρα αζώτου.

Στην περίπτωση των συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος και των συμπλόκων αμυλόζης-λινελαϊκού οξέος (CLA) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C (Σχήματα 4.113 & 4.114), δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή στην μάζα τους που σημαίνει ότι ο εγκλεισμός των λιπιδίων στην έλικα της αμυλόζης τα προστάτευσε αποτελεσματικά έναντι της οξειδωσης. Ωστόσο, παρατηρείται μικρή απώλεια (<1%) μάζας, που πιθανότατα οφείλεται στην εξάτμιση της υπολειμματικής υγρασίας των συμπλόκων. Όπως αναφέρθηκε στο πειραματικό μέρος (Ενότητα 4.3.12), στα σύμπλοκα η αρχική τους υγρασία ήταν ~8%. Ωστόσο, πριν τη μελέτη τους πραγματοποιήθηκε ξήρανσή υπό κενό για 48 h με σκοπό την απομάκρυνση του μεγαλύτερου ποσοστού υγρασίας. Στο Σχήμα 4.116 παρουσιάζεται η καμπύλη θερμοσταθμικής ανάλυσης των συμπλόκων αμυλόζης με το

ελαϊκό οξύ με αρχικό ποσοστό υγρασίας ~ 8%, όπου παρατηρείται μια μείωση του βάρους των συμπλόκων (~5%) που οφείλεται σε υπολειμματική υγρασία των συμπλόκων.

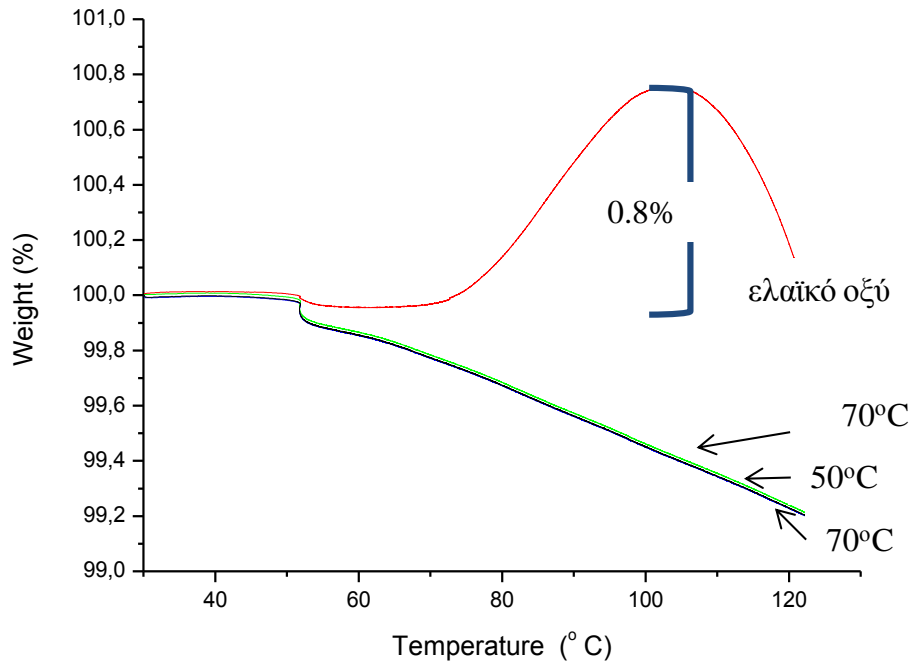


Σχήμα 4.116 Καμπύλη θερμοσταθμικής ανάλυσης σε ρεύμα οξυγόνου συμπλόκου αμυλόζης-ελαϊκού οξέος (υγρασίας ~8%) που παρασκευάστηκαν στους 30°C. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία όπως προαναφέρθηκε στο Σχήμα 4.113 πριν την παρασκευή τους.

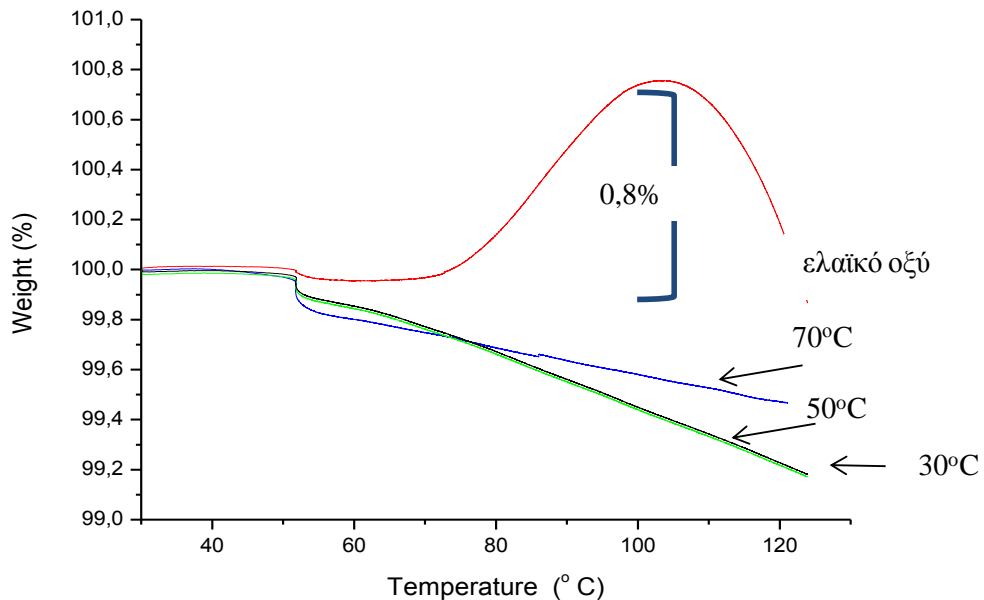
#### 4.7.2. Μελέτη της οξειδωτικής σταθερότητας των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου (pregel) και αμύλου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης (Hylon VII) με ελαϊκό οξύ

Στο Σχήμα 4.117 απεικονίζονται οι καμπύλες θερμοσταθμικής ανάλυσης του ελαϊκού οξέος και των συμπλόκων pregel-ελαϊκού οξέος σε ατμόσφαιρα οξυγόνου, ενώ στο Σχήμα 4.118 παρουσιάζονται οι καμπύλες θερμοσταθμικής ανάλυσης του ελαϊκού οξέος και των συμπλόκων Hylon VII-ελαϊκού οξέος σε ατμόσφαιρα οξυγόνου.

Παρόμοια με την περίπτωση των συμπλόκων αμυλόζης με ελαϊκό οξύ (Ενότητα 4.7.1), στα σύμπλοκα pregel και Hylon VII με το ελαϊκό οξύ που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C (Σχήματα 4.117 & 4.118), δεν παρατηρείται καμία σημαντική αλλαγή (σταθερή κατάσταση) στην μάζα των συμπλόκων που σημαίνει ότι τα σύμπλοκα προστάτευσαν αποτελεσματικά το ελαϊκό οξύ έναντι της οξείδωσης. Επίσης, η μικρή απώλεια (<1%) μάζας που παρατηρείται στις καμπύλες θερμοσταθμικής ανάλυσης των συμπλόκων οφείλεται στην εξάτμιση της υπολειμματικής υγρασίας των συμπλόκων.



Σχήμα 4.117 Καμπύλες θερμοσταθμικής ανάλυσης ελαϊκού οξέος και συμπλόκων pregel-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα συμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.



Σχήμα 4.118 Καμπύλες θερμοσταθμικής ανάλυσης ελαϊκού οξέος και συμπλόκων αμύλου Hylon VII-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Τα συμπλοκα ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και κατόπιν υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους.

*4.8. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΒΑΘΜΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΜΗ ΣΥΜΠΛΕΓΜΕΝΩΝ (ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ) ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΕΓΜΕΝΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΣΤΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΑΜΥΛΟΖΗΣ-ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΑΕΡΙΑΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ*

**4.8.1. Προσδιορισμός των μη συμπλεγμένων (ελεύθερων) λιπαρών οξέων και συμπλεγμένων λιπαρών οξέων στα σύμπλοκα αμυλόζης-λιπαρών οξέων**

Στον Πίνακα 4.6 παρουσιάζεται η % συγκέντρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων των συμπλόκων αμυλόζης που κατά την παρασκευή τους υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50). Η περίσσεια των ελεύθερων λιπαρών οξέων παραλήφθηκε με διαιθυλαιθέρα και προσδιορίστηκε με αέρια χρωματογραφία. Με σκοπό τη παραλαβή των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων τα σύμπλοκα, υδρολύθηκαν ενζυμικά με τη χρήση α-αμυλάσης και αμυλογλυκοσιδάσης και έπειτα τα λιπαρά οξέα παραλήφθηκαν με εκχύλιση με υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub> και προσδιορίστηκαν με αέρια χρωματογραφία, όπως περιγράφεται αναλυτικά στην Ενότητα 3.2.14.

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 4.6, η συγκέντρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων με αέρια χρωματογραφία κυμάνθηκε μεταξύ 0-1,6%, ενώ το ποσοστό του λιπαρού οξέος που δεν απομακρύνθηκε με το διαιθυλαιθέρα και θεωρήθηκε ότι είτε συμπλέχθηκε με την αμυλόζη είτε παγιδεύτηκε μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης (ποσοστό συμπλεγμένου και παγιδευμένου λιπαρού οξέος υπολογισμένο από διαφορά) κυμάνθηκε μεταξύ 98,4-100%. Παρατηρώντας τον Πίνακα 4.6 διαπιστώνεται ότι το ποσοστό των ελεύθερων λιπαρών οξέων που απομακρύνθηκαν μετά από κατεργασία με διαιθυλαιθέρα των συμπλόκων αμυλόζης με στεατικό οξύ και με παλμιτικό οξύ ήταν μεγαλύτερο, σε σχέση με το ποσοστό των ελεύθερων λιπαρών οξέων των συμπλόκων αμυλόζης με το μυριστικό οξύ. Αντίθετα, στην περίπτωση των συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό, ελαϊκό και λινελαϊκό οξύ, το ποσοστό των ελεύθερων λιπαρών οξέων ήταν μηδενικό, γεγονός που οφείλεται στο ότι τα ελεύθερα μόρια δεκανοϊκού οξέος λόγω μικρού μήκους αλυσίδας θεωρείται εξαιρετικά ευκίνητο, ενώ στην περίπτωση των συμπλόκων με ελαϊκό και με λινελαϊκό οξύ (CLA) δεδομένου ότι τα συγκεκριμένα λιπαρά οξέα είναι υγρά σε θερμοκρασία δωματίου, η κατεργασία των συμπλόκων με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν τη ξήρανσή τους απομάκρυνε αποτελεσματικά τα ελεύθερα λιπαρά οξέα. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με τα

δεδομένα που ελήφθησαν από τα θερμογραφήματα των αντίστοιχων συμπλόκων (Ενότητα 4.3.1). Όσον αφορά στις περιπτώσεις των συμπλόκων με μυριστικό, παλμιτικό και στεατικό οξύ, η διαφοροποίηση που παρατηρήθηκε πιθανότατα σχετίζεται με τη διαλυτότητα και τη κρίσιμη συγκέντρωση μικυλλίου του λιπαρού οξέος. Λαμβάνοντας υπόψη ότι, η κρίσιμη συγκέντρωση

Πίνακας 4.6 Ελεύθερα λιπαρά οξέα (%) που εκχυλίστηκαν με διαιθυλαιθέρα και προσδιορίστηκαν με αέρια χρωματογραφία, συμπλεγμένα και παγιδευμένα λιπαρά οξέα από διαφορά\* και συμπλεγμένα λιπαρά οξέα που παραλήφθηκαν ύστερα από ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων αμυλόζης.

Σύμπλοκο	Ελεύθερα λιπαρά οξέα (%)	Συμπλεγμένα & παγιδευμένα λιπαρά οξέα (από διαφορά) %	Συμπλεγμένα λιπαρά οξέα (εκχύλιση με υπερκρίσιμο CO <sub>2</sub> )
Αμυλόζης –δεκανοϊκού οξέος			
30°C	0,0(±0,0)	100	93,5(±0,2)
50°C	0,0(±0,0)	100	93,8(±0,1)
70°C	0,0(±0,0)	100	94,1(±0,2)
Αμυλόζης-μυριστικού οξέος			
30°C	0,4(±0,1)	99,6	91,4(±0,3)
50°C	0,2(±0,1)	99,8	91,5(±0,1)
70°C	0,05(±0,02)	99,95	91,5(±0,0)
Αμυλόζης-παλμιτικού οξέος			
30°C	1,2(±0,2)	98,8	93,8(±0,4)
50°C	1,6(±0,3)	98,4	93,9(±0,3)
70°C	0,3(±0,4)	99,7	94,1(±0,1)
Αμυλόζης-στεατικού οξέος			
30°C	0,6(±0,2)	99,4	95,0(±0,1)
50°C	0,9(±0,1)	99,1	95,1(±0,0)
70°C	1,1(±0,1)	98,9	95,0(±0,2)
Αμυλόζης-ελαϊκού οξέος			
30°C	0,0(±0,0)	100	91,2(±0,2)
50°C	0,0(±0,0)	100	91,1(±0,2)
70°C	0,0(±0,0)	100	91,2(±0,1)
Αμυλόζης-λινελαϊκού οξέος (CLA)			
30°C	0,0(±0,0)	100	90,3(±0,2)
50°C	0,0(±0,0)	100	90,1(±0,1)
70°C	0,0(±0,0)	100	90,2(±0,3)

\* το λιπαρό οξύ που δεν απομακρύνθηκε με διαιθυλαιθέρα θεωρείται ότι είτε συμπλέχθηκε με την αμυλόζη είτε παγιδεύτηκε μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης

μικυλλίου και η διαλυτότητα μειώνονται καθώς αυξάνεται το μήκος αλυσίδας του λιπαρού οξέος και επειδή για το σχηματισμό των συμπλόκων με μεγάλου μήκους αλυσίδας λιπαρά οξέα πχ. παλμιτικό και στεατικό οξύ απαιτείται μικρότερη ποσότητα λιπαρού οξέος από ότι στην περίπτωση συμπλοκοποίησης με λιπαρά οξέα μικρότερου μήκους αλυσίδας πχ μυριστικό οξύ, κάτω από τις ίδιες συνθήκες. Πιθανότατα ένα μέρος της περίσσειας των λιπαρών οξέων που δεν συμπλοκοποιείται με την αμυλόζη και δεν απομακρύνθηκε μετά από κατεργασία των συμπλόκων με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν τη ξήρανσή τους, παρέμεινε στην επιφάνεια των συμπλόκων· ωστόσο το υπόλοιπο πιθανότατα παγιδεύτηκε μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης και δεν μπόρεσε να αποσπαστεί. Σύμφωνα με τους Le Bail et al. (2000), συγκέντρωση λιπιδίου 10% (w/w) του βάρους της αμυλόζης θεωρείται κατάλληλη για να σχηματιστούν πλήρως κορεσμένες ελίκες αμυλόζης. Σε αυτή τη συγκέντρωση, το μη συμπλοκοποιημένο λιπαρό οξύ μπορεί να παγιδευτεί στους ενδιάμεσους χώρους μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης.

Αντίθετα, το ποσοστό των λιπαρών οξέων που προέκυψαν ύστερα από ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων αμυλόζης κυμαινόταν από 90,5 μέχρι 95,1%. Αναλυτικότερα, το ελαϊκό και το λινελαϊκό οξύ (CLA) παραλήφθηκαν σε ποσοστό ~91 και ~90%, ενώ το δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό και στεατικό οξύ εκχυλίστηκαν κατά ~94, ~92, ~93 και ~95% αντίστοιχα. Όπως προαναφέρθηκε στο πειραματικό μέρος, η εκχύλιση με υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub> διήρκεσε περίπου 360 min (χρόνος που απαιτείται μέχρι την επίτευξη σταθερού βάρους) ωστόσο στην περίπτωση του δεκανοϊκού οξέος διήρκεσε περίπου 280min. Με γνώμονα ότι, τα λιπαρά οξέα με μήκος αλυσίδας 10 ή λιγότερων ατόμων άνθρακα εμφανίζονται να είναι πιο ευδιάλυτα και πιο ευκίνητα σε σχέση με τα άλλα κορεσμένα λιπαρά οξέα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία, αναμένεται το δεκανοϊκό οξύ να εκχυλίζεται πιο εύκολα. Παρατηρώντας τον Πίνακα 4.9, διαπιστώνεται ότι οι τιμές εκχύλισης του στεατικού οξέος σε σύγκριση με τις τιμές του αντίστοιχου μήκους αλυσίδας ακόρεστου λιπαρού οξέος ήταν μεγαλύτερες κατά 4%. Δεδομένου ότι το ελαϊκό οξύ είναι υγρό σε θερμοκρασία δωματίου, και η οποιαδήποτε περίσσεια απομακρύνθηκε αποτελεσματικά κατά την κατεργασία των συμπλόκων με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) όπως αποδείχθηκε από τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X (Ενότητα 4.2.1) και από τα θερμογραφήματα (DSC) (Ενότητα 4.3.1), το επιπλέον ποσοστό που παρατηρείται στην περίπτωση του στεατικού οξέος οφείλεται σε μόρια λιπαρών οξέων τα οποία παγιδεύτηκαν μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης. Ωστόσο, τα δεδομένα αυτά έρχονται σε αντίθεση με εκείνα των Lesmes et al. (2009), οι οποίοι μελέτησαν την ενζυμική υδρόλυση συμπλόκων τριών ειδών αμύλου (φυσικό άμυλο καλαμποκιού, κηρώδες άμυλο καλαμποκιού-100% αμυλοπηκτίνη, άμυλο καλαμποκιού με ποσοστό 70% αμυλόζης-Hylon VII) με στεατικό οξύ, με τη χρήση παγκρεατικής α-αμυλάσης. Επακόλουθη εκχύλιση με εξάνιο,



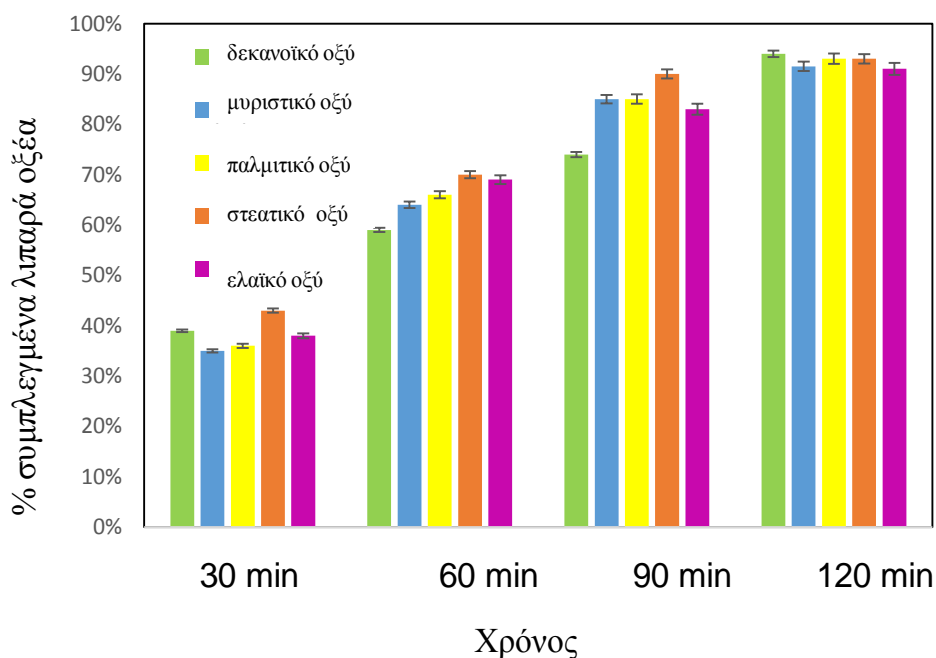
κατά τους ερευνητές αυτούς, απέδωσε στην περίπτωση του Hylon VII περίπου το 12% του λιπαρού οξέος, ενώ στις περιπτώσεις με άμυλο καλαμποκιού και με κηρώδες άμυλο καλαμποκιού το 70% και 8%, αντίστοιχα. Με δεδομένο ότι η αμυλοπηκτίνη δεν μπορεί να δημιουργήσει σύμπλοκα όπως η αμυλόζη, είναι απορίας άξιον πως οι ερευνητές παρέλαβαν μόνο το 8% του λιπαρού οξέος όταν κατά βάση η συνολική ποσότητα του λιπαρού οξέος ήταν πρακτικά ελεύθερη και θα έπρεπε να είχε παραληφθεί ποσοτικά με το εξάνιο. Πιθανότατα στην περίπτωση του φυσικού αμύλου καλαμποκιού και του Hylon VII, το εξάνιο κατάφερε να αφαιρέσει μόνο το παγιδευμένο στεατικό οξύ ενώ στην περίπτωση της αμυλοπηκτίνης, το χαμηλό ποσοστό λιπαρού οξέος που παρέλαβαν οφείλεται σε μόρια στεατικού οξέος τα οποία συγκαταβυθίστηκαν λόγω συμπαράσυρσης με την αμυλοπηκτίνη. Παρόμοια οι Lalush et al. (2005) μελέτησαν τη συμπλοκοποίηση της αμυλόζης με λινελαϊκό οξύ (CLA) στους 30, 50 ή 90°C με τη χρήση καθαρής α-αμυλάσης, μίγματος παγκρεατικών α-αμυλασών, β-αμυλάσης και γλυκοαμυλάσης. Σύμφωνα με τους ερευνητές αυτούς, πλήρης ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων που παρασκευάστηκαν και στις θερμοκρασίες συμπλοκοποίησης επιτεύχθηκε με τη χρήση μίγματος παγκρεατικών α-αμυλάσων, ενώ με τη χρήση καθαρής α-αμυλάσης, η μέγιστη τιμή ενζυμικής υδρόλυσης (87%) επιτεύχθηκε στα συμπλόκα που παρασκευάστηκαν στους 90°C. Αναφορικά με τη χρήση αμυλογλυκοσιδάσης και β-αμυλάσης οι μέγιστες τιμές ενζυμικής υδρόλυσης παρατηρήθηκαν στις περιπτώσεις των συμπλόκων που παρασκευάστηκαν στους 60°C (36% και 8,5% αντίστοιχα). Οι συγγραφείς απέδωσαν τις χαμηλές τιμές ενζυμικής υδρόλυσης με τη χρήση της γλυκοαμυλάσης και της β-αμυλάσης σε φαινόμενα στερεοχημικής παρεμπόδισης που εμφανίζονται στο εσωτερικό της έλικας της αμυλόζης χωρίς όμως να εξηγούν τους λόγους εμφάνισής τους. Κατόπιν, οι παραπάνω συγγραφείς για την παραλαβή του συμπλεγμένου λινελαϊκού οξέος (CLA) χρησιμοποίησαν εξάνιο. Το μεγαλύτερο ποσοστό συμπλεγμένου λινελαϊκού οξέος (CLA) που παρέλαβαν οι ερευνητές ήταν στις περιπτώσεις ενζυμικής υδρόλυσης των συμπλόκων που παρασκευάστηκαν στους 90°C με τη χρήση μιγμάτων παγκρεατικών α-αμυλασών, αμυλογλυκοσιδάσης, και β-αμυλάσης (~ 100%, ~70%, ~18% αντίστοιχα) ενώ στην περίπτωση ενζυμικής υδρόλυσης των συμπλόκων που παρασκευάστηκαν στους 30°C με τη χρήση της α-αμυλάσης, το ποσοστό του συμπλεγμένου λινελαϊκού οξέος ήταν μόλις 18%. Παρατηρώντας τα αποτελέσματα της έρευνάς τους διαπιστώνεται ότι αν και δεν υπάρχει άμεση συσχέτιση στο ποσοστό ενζυμικής υδρόλυσης των συμπλόκων με το ποσοστό παραλαβής του συμπλεγμένου λινελαϊκού οξέος, οι ερευνητές αυτοί αναφέρουν ότι η ποσοτική παραλαβή των λιπαρών οξέων είναι ευθέως ανάλογη της ενζυμικής υδρόλυσης των συμπλόκων.

Παρόμοια, οι Karkalas & Raphaelides (1986) μελέτησαν την ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων αμυλόζης και λιπαρών οξέων χρησιμοποιώντας αμυλογλυκοσιδάση και για την παραλαβή των

συμπλεγμένων λιπαρών οξέων χρησιμοποίησαν διαιθυλαιθέρα. Οι παραπάνω ερευνητές, αν και παρατήρησαν πλήρη ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων, ωστόσο δεν μπόρεσαν να παραλάβουν ολοκληρωτικά τα συμπλεγμένα λιπαρά οξέα πιθανότατα, όπως ανέφεραν, λόγω αλληλεπίδρασης του λιπαρού οξέος με την πρωτεΐνη των ενζύμων με συνέπεια τη δημιουργία γαλακτώματος στη διεπιφάνεια διαιθυλαιθέρα/νερού.

Όσον αφορά στην επίδραση της θερμοκρασίας παρασκευής των συμπλόκων στο ποσοτικό προσδιορισμό των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων, παρατηρώντας τον Πίνακα 4.9, διαπιστώνεται ότι η εκχύλιση με υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub> ήταν ανεξάρτητη της θερμοκρασίας παρασκευής τους. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε αντίθεση με τους Lalush et al. (2005), οι οποίοι παρατήρησαν ότι με τη χρήση παγκρεατικής α-αμυλάσης, γλυκοαμυλάσης και β-αμυλάσης, όσο μεγαλύτερη ήταν η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων τόσο μεγαλύτερη ήταν η ποσοτική παραλαβή των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων χωρίς ωστόσο να δοθεί κάποια εξήγηση από τους συγγραφείς.

Στο Σχήμα 4.119 απεικονίζεται το ποσοστό % των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων τα οποία προσδιορίστηκαν ύστερα από ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων



Σχήμα 4.119 Ποσοστό συμπλεγμένων λιπαρών οξέων που παραλήφθηκαν μετά από ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ, σε τέσσερις διαφορετικούς χρόνους (30, 60, 90 ή 120 min).

(δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ) με τη μέθοδο των Karkalas (1985) κι των Karkalas & Raphaelides (1986), με ορισμένες όμως τροποποιήσεις. Συγκεκριμένα, σύμπλοκα

αμυλόζης-λιπαρών οξέων που παρασκευάστηκαν στους 30°C, υπέστησαν κατεργασία με διαιθυλαιθέρα για την απομάκρυνση των ελεύθερων λιπαρών οξέων και έπειτα υδρόλυθηκαν ενζυμικά με τη χρήση αμυλογλυκοσιδάσης εφαρμόζοντας όμως διαφορετικούς χρόνους επώασης του ενζύμου. Όπως περιγράφεται στη μέθοδο του Karkalas (1985), μετά την προσθήκη της αμυλογλυκοσιδάσης, τα σύμπλοκα επώαστηκαν σε υδατόλουτρο στους 60°C για 120 min. Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση του χρόνου υδρόλυσης στο βαθμό κρυσταλλικότητάς των συμπλόκων, εφαρμόστηκαν 3 επιπλέον χρόνοι υδρόλυσης των συμπλόκων με αμυλογλυκοσιδάση (30, 60, 90 min). Έπειτα, τα συμπλεγμένα λιπαρά οξέα παραλήφθηκαν με εκχύλιση με υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub> και προσδιορίστηκαν με αέρια χρωματογραφία.

Παρατηρώντας το Σχήμα 4.119, διαπιστώνεται ότι όσο αυξήθηκε ο χρόνος ενζυμικής υδρόλυσης των συμπλόκων τόσο μεγαλύτερο ήταν το ποσοστό των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων που παραλήφθηκαν με εκχύλιση με υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub>. Πιθανότατα, κατά το πρώτο στάδιο της εκχύλισης (30 ή 60 min), οι άμορφες περιοχές των συμπλόκων υδρόλυθηκαν πιο γρήγορα ενώ κατά το δεύτερο στάδιο (90 ή 120 min) παρατηρήθηκε πλήρης αποικοδόμηση των κρυσταλλικών περιοχών των συμπλόκων. Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώνει την ημικρυσταλλική δομή των συμπλόκων, υποδηλώνοντας την ύπαρξη ενός συστήματος μη διατεταγμένων (τυχαίων) και κρυσταλλικών αλυσίδων συμπλόκων στο χώρο. Επίσης, με βάση το Σχήμα 4.120, διαπιστώνεται ότι στα 30 min το ποσοστό των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων που παραλήφθηκαν ήταν υψηλότερο στην περίπτωση των συμπλόκων με δεκανοϊκό και με στεατικό οξύ σε σχέση με τα σύμπλοκα με τα υπόλοιπα λιπαρά οξέα. Αυτό συμβαίνει γιατί το δεκανοϊκό οξύ λόγω μικρού μήκους αλυσίδας θεωρείται εξαιρετικά ευκίνητο, οπότε παραλήφθηκε από το διαλύτη πιο γρήγορα και σε μεγαλύτερο ποσοστό, όπως επίσης και στη περίπτωση του στεατικού οξέος, όπου ένα μέρος του λιπαρού οξέος παγιδεύτηκε μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης με αποτέλεσμα τα μόρια αυτά να παραληφθούν πιο γρήγορα.

#### **4.8.2. Προσδιορισμός των μη συμπλεγμένων (ελεύθερων) λιπαρών οξέων και συμπλεγμένων λιπαρών οξέων στα συμπλόκα pregel και Hylon VII με λιπαρά οξέα**

Παρόμοια, με την περίπτωση των συμπλόκων αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα (Ενότητα 4.8.1), τα σύμπλοκα pregel και σύμπλοκα Hylon VII με λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ) κατά την παρασκευή τους υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) για την απομάκρυνση των ελεύθερων λιπαρών οξέων και υπέστησαν επανεκατεργασία με διαιθυλαιθέρα με σκοπό την παραλαβή τους. Έπειτα, ακολούθησε ενζυμική

υδρόλυση των συμπλόκων με α-αμυλάση και αμυλογλυκοσιδάση και ποσοτική παραλαβή των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων με υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub>. Στον Πίνακα 4.7 παρουσιάζεται η % περίσσεια των ελεύθερων λιπαρών οξέων των συμπλόκων pregel καθώς και το ποσοστό των ελεύθερων λιπαρών οξέων από διαφορά. Παρατηρώντας τον Πίνακα 4.7, διαπιστώνεται ότι η ποσότητα του ελεύθερου λιπαρού οξέος, που απομακρύνθηκε από τα σύμπλοκα ήταν πολύ μικρή, ενώ στην περίπτωση του δεκανοϊκού και του ελαϊκού οξέος δεν παρατηρήθηκε καθόλου περίσσεια ελεύθερων λιπαρών οξέων. Όσον αφορά στην περίσσεια των ελεύθερων λιπαρών οξέων των συμπλόκων του pregel με μυριστικό, παλμιτικό και στεατικό οξύ, το ποσοστό ήταν 1-3%. Στην περίπτωση των συμπλόκων Hylon VII, παρατηρώντας το Πίνακα 4.8, διαπιστώνεται ότι το ποσοστό των ελεύθερων λιπαρών οξέων που απομακρύνθηκαν

Πίνακας 4.7 Ελεύθερα λιπαρά οξέα (%) που εκχυλίστηκαν με διαιθυλαιθέρα και προσδιορίστηκαν με αέρια χρωματογραφία, συμπλεγμένα και παγιδευμένα λιπαρά οξέα από διαφορά \* και συμπλεγμένα λιπαρά οξέα που παραλήφθηκαν ύστερα από ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων pregel

Σύμπλοκο	Ελεύθερα λιπαρά οξέα (%)	Συμπλεγμένα & παγιδευμένα λιπαρά οξέα (από διαφορά) %	Συμπλεγμένα λιπαρά οξέα (εκχύλιση με υπερκρίσιμο CO <sub>2</sub> ) %
Pregel-δεκανοϊκό οξύ			
30 °C	0,0(±0,0)	100	88,5(±0,3)
50 °C	0,0(±0,0)	100	88,4(±0,2)
70 °C	0,0(±0,0)	100	89,1(±0,1)
Pregel-μυριστικό οξύ			
30 °C	1,6(±0,2)	98,4	90,1(±0,1)
50 °C	1,3(±0,2)	98,7	90,9(±0,2)
70 °C	1,4(±0,1)	98,6	90,5(±0,1)
Pregel-παλμιτικό οξύ			
30 °C	1,7(±0,3)	98,3	91,4(±0,1)
50 °C	2,5(±0,2)	97,5	91,1(±0,4)
70 °C	1,9(±0,4)	98,1	90,9(±0,3)
Pregel-στεατικό οξύ			
30 °C	1,6(±0,2)	98,4	91,8(±0,3)
50 °C	2,1(±0,3)	97,9	91,9(±0,2)
70 °C	2,4(±0,2)	97,6	91,6(±0,1)
Pregel-ελαϊκό οξύ			
30 °C	0,0(±0,0)	100	89,0(±0,1)
50 °C	0,0(±0,0)	100	89,1(±0,2)
70 °C	0,0(±0,0)	100	89,3(±0,1)

- \* το λιπαρό οξύ που δεν απομακρύνθηκε με διαιθυλαιθέρα θεωρείται ότι είτε συμπλέχθηκε με την αμυλόζη είτε παγιδεύτηκε μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης

Πίνακας 4.8 Ελεύθερα λιπαρά οξέα (%) που εκχυλίστηκαν με διαιθυλαιθέρα και προσδιορίστηκαν με αέρια χρωματογραφία, συμπλεγμένα και παγιδευμένα λιπαρά οξέα από διαφορά\* και συμπλεγμένα λιπαρά οξέα που παραλήφθηκαν ύστερα από ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων Hylon VII

Σύμπλοκο	Ελεύθερα λιπαρά οξέα (%)	Συμπλεγμένα & παγιδευμένα λιπαρά οξέα (από διαφορά) %	Συμπλεγμένα λιπαρά οξέα (εκχύλιση με υπερκρίσιμο CO <sub>2</sub> ) %
Hylon VII-δεκανοϊκού οξέος			
30°C	0,0(±0,0)	100	89,4(±0,4)
50°C	0,0(±0,0)	100	91,9(±0,1)
70°C	0,0(±0,0)	100	91,3(±0,2)
Hylon VII-μυριστικού οξέος			
30°C	0,4(±0,3)	99,6	91,7(±0,1)
50°C	1,2(±0,2)	98,8	90,5(±0,3)
70°C	1,8(±0,2)	98,2	89,6(±0,2)
Hylon VII-παλμιτικού οξέος			
30°C	1,8(±0,2)	98,2	91,4(±0,2)
50°C	0,6(±0,2)	99,4	91,3(±0,3)
70°C	1,6(±0,1)	98,4	90,1(±0,2)
Hylon VII-στεατικού οξέος			
30°C	2,4(±0,2)	97,6	92,7(±0,1)
50°C	2,9(±0,3)	97,1	92,6(±0,4)
70°C	2,1(±0,2)	97,9	92,4(±0,2)
Hylon VII-ελαϊκού οξέος			
30°C	0,0(±0,0)	100	89,2(±0,4)
50°C	0,0(±0,0)	100	89,7(±0,2)
70°C	0,0(±0,0)	100	89,2(±0,2)

\* το λιπαρό οξύ που δεν απομακρύνθηκε με διαιθυλαιθέρα θεωρείται ότι είτε συμπλέχθηκε με την αμυλόζη είτε παγιδεύτηκε μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης

μετά από κατεργασία των συμπλόκων με διαιθυλαιθέρα κυμάνθηκε μεταξύ 0-3%, με το υψηλότερο ποσοστό να παρατηρείται στην περίπτωση των συμπλόκων Hylon VII με στεατικό οξύ και με παλμιτικό οξύ και με το χαμηλότερο ποσοστό στην περίπτωση των συμπλόκων Hylon VII με το

μυριστικό οξύ. Αντίθετα, στην περίπτωση των συμπλόκων Hylon VII με δεκανοϊκό οξύ το ποσοστό των ελεύθερων λιπαρών οξέων ήταν μηδενικό.

Αναφορικά με την ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων pregel και Hylon VII (Πίνακες 4.7 & 4.8), το ποσοστό των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων που παραλήφθηκαν με υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub> κυμάνθηκε μεταξύ 88-93%. Επίσης, με βάση τους Πίνακες 4.7 & 4.8, αποδεικνύεται ότι η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων δεν επηρέασε το ποσοστό των ελεύθερων λιπαρών οξέων, γεγονός που υποδεικνύει ότι η ποσοτική συμπλοκοποίηση των συμπλόκων και οι ποσότητες των μη συμπλεγμένων λιπαρών οξέων είναι ανεξάρτητες της θερμοκρασίας παρασκευής των συμπλόκων. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν στις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα, γεγονός που υποδεικνύει ότι η ενζυμική υδρόλυση και η ποσοτική παραλαβή τους με υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub> δεν επηρεάζονται από την παρουσία της αμυλοπηκτίνης.

#### **4.8.3. Προσδιορισμός των ελεύθερων λιπαρών οξέων στα σύμπλοκα αμυλόζης-στεατικού οξέος και στα σύμπλοκα pregel με στεατικό οξύ στα οποία το λιπαρό οξύ προστέθηκε σε 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις**

Τα σύμπλοκα αμυλόζης-στεατικού οξέος που ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό και υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανσή τους, εκχυλίστηκαν με άλλους διαλύτες (μεθανόλη, διαιθυλαιθέρα, χλωροφόρμιο, εξάνιο) ώστε να απομακρυνθεί η περίσσεια του ελεύθερου λιπαρού οξέος (Ενότητα 4.3.1) και κατόπιν αναλύθηκαν με αέρια χρωματογραφία (όπως περιγράφονται αναλυτικά στο πειραματικό μέρος, Ενότητα 4.3.14). Συγκεκριμένα, στα σύμπλοκα αμυλόζης-στεατικού οξέος (~600 mg) που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C και υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50), προστέθηκαν 10ml από τους παραπάνω διαλύτες και αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Τα 10ml μεταφέρθηκαν σε δοκιμαστικό σωλήνα, φυγοκεντρήθηκαν και έπειτα οι διαλύτες εξατμίστηκαν σε ρεύμα αζώτου. Το λιπαρό οξύ που δεν απομακρύνθηκε με τους παραπάνω διαλύτες θεωρείται ότι συμπλέχθηκε με την αμυλόζη και επομένως υπολογίστηκε ως ποσοστό συμπλοκοποιημένου λιπαρού οξέος, αφαιρώντας τη ποσότητα του εκχυλισμένου λιπαρού από την αρχική ποσότητα που χρησιμοποιήθηκε για τη συμπλοκοποίηση (Πίνακας 4.9).

Όπως αποδείχθηκε από τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X και από τη διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης, η κατεργασία των δειγμάτων με διάλυμα αιθανόλης/νερού κατά την παρασκευή τους δεν

ήταν αρκετή για να αφαιρέσει αποτελεσματικά τα ελεύθερα λιπαρά οξέα. Συγκρίνοντας το ποσοστό των ελεύθερων λιπαρών οξέων που απομακρύνθηκαν μετά από κατεργασία των συμπλόκων

Πίνακας 4.9 Ελεύθερα λιπαρά οξέα (%) που εκχυλίστηκαν από σύμπλοκα αμυλόζης με στεατικό οξύ και προσδιορίστηκαν ποσοτικά με αέρια χρωματογραφία και συμπλεγμένα λιπαρά οξέα από διαφορά\*. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) κατά την παρασκευή τους και έπειτα με διαιθυλαιθέρα, εξάνιο μεθανόλη ή χλωροφόρμιο.

Διαλύτης	Ελεύθερα λιπαρά οξέα (%)	Συμπλεγμένα λιπαρά οξέα (από διαφορά) %
Μεθανόλη (απόλυτη)	1,1(±0,1)	98,9
Διαιθυλαιθέρας	1,2(±0,2)	98,8
Χλωροφόρμιο	1,0(±0,1)	90,0
Εξάνιο	1,2(±0,1)	98,2

\* το λιπαρό οξύ που δεν απομακρύνθηκε θεωρείται ότι είτε συμπλέχθηκε με την αμυλόζη είτε παγιδεύτηκε μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης

αμυλόζης-στεατικού οξέος (Πίνακας 4.6) που κατά την παρασκευή τους υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) με το ποσοστό των συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος που υπέστησαν επανεκατεργασία με τους παραπάνω διαλύτες, συμπεραίνεται ότι το διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) δεν κατάφερε να απομακρύνει αποτελεσματικά την περίσσεια των ελεύθερων λιπαρών οξέων. Ωστόσο, δεδομένου ότι η ποσότητα του ελεύθερου λιπαρού οξέος, που απομακρύνθηκε από τα σύμπλοκα με τους διαλύτες ήταν πολύ μικρή, υποδηλώνει ότι ένα μέρος του ελεύθερου στεατικού οξέος απομακρύνθηκε επιτυχώς από τα σύμπλοκα, αλλά το υπόλοιπο το οποίο δεν συμπλέχθηκε στην έλικα της αμυλόζης παρέμεινε στο σύστημα. Επιπλέον, αποτελούν ισχυρή ένδειξη ότι οι πρόσθετες κορυφές στα φάσματα XRD, στις τιμές  $2\theta=21,7^\circ$  και  $23,8^\circ$  οφείλεται σε μη συμπλεγμένα μόρια στεατικού οξέος που παγιδεύτηκαν μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης. Παρόμοια, με την περίπτωση των συμπλόκων της αμυλόζης με το στεατικό οξύ που υπέστησαν επανεκατεργασία κατεργασία με διάφορους διαλύτες, τα σύμπλοκα pregel με στεατικό οξύ που κατά την παρασκευή τους υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) για την απομάκρυνση των ελεύθερων λιπαρών οξέων, υπέστησαν επανεκατεργασία με εξάνιο και χλωροφόρμιο και προσδιορίστηκαν ποσοτικά με αέρια χρωματογραφία, με σκοπό να προσδιοριστεί η ποσότητα των ελεύθερων λιπαρών οξέων και η ποσότητα των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων από διαφορά (Πίνακας 4.10).

Μετά την κατεργασία των συμπλόκων pregel με τους παραπάνω διαλύτες, το ποσοστό των ελεύθερων λιπαρών οξέων ήταν ~1-1,5 % που σημαίνει ότι, πιθανότατα η κατεργασία των δειγμάτων με τους παραπάνω διαλύτες αφαίρεσε ένα μέρος των ελεύθερων μορίων του στεατικού

οξέος που δεν μπόρεσε να αφαιρεθεί με το διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50), ενώ το υπόλοιπο παγιδεύτηκε μηχανικά μεταξύ των ελίκων. Πιθανή εξήγηση δόθηκε και στην περίπτωση των αντίστοιχων συμπλόκων που εξετάστηκαν με διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (Ενότητα 4.3.2). Στο Πίνακα 4.11 παρουσιάζεται το ποσοστό ελεύθερων μορίων στεατικού οξέος των συμπλόκων pregel-στεατικού οξέος στα οποία το λιπαρό οξύ προστέθηκε κατά τη συμπλοκοποίηση σε 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις (6, 7, 8, 9 ή 10%).

Πίνακας 4.10 Ελεύθερα λιπαρά οξέα (%) που εκχυλίστηκαν από σύμπλοκα pregel με στεατικό οξύ και προσδιορίστηκαν με αέρια χρωματογραφία και συμπλεγμένα λιπαρά οξέα από διαφορά\*. Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) κατά την παρασκευή τους και έπειτα με εξάνιο ή χλωροφόρμιο.

Διαλύτης	Ελεύθερο στεατικό οξύ (%)	Συμπλεγμένο λιπαρό οξύ (από διαφορά) %
Εξάνιο	1,4(±0,2)	98,6
Χλωροφόρμιο	1,2(±0,1)	98,8

\* το λιπαρό οξύ που δεν απομακρύνθηκε θεωρείται ότι είτε συμπλέχθηκε με την αμυλόζη είτε παγιδεύτηκε μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης

Πίνακας 4.11 Ελεύθερα λιπαρά οξέα (%) που εκχυλίστηκαν με διαιθυλαιθέρα από σύμπλοκα pregel με στεατικό οξύ στα οποία το λιπαρό οξύ προστέθηκε κατά τη συμπλοκοποίηση σε 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις (6, 7, 8, 9 ή 10%). Τα εκχυλισμένα λιπαρά οξέα προσδιορίστηκαν ποσοτικά με αέρια χρωματογραφία και τα συμπλεγμένα λιπαρά οξέα από διαφορά\*

Σύμπλοκο	Ελεύθερο στεατικό οξύ (%)	Συμπλεγμένο λιπαρό οξύ (από διαφορά) %
6%	0,05(±0,02)	99,95
7%	0,09(±0,02)	99,91
8%	0,2(±0,1)	99,8
9%	0,7(±0,2)	99,3
10%	1,4(±0,2)	98,6

\* το λιπαρό οξύ που δεν απομακρύνθηκε θεωρείται ότι είτε συμπλέχθηκε με την αμυλόζη είτε παγιδεύτηκε μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης

Τα σύμπλοκα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) κατά την παρασκευή τους. Παρατηρώντας τα αποτελέσματα, διαπιστώνεται ότι το ποσοστό των ελεύθερων λιπαρών οξέων είναι ελάχιστο (0,05%) στην περίπτωση της συγκέντρωσης 6%, ενώ όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του προστιθέμενου στεατικού οξέος, η ποσότητα των ελεύθερων λιπαρών οξέων



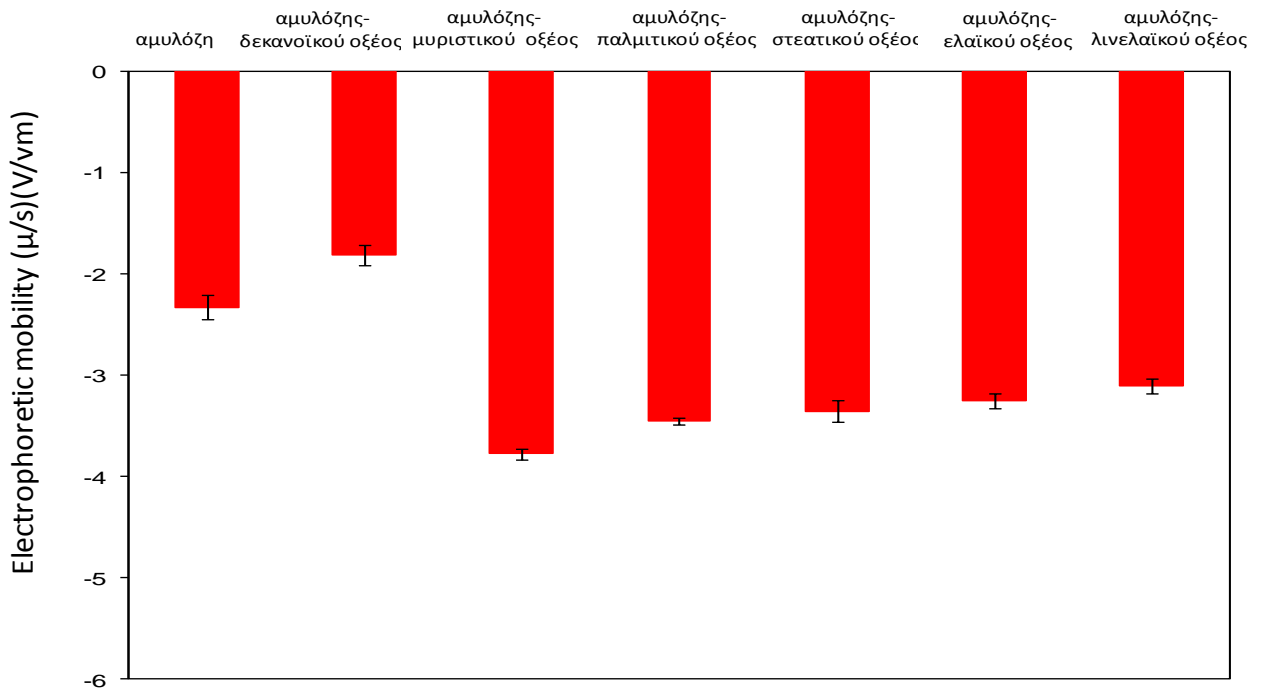
αυξάνεται. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνουν ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του προστιθέμενου στεατικού οξέος, η ποσότητα του ελεύθερου λιπαρού οξέος που δεν συμπλέκεται με την αμυλόζη, σχηματίζεται κατά τη διαλυτοποίησή σε άλλες μεσομορφικές καταστάσεις αντί για μονομερή, με αποτέλεσμα να παγιδεύεται μηχανικά μεταξύ των ελίκων. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με εκείνα των φασμάτων περίθλασης ακτίνων X και των φασμάτων FTIR των συμπλόκων pregel αμύλου με στεατικό οξύ, όπου χρησιμοποιήθηκαν 4 διαφορετικές συγκεντρώσεις στεατικού οξέος (7, 8, 9, 10 %).

Επομένως, με βάση τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι η συγκέντρωση της συμπλεκόμενης ένωσης και η διαλυτότητά της επηρεάζουν το βαθμό σχηματισμού συμπλόκων. Όπως προαναφέρθηκε, η συγκέντρωση λιπιδίου 10% (w/w) του βάρους της αμυλόζης θεωρείται κατάλληλη για να σχηματιστούν πλήρως κορεσμένες έλικες αμυλόζης. Στην περίπτωση αυτή, τα μη συμπλοκοποιημένα μόρια λιπιδίου μπορούν να παγιδευτούν στον ενδιάμεσο χώρο μεταξύ των ελίκων. Σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις συμπλεκόμενης ένωσης, η μη συμπλεγμένη αμυλόζη μπορεί να υιοθετήσει διαμόρφωση διπλής έλικας (B- αμυλόζη) η οποία παρεμποδίζει το σχηματισμό μονής έλικας που απαιτείται για τα σύμπλοκα.

#### *4.9. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΤΙΚΗΣ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΜΥΛΟΖΗΣ, ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΑΜΥΛΟΖΗΣ ΜΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ, ΑΜΥΛΩΝ (PREGEL. HYLON VII) ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΑΜΥΛΩΝ (PREGEL. HYLON VII) ΜΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ*

##### **4.9.1. Μετρήσεις της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας αμυλόζης και συμπλόκων αμυλόζης με λιπαρά οξέα**

Οι μετρήσεις ηλεκτροφορητικής κινητικότητας σε pH 12,7 (0,1 N KOH) για την αμυλόζη ήταν - 2,325 (μ/s)/(V/cm) ενώ για τα σύμπλοκα αμυλόζης με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό και συζευγμένο λινελαϊκό οξύ ήταν -1,810 (μ/s)/(V/cm), -3,770 (μ/s)/(V/cm), -3,450 (μ/s)/(V/cm), -3,350 (μ/s)/(V/cm), -3,245 (μ/s)/(V/cm) & -3,100 (μ/s)/(V/cm), αντίστοιχα (Σχήμα 4.120).



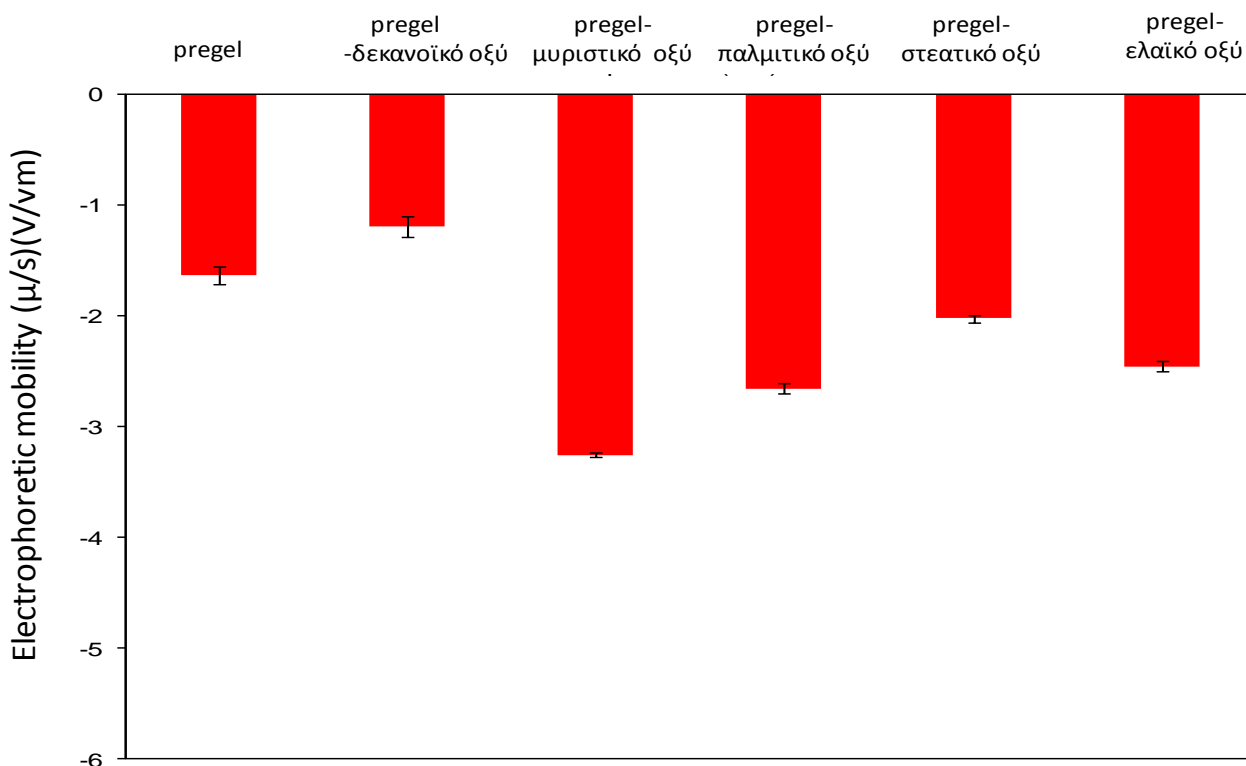
Σχήμα 4.120 Ηλεκτροφορητική κινητικότητα (μs)/(V/cm) αμυλόζης, συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό & λινελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30°C.

Η διαφοροποίηση στις τιμές ηλεκτροφορητικής κινητικότητας που παρατηρούνται μεταξύ της αμυλόζης και των συμπλόκων σχετίζονται με τη διαμόρφωση των μορίων στο χώρο. Η αμυλόζη σε κατάσταση διαλύματος, ως γνωστό (Banks & Greenwood, 1971), έχει τη διαμόρφωση του περιδινούμενου κουβαριού (random coil) ενώ σε αλκαλικό περιβάλλον τα υδροξύλια των δομικών μονάδων της άνυδρης γλυκόζης που την αποτελούν, όπως προαναφέρθηκε, ιονίζονται, το σύστημα αποκτά αρνητικό φορτίο και η διαμόρφωση του μορίου της αμυλόζης αποκτά αυτή του διογκωμένου κουβαριού (expanded random coil). Η αμυλόζη, παρουσία λιπαρών οξέων, αλλάζει τη δομή και από διογκωμένο κουβάρι μεταβαίνει σε μονή έλικα η οποία είναι αρθρωτή. Το μήκος της άρθρωσης σχετίζεται με το μήκος αλυσίδας του λιπαρού οξέος. Στην περίπτωση των συμπλόκων με μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό και λινελαϊκό οξύ, τα σύμπλοκα έχουν λιγότερες αρθρώσεις (δηλ. λιγότερα «σπασίματα», kinks) και εμφανίζονται πιο άκαμπτα οπότε και διαγράφουν στο χώρο πολύ μεγαλύτερο υδροδυναμικό όγκο, όταν βρίσκονται σε κατάσταση ηρεμίας. Όταν όμως τα μόρια της συμπλεγμένης αμυλόζης κινούνται λόγω της επίδρασης κάποιας κινούσας δύναμης (π.χ. διαφοράς δυναμικού) τότε τα μόρια αυτά διατάσσονται σε νηματικές διαμορφώσεις και το ιξώδες που εμφανίζουν μειώνεται σε σχέση με αυτό των μορίων που παραμένουν σε μορφή κουβαριού, όπως στη περίπτωση των μορίων της μη συμπλεγμένης αμυλόζης. Τα αποτελέσματα αυτά

βρίσκονται σε συμφωνία με αυτά που προέκυψαν από υδροδυναμικές μελέτες (Karkalas & Raphaelides, 1986).

#### 4.9.2. Μετρήσεις της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (pregel) και συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (pregel) με λιπαρά οξέα

Στην περίπτωση του pregel και των συμπλόκων pregel με τα λιπαρά οξέα, οι μετρήσεις της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας σε pH 12,7 (0,1 N KOH) για το pregel (μάρτυρας) ήταν  $-1,611$  ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ), ενώ για τα σύμπλοκα pregel με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ, ήταν  $-1,190$  ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ),  $-3,250$  ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ),  $-2,650$  ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ),  $-2,021$  ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ) &  $-2,950$  ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ), αντίστοιχα (Σχήμα 4.121).



Σχήμα 4.121 Ηλεκτροφορητική κινητικότητα ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ) pregel, συμπλόκων pregel-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους  $30^{\circ}\text{C}$ .

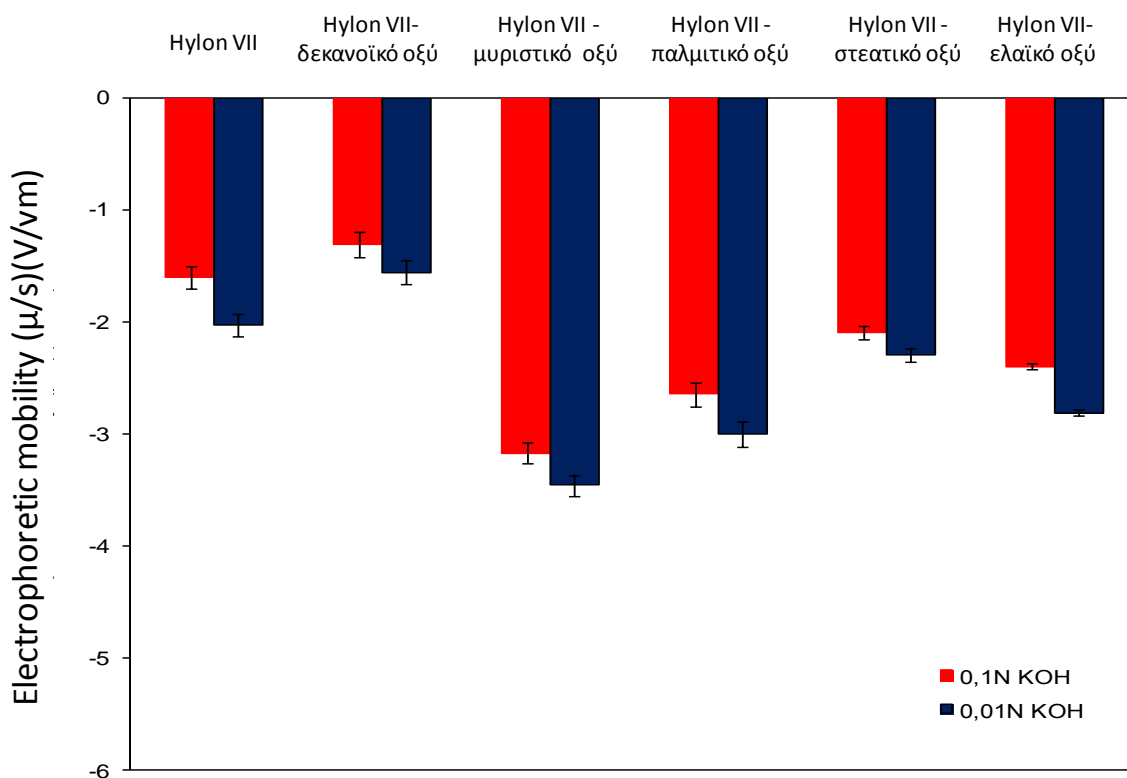
Πιθανή εξήγηση για την διαφοροποίηση στις τιμές ηλεκτροφορητικής κινητικότητας που παρατηρείται μεταξύ των συμπλόκων pregel δίνεται παραπάνω (Ενότητα 4.9.1). Ωστόσο, συγκρίνοντας την τιμή της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας της αμυλόζης και του pregel διαπιστώνεται ότι, στην περίπτωση του pregel ήταν μικρότερη, γεγονός που αποδεικνύει ότι η παρουσία της αμυλοπηκτικής επηρέασε τη τιμή της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας του pregel. Συγκεκριμένα, οι τιμές της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας της αμυλόζης και των συμπλόκων αμυλόζης ήταν μεγαλύτερες, γεγονός που υποδηλώνει ότι η αμυλόζη και τα σύμπλοκα αμυλόζης κινούνται γρηγορότερα και επομένως εμφανίζουν μεγαλύτερη ηλεκτροφορητική κινητικότητα σε σχέση με τα αντίστοιχα δείγματα του pregel. Ανάλογη συμπεριφορά παρατηρήθηκε και κατά τη μελέτη του ιζώδους συστημάτων αμύλου πατάτας – λιπαρών οξέων (Raphaelides, 1992).

#### **4.9.3. Μετρήσεις της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας αμύλου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης (Hylon VII) και συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού με υψηλό ποσοστό αμυλόζης (Hylon VII) με λιπαρά οξέα**

Στη περίπτωση του αμύλου Hylon, οι μετρήσεις της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας σε pH 12,7 (0,1N KOH) έδειξαν (Σχήμα 4.122) ότι, η τιμή της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας για το Hylon VII ήταν -1,740 ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ), ενώ για τα σύμπλοκα Hylon VII με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ ήταν -1,210( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ), -2,950 ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ), -2,713 ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ), -2,215 ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ), -2,560 ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ) αντίστοιχα.

Επίσης, στο Σχήμα 4.122 παρουσιάζονται οι τιμές της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας σε pH 11,8 (0,01 N KOH) του Hylon VII και των συμπλόκων Hylon VII με τα λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ).

Η τιμή της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας για το Hylon VII ήταν -2,030 ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ) ενώ για τα σύμπλοκα Hylon VII με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ ήταν -1,560 ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ), -3,460 ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ), -3,100 ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ), -2,300 ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ), -2,840 ( $\mu\text{s}/(\text{V}/\text{cm})$ ) αντίστοιχα. Συγκρίνοντας την ηλεκτροφορητική κινητικότητα του Hylon VII και των συμπλόκων σε αλκαλικό διαλύμα pH 12,7 με την ηλεκτροφορητική κινητικότητα του Hylon VII και των συμπλόκων σε pH 11,8, παρατηρείται ότι όταν μειώνεται το pH του αλκαλικού διαλύματος αυξάνεται και η ηλεκτροφορητική κινητικότητα των σωματιδίων. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η ταχύτητα μετακίνησης εξαρτάται όχι μόνο από το φορτίο του σωματιδίου αλλά και από το μέγεθος και το σχήμα του και επηρεάζεται από το pH και την ιονική ισχύ του διαλύματος πιθανότατα σε



Σχήμα 4.122 Ηλεκτροφορητική κινητικότητα (μ/s)/(V/cm) Hylon VII και συμπλόκων Hylon VII-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30°C.

χαμηλές τιμές pH, τα σωματίδια συναντούν χαμηλότερη αντίσταση στη ροή με αποτέλεσμα να κινούνται πιο γρήγορα.

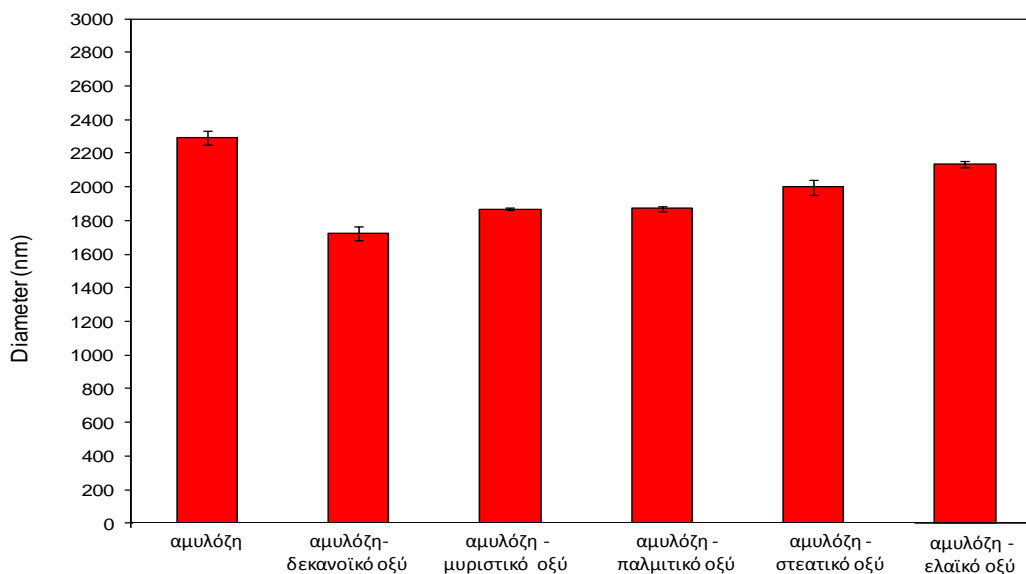
Συγκρίνοντας τις τιμές ηλεκτροφορητικής κινητικότητας των συμπλόκων Hylon VII με τις τιμές ηλεκτροφορητικής κινητικότητας των συμπλόκων pregel, διαπιστώνεται ότι, στην περίπτωση των συμπλόκων με pregel (pH 12,7), οι τιμές της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας ήταν μικρότερες που πιθανότατα σχετίζεται με την υψηλότερη ποσότητα της αμυλοπηκτίνης που περιέχεται στο pregel σε σχέση με το Hylon VII, με αποτέλεσμα να συναντά μεγαλύτερη αντίσταση στη ροή και να κινείται πιο δύσκολα. Παρόμοια εξήγηση δίνεται και στην περίπτωση μεταξύ των συμπλόκων αμυλόζης και των συμπλόκων pregel με τα λιπαρά οξέα.

#### *4.10. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΑΜΥΛΟΖΗΣ, ΑΜΥΛΟΥ ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΟΥ ΜΕ ΥΨΗΛΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΑΜΥΛΟΖΗΣ (HYLON VII) ΚΑΙ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ ΣΚΕΔΑΣΗΣ ΤΟΥ ΦΩΤΟΣ (DLS)*

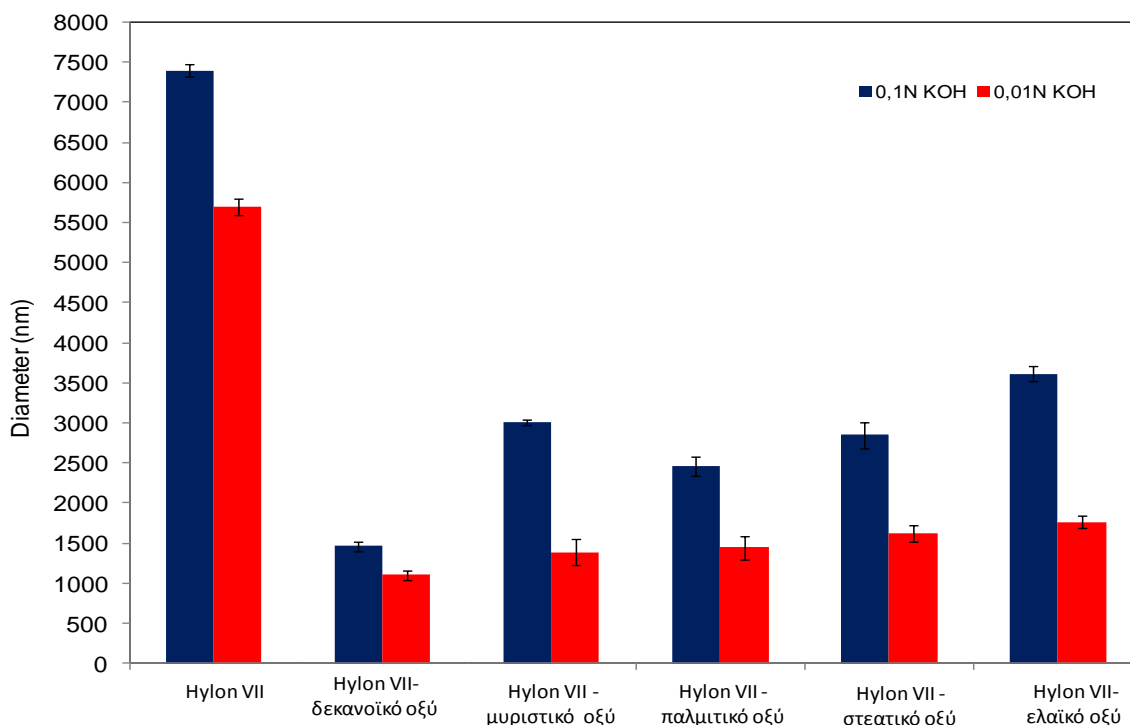
Στο Σχήμα 4.123 απεικονίζεται η διάμετρος των σωματιδίων των συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ που παρασκευάστηκαν στους 30°C, ενώ στο Σχήμα 4.124, παρουσιάζεται η διάμετρος των σωματιδίων των συμπλόκων Hylon VII με τα αντίστοιχα λιπαρά οξέα. Το pH των διαλυμάτων ήταν 12,7. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν την εμφάνιση δύο σωματιδιακών πληθυσμών. Ωστόσο οι μετρήσεις αφορούν στη διάμετρο της δεύτερης κορυφής.

Παρατηρώντας το Σχήμα 4.124 διαπιστώνεται ότι σε pH 12,7 (0,1 N KOH) τα σωματίδια έχουν διάμετρο 1345-3615nm, με τη μικρότερη διάμετρο να παρατηρείται για την περίπτωση των συμπλόκων Hylon VII με δεκανοϊκό οξύ (1345 nm) που οφείλεται στο μικρό μήκος της αλυσίδας του δεκανοϊκού οξέος που το καθιστά εξαιρετικά ευκίνητο. Στην περίπτωση των συμπλόκων με μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ η διάμετρος κυμάνθηκε μεταξύ 3010-3615nm με τις υψηλότερες τιμές να παρατηρούνται για τα σύμπλοκα Hylon VII-ελαϊκού οξέος (3615nm) χωρίς ωστόσο τα σύμπλοκα να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Αντίστοιχα, στην περίπτωση της αμυλόζης και των συμπλόκων με τα λιπαρά οξέα, η διάμετρος σωματιδίων της αμυλόζης ήταν 2300nm και των συμπλόκων μεταξύ 1700-2100nm (Σχήμα 4.123). Όπως αναφέρεται από τους Lesmes et al. (2009) και Zabbar et al. (2009), όσο αυξάνεται ο αριθμός ατόμων άνθρακα του λιπαρού οξέος σχηματίζονται μεγαλύτερου μεγέθους σωματίδια με μεγαλύτερη γυροσκοπική ακτίνα. Στη περίπτωση των συμπλόκων με το μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ, τα σύμπλοκα έχουν λιγότερες αρθρώσεις και εμφανίζονται πιο άκαμπτα, οπότε και καταλαμβάνουν στο χώρο πολύ μεγαλύτερο υδροδυναμικό όγκο, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η διάμετρος τους. Η διαφοροποίηση στις τιμές που παρατηρείται μεταξύ της αμυλόζης και του Hylon VII, και των αντίστοιχων συμπλόκων με τα λιπαρά οξέα οφείλεται στο ότι πιθανότατα η αμυλοπηκτίνη συμμετέχει στη διαμόρφωση του μορίου και αυξάνεται ο υδροδυναμικός όγκος που καταλαμβάνει το Hylon VII με αποτέλεσμα να αυξάνεται η διάμετρος τους. Με γνώμονα ότι το υδροξείδιο του καλίου θεωρείται καλός διαλύτης για την αμυλόζη και το ότι η διάμετρος των σωματιδίων του Hylon VII είναι τριπλάσια σε σχέση με αυτή της αμυλόζης πιθανότατα το Hylon VII και τα σύμπλοκα να

δημιουργούν υπερδομές με την αμυλοπηκτίνη και να αυξάνεται με τον τρόπο αυτό η διάμετρος τους. Ωστόσο σε pH 11,8 (0,01N KOH), η διάμετρος των σωματιδίων του Hylon VII ήταν 5700nm ενώ των συμπλόκων με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ ήταν 1100nm, 1390nm, 1442nm, 1623nm & 1765nm, αντίστοιχα. Παρατηρώντας το



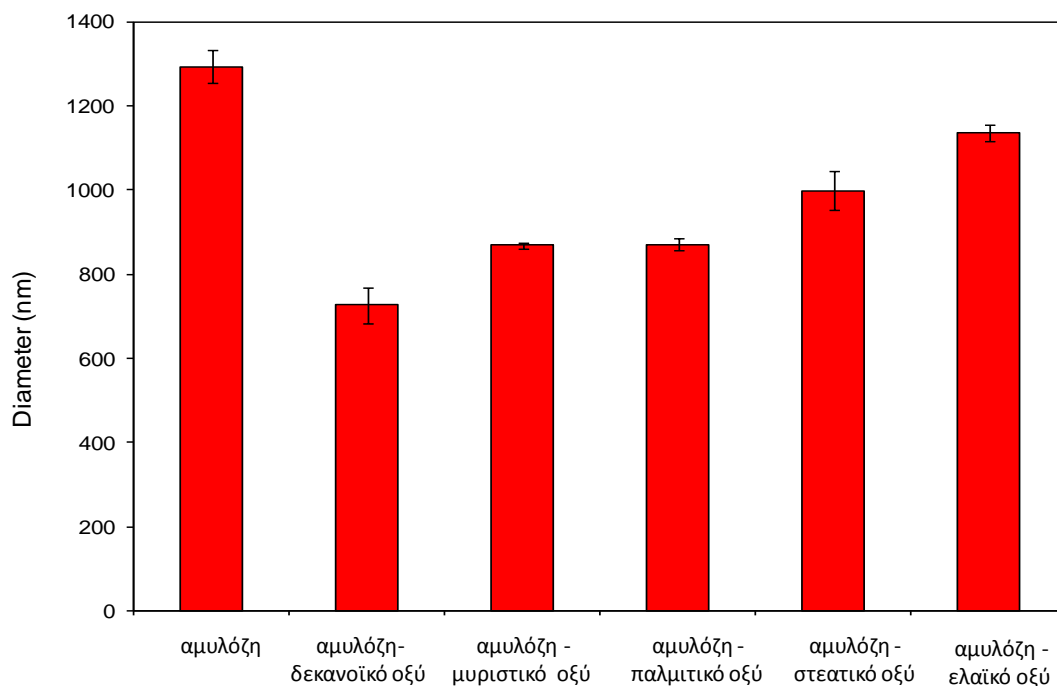
Σχήμα 4.123 Διάμετρος σωματιδίων αμυλόζης (συγκέντρωση 1,5 %), συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30°C.



Σχήμα 4.124 Διάμετρος σωματιδίων Hylon VII, συμπλόκων Hylon VII λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30°C

Σχήμα 4.124, διαπιστώνεται ότι όσο μειώνεται η κανονικότητα του αλκαλικού διαλύματος, η διάμετρος των σωματιδίων τόσο του Hylon VII όσο και των συμπλόκων Hylon VII με τα λιπαρά οξέα μειώνεται.

Στο Σχήμα 4.125 παρουσιάζεται η διάμετρος των σωματιδίων της αμυλόζης, (συγκέντρωσης 1%) και των συμπλόκων με τα λιπαρά οξέα σε διάλυμα 0,1 KOH.



Σχήμα 4.125 Διάμετρος σωματιδίων αμυλόζης (συγκέντρωση 1 %), συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό, στεατικό & ελαϊκό οξύ) που παρασκευάστηκαν στους 30°C.

Παρατηρώντας το Σχήμα 4.125, διαπιστώνεται ότι η διάμετρος της αμυλόζης και των συμπλόκων είναι χαμηλότερη σε σχέση με τη διάμετρο της αμυλόζης, συγκέντρωσης 1,5 % και των αντίστοιχων συμπλόκων. Η διαφοροποίηση στις τιμές των διαμέτρων που παρατηρείται μεταξύ των δύο διαφορετικών συγκεντρώσεων της αμυλόζης και των αντίστοιχων συμπλόκων, πιθανότατα σχετίζεται με το μικρότερο υδροδυναμικό όγκο που καταλαμβάνει η αμυλόζη σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, με αποτέλεσμα να μειώνεται η διάμετρος τους. Σύμφωνα με τους Miles et al. (1965) η κρίσιμη συγκέντρωση αμυλόζης  $C^*$  πάνω από την οποία οι αλυσίδες της αμυλόζης συμπλέκονται λόγω αλληλεπικάλυψης (overlapping) και σχηματίζουν διασυνδέσεις (physical entanglements) πιθανώς πρόσκαιρες, είναι 1,5 %. Ωστόσο, όπως προαναφέρθηκε τα παραπάνω αποτελέσματα θεωρούνται ενδεικτικά, και ως εκ τούτου απαιτείται να γίνει ενδελεχής μελέτη σε αυτό τον τομέα



για να διερευνηθεί ο ρόλος που παίζει ο διαλύτης στη διαμόρφωση της αμυλόζης και των συμπλόκων και επίσης να διαπιστωθεί εάν η ίδια συμπεριφορά εμφανίζεται στην περίπτωση των αμύλων (Hylon VII, pregel) και των συμπλόκων. Επίσης, με γνώμονα ότι το C\* είναι 1,5 %, θα ήταν ενδιαφέρον να μελετηθεί πώς μεταβάλλεται ο υδροδυναμικός όγκος όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της αμυλόζης και των συμπλόκων και όσο αλλάζει η κανονικότητα του διαλύτη.

#### 4.11. ΚΟΚΚΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΑΜΥΛΟΖΗΣ ΜΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΣΚΕΛΑΣΗΣ ΤΟΥ ΦΩΤΟΣ

Στον Πίνακα 4.12, παρουσιάζονται οι τιμές των παραμέτρων κοκκομετρικής ανάλυσης των συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό και στεατικό οξύ που παρασκευάστηκαν στους 30°C, ενώ στον Πίνακα 4.13 παρουσιάζονται οι τιμές των παραμέτρων των συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C. Όπως προαναφέρθηκε στο πειραματικό μέρος, η μελέτη των συμπλόκων πραγματοποιήθηκε αμέσως μετά την ανάμιξη των αλκαλικών διαλυμάτων της αμυλόζης και των λιπαρών οξέων στους 30, 50 ή 70° C και ρύθμισης του pH στο 4,6. Στο Σχήμα 4.126 απεικονίζονται οι καμπύλες κατανομής μεγέθους των συμπλόκων με τα κορεσμένα λιπαρά οξέα και των συμπλόκων αμυλόζης με ελαϊκό οξύ που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C και μετρήθηκαν σε κατάσταση αιωρήματος σε pH 4,6.

Πίνακας 4.12 Τιμές παραμέτρων κοκκομετρικής ανάλυσης των συμπλόκων αμυλόζης με λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό & στεατικό οξύ)

Σύμπλοκα	d (4,3)/ $\mu\text{m}$	d (3,2)/ $\mu\text{m}$	d(0,1)/ $\mu\text{m}$	d(0,5)/ $\mu\text{m}$	d(0,9)/ $\mu\text{m}$
Αμυλόζης-δεκανοϊκού οξέος	43,18	34,36	14,62	27,01	59,34
Αμυλόζης-μυριστικού οξέος	39,92	31,74	18,88	35,88	66,72
Αμυλόζης-παλμιτικού οξέος	34,21	26,20	15,18	30,18	58,78
Αμυλόζης-στεατικού οξέος	35,37	36,18	14,75	31,63	64,29

d (4,3) : μέση διάμετρος του όγκου των σωματιδίων

d (3,2): μέση διάμετρος του εμβαδού της επιφανείας

d (0,1), d (0,5) & d (0,9): διάμετρος μεγαλύτερη ή ίση αυτής του 10%, 50% και 90% των σωματιδίων του δείγματος

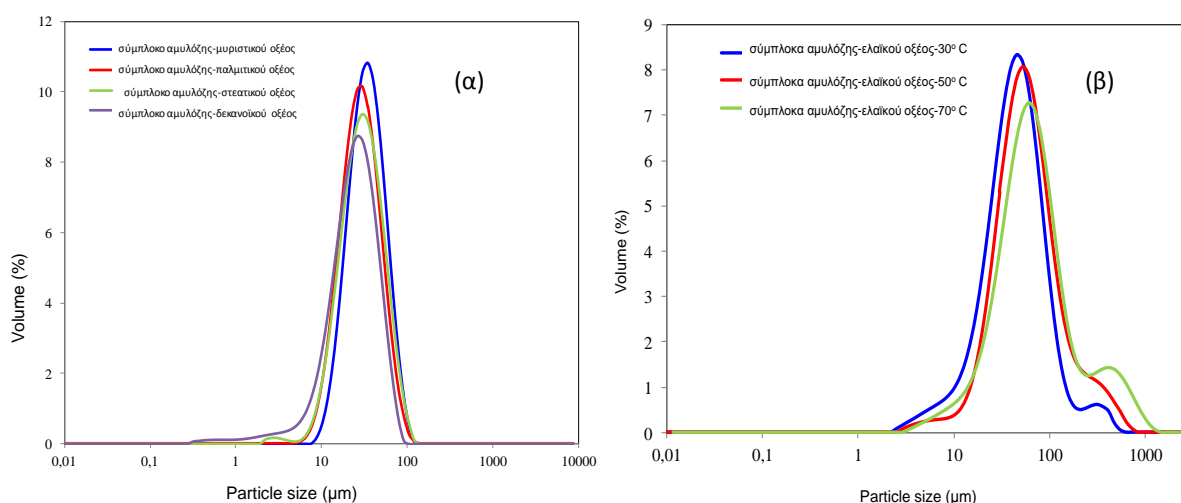
Πίνακας 4.13 Τιμές παραμέτρων κοκκομετρικής ανάλυσης των συμπλόκων αμυλόζης με ελαϊκό οξύ.

Σύμπλοκα αμυλόζης-ελαϊκού οξέος	d(4,3)/ $\mu\text{m}$	d(3,2)/ $\mu\text{m}$	d(0,1)/ $\mu\text{m}$	d(0,5)/ $\mu\text{m}$	d(0,9)/ $\mu\text{m}$
30 °C	42,37	36,83	20,08	54,11	126,64
50 °C	89,26	43,69	24,65	59,53	179,84
70 °C	109,36	40,45	20,90	59,26	272,46

d (4,3) : μέση διάμετρος του όγκου των σωματιδίων

d (3,2): μέση διάμετρος του εμβαδού της επιφανείας

d (0,1), d (0,5) & d (0,9): διάμετρος μεγαλύτερη ή ίση αυτής του 10%, 50% και 90% των σωματιδίων του δείγματος



Σχήμα 4.126 (α) Διάγραμμα κατανομής μεγέθους σωματιδίων συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό, μυριστικό, παλμιτικό και στεατικό οξύ. Τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν στους 30°C, (β) Διάγραμμα κατανομής μεγέθους σωματιδίων συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70°C.

Παρατηρώντας το Σχήμα 4.126 διαπιστώνεται όλα τα σύμπλοκα εμφάνισαν κανονική καμπύλη κατανομής στη περιοχή των 10-100 $\mu\text{m}$ . Ωστόσο η μέση διάμετρος των σωματιδίων ήταν υψηλότερη στην περίπτωση των συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό οξύ, γεγονός που πιθανώς να οφείλεται στη αυξημένη διαλυτότητά του σε υδατικό περιβάλλον, με αποτέλεσμα, να μην μπορεί να παραμένει σταθερά στο εσωτερικό της έλικας της αμυλόζης. Επίσης, όπως φαίνεται στον Πίνακα 4.13, όσο αυξάνεται η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων, η διάμετρος των σωματιδίων

αυξάνεται γεγονός που πιθανότατα οφείλεται στο ότι όσο αυξάνεται η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων, αυξάνεται η κινητικότητα των μορίων των συμπλόκων με αποτέλεσμα τα υδροξύλια να ενώνονται μεταξύ τους και να σχηματίζουν υπερδομές. Συγκρίνοντας τη μέση διάμετρο των σωματιδίων των συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος που παρασκευάστηκαν στους 30, 50 ή 70 C με το μέγεθος των κρυστάλλων των αντίστοιχων συμπλόκων στις ανάλογες θερμοκρασίες (Ενότητα 4.2.1), παρατηρείται ότι το μέγεθος των κρυστάλλων των συμπλόκων αμυλόζης-ελαϊκού οξέος μειώνεται με αύξηση της θερμοκρασίας συμπλοκοποίησης, ενώ η μέση διάμετρος των σωματιδίων αυξάνεται. Η διαφοροποίηση αυτή οφείλεται στο ότι στη μέτρηση της μέσης διαμέτρου των σωματιδίων υπολογίζεται όλο το matrix των συμπλόκων σε κατάσταση σωματιδίων, δηλαδή οι κρυσταλλίτες και το τμήμα της άμορφης δομής, ενώ στην περίπτωση του μεγέθους των κρυστάλλων η μέτρηση αναφέρεται μόνο στο τμήμα της κρυσταλλικής δομής.

Οι Lesmes et al. (2009), με την τεχνική της σκέδασης του φωτός, μελέτησαν το μέγεθος σωματιδίων συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων εφαρμόζοντας δύο διαφορετικά πειραματικά πρωτόκολλα. Σύμφωνα με το πρώτο πρωτόκολλο, οι ερευνητές αμέσως μετά την ανάμιξη των διαλυμάτων της αμυλόζης και των λιπαρών οξέων και ρύθμισης του pH στο 4,7, ποσότητα δείγματος (συγκέντρωσης αμυλόζης 1,5%) προστέθηκε στο δειγματοφορέα του οργάνου που περιείχε ορισμένη ποσότητα απιονισμένου νερού και μετρήθηκε το μέγεθος των σωματιδίων των συμπλόκων. Όσον αφορά στο δεύτερο πρωτόκολλο, τα υδατικά αιωρήματα των συμπλόκων φυγοκεντρήθηκαν και το υπερκείμενο απομακρύνθηκε και κατόπιν με την τεχνική της δυναμικής σκέδασης του φωτός μετρήθηκε το μέγεθος των σωματιδίων που περιέχονταν σε αυτό. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνάς τους, το μέγεθος των σωματιδίων των αιωρημάτων των συμπλόκων (pH 4.7) κυμάνθηκε μεταξύ 1,382 και 18,86  $\mu\text{m}$  ενώ στην περίπτωση του υπερκείμενου υγρού που παραλήφθηκε μετά από φυγοκέντρηση του αιωρήματος των συμπλόκων ήταν  $\sim 164$  nm. Δεδομένου ότι οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε pH 4,7, όπου σε αυτό το pH η ιονική ισχύς του αιωρήματος είναι υψηλή και λόγω παρουσίας του ηλεκτρολύτη το οποίο σχηματίστηκε κατά την εξουδετέρωση του KOH με HCl, πιθανότατα δημιουργούνται συσσωματώματα τα οποία εξηγούν και το μεγάλο μέγεθος των σωματιδίων που παρατηρείται σε αντίθεση με το μέγεθος των σωματιδίων στο υπερκείμενο υγρό το οποίο είναι κατά πολύ μικρότερο. Όπως αναμενόταν, λόγω της φυγοκέντρησης του αιωρήματος των συμπλόκων, τα μεγάλα μόρια καταβυθίστηκαν με αποτέλεσμα στο υπερκείμενο υγρό να παραμένουν μικρότερου μεγέθους σωματίδια. Παρόμοια και στην παρούσα μελέτη, το μέγεθος των σωματιδίων των αιωρημάτων των συμπλόκων ήταν  $\sim 35\mu\text{m}$ . Η διαφοροποίηση η οποία παρατηρείται στο μέγεθος των σωματιδίων των αιωρημάτων των συμπλόκων της παρούσας εργασίας με αυτό των συμπλόκων της έρευνας των Lesmes et al. (2009)

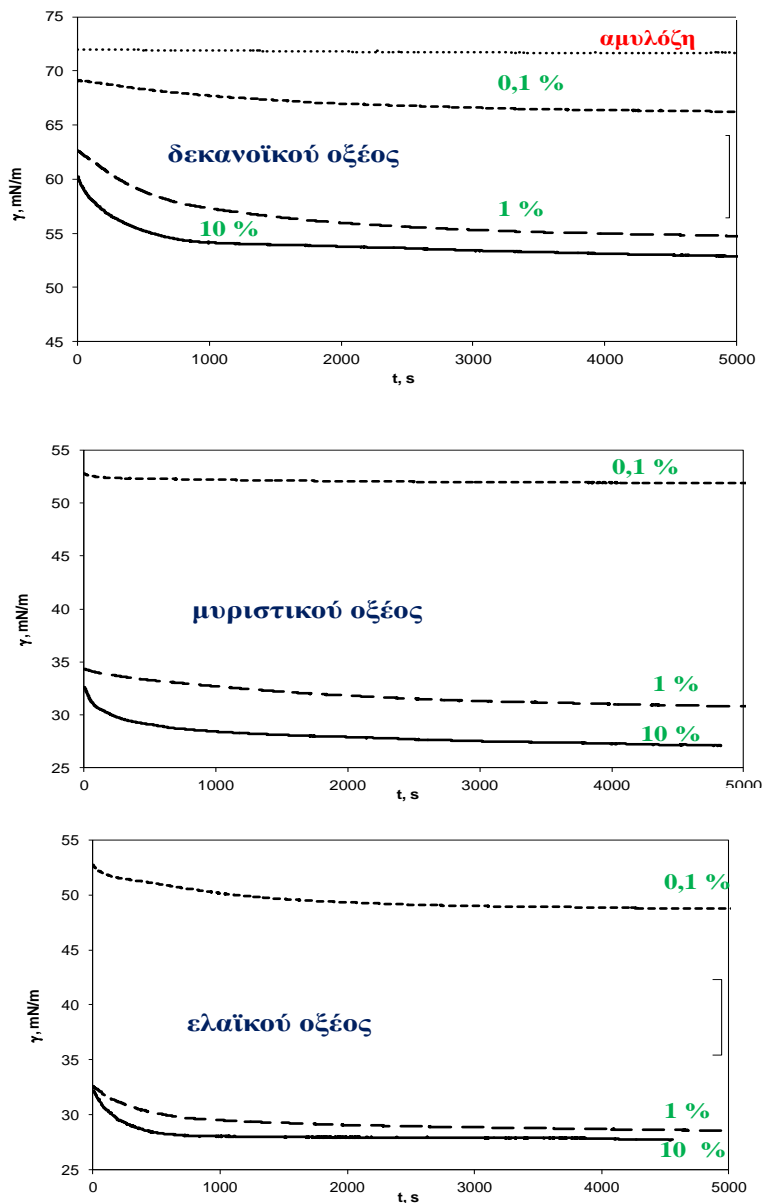
πιθανότατα οφείλεται στο ότι στην παρούσα εργασία για την παραγωγή των συμπλόκων η αμυλόζη που εξάχθηκε από άμυλο αρακά παρουσιάζει μεγαλύτερο βαθμό πολυμερισμού (d.p.1700) σε σχέση με το βαθμό πολυμερισμού της αμυλόζης από άμυλο πατάτας (d.p. 900) που χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή των συμπλόκων από τους Lesmes et al. (2009), οπότε είναι επόμενο οι τιμές μεγέθους που προσδιορίστηκαν στα δείγματα της παρούσας εργασίας να είναι μεγαλύτερες από εκείνες που αναφέρθηκαν από τους Lesmes et al. (2009).

Συγκρίνοντας τις τιμές του μεγέθους των σωματιδίων των αιωρημάτων των συμπλόκων και των σωματιδίων στο υπερκείμενο υγρό των συμπλόκων της έρευνας των Lesmes et al. (2009) με τη διάμετρο των σωματιδίων των συμπλόκων σε pH 12,7, όπως παρουσιάζονται αναλυτικά στην Ενότητα 4.10, θεωρούμε ότι σε pH 12,7 οι τιμές είναι αντιπροσωπευτικές και αφορούν το μέσο όρο του μεγέθους των μορίων της συμπλεγμένης αμυλόζης, δεδομένου ότι σε αυτό το pH, λόγω ηλεκτροστατικών απώσεων τα μόρια της συμπλεγμένης αμυλόζης, δεν συγκρούονται μεταξύ τους, με αποτέλεσμα να μην δημιουργούνται συσσωματώματα, όπως συμβαίνει στην περίπτωση των αιωρημάτων των συμπλόκων σε pH 4,6, ενώ αντίθετα στην περίπτωση των σωματιδίων που περιέχονται στο υπερκείμενο υγρό (μετά από φυγοκέντρηση του αιωρήματος) οι τιμές δεν θεωρούνται αντιπροσωπευτικές γιατί αποτελούν τη χαμηλότερη κλίμακα του μεγέθους των σωματιδίων των συμπλόκων που μπορεί να είναι εν αιωρήσει. Η παρατήρηση αυτή εξηγεί γιατί το μέγεθος των σωματιδίων στο υπερκείμενο υγρό εμφανίστηκε να είναι κατά πολύ μικρότερο του μέσου όρου του μεγέθους των μορίων των συμπλόκων σε pH 12,7. Ωστόσο λαμβάνοντας υπόψη ότι το pH συστημάτων αυτών σε βιομηχανικές εφαρμογές θα πρέπει να είναι γύρω στο 7,0, οι τιμές του μεγέθους των σωματιδίων των αιωρημάτων των συμπλόκων σε pH 4,6 θεωρούνται αντιπροσωπευτικές καθώς προσομοιάζουν τις συνθήκες που συνήθως επικρατούν κατά την παρασκευή των τροφίμων σε αντίθεση με τις ακραίες τιμές pH π.χ. 12,7, οι οποίες δεν βρίσκουν εφαρμογή στην παραγωγή τροφίμων.

#### *4.12. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΗΣ ΤΑΣΗΣ ΑΜΥΛΟΖΗΣ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΑΜΥΛΟΖΗΣ ΜΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΚΡΕΜΑΜΕΝΗΣ ΣΤΑΓΟΝΑΣ (pendant drop) ΚΑΙ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΠΛΑΚΙΔΙΟΥ (WILHELMY PLATE)*

Στο Σχήμα 4.127 απεικονίζονται οι καμπύλες επιφανειακής τάσης της αμυλόζης σε διάλυμα 0,1 N KOH (pH=12,7) και των λιπαρών οξέων (δεκανοϊκό, μυριστικό & ελαϊκό οξύ) σε συγκεντρώσεις 0,1%, 1 % και 10 %. Παρατηρώντας το Σχήμα 4.127 διαπιστώνεται ότι, η αμυλόζη, όπως αναμενόταν, δεν είναι επιφανειακά ενεργή, καθώς το διάλυμα της παρουσιάζει παρόμοια

επιφανειακή τάση με αυτή του καθαρού διαλύματος 0,1 N KOH (74,0mN/m). Ωστόσο, συγκρίνοντας την επιφανειακή τάση των δύο διαλυμάτων (0,1N KOH & καθαρής αμυλόζης)



Σχήμα 4.127 Καμπύλες διεπιφανειακής τάσης ( $\gamma$ ) σε συνάρτηση με το χρόνο δεκανοϊκού οξέος (CA), μυριστικού οξέος (MA), ελαϊκού οξέος (OA) και καθαρής αμυλόζης στη διεπιφάνεια νερού/αέρα με τη μέθοδο της πλάκας Wilhelmy.

παρατηρείται μια μικρή μείωση στην επιφανειακή τάση της αμυλόζης (~2 mN/m), γεγονός που πιθανότατα οφείλεται στην παρουσία υπολειμματικής πρωτεΐνης (Πίνακας 4.1) και στην παρουσία μικρής συγκέντρωσης ακαθαρσιών με αποτέλεσμα να οδηγούν σε μείωση της επιφανειακής τάσης της αμυλόζης.

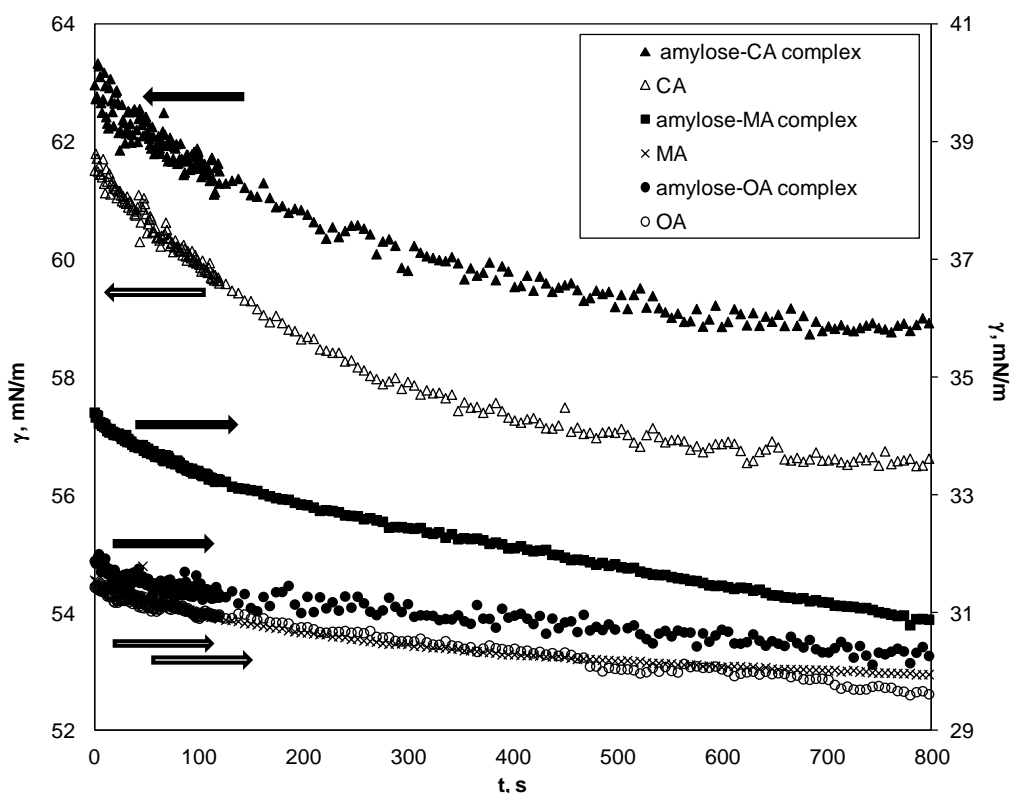
Στο Σχήμα 4.127 παρατηρείται ότι η επιφανειακή τάση των διαλυμάτων των λιπαρών οξέων μειώνεται με την πάροδο του χρόνου γεγονός που οφείλεται στην προσρόφηση των λιπαρών οξέων στη διεπιφάνεια νερού/αέρα. Συγκεκριμένα, παρατηρώντας τις καμπύλες της επιφανειακής τάσης, διαπιστώνεται ότι ο ρυθμός μείωσης της επιφανειακής τάσης είναι πιο έντονος τα πρώτα λεπτά των μετρήσεων και μειώνεται τα τελευταία λεπτά. Παρατηρώντας το Σχήμα 4.127 διαπιστώνεται ότι σε όλες τις συγκεντρώσεις των λιπαρών οξέων, όσο μεγαλύτερο είναι το μήκος της αλειφατικής αλυσίδας του λιπαρού οξέος τόσο μεγαλύτερη είναι η μείωση της επιφανειακής τάσης. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με τον κανόνα Traube (1881). Ωστόσο στην περίπτωση του ελαϊκού οξέος σε συγκεντρώσεις 1 και 10 % η τιμή της επιφανειακής τάσης φθάνει τη κρίσιμη συγκέντρωση μικυλλίων (CMC) (Σχήμα 4.127-γ) σε σύγκριση με το δεκανοϊκό & μυριστικό οξύ, τα οποία στις ίδιες συγκεντρώσεις δεν έχουν φθάσει τη CMC που αντιστοιχεί σε αυτά (Σχήματα 4.127α & 4.127β). Η διαφορά αυτή πιθανότατα οφείλεται στο μεγαλύτερο μήκος αλυσίδας του ελαϊκού οξέος (σε σχέση με τα υπόλοιπα λιπαρά οξέα). Η κάμψη της ανθρακικής αλυσίδας λόγω της *cis*-διαμόρφωσης του διπλού δεσμού παίζει σίγουρα κάποιο ρόλο στην επιφανειακή τάση, ωστόσο, με βάση τα παραπάνω πειραματικά δεδομένα δεν μπορεί να αξιολογηθεί η επίδραση αυτή. Για να διερευνηθεί η επίδραση του διπλού δεσμού στην τιμή της επιφανειακής τάσης, θα μπορούσε να συγκριθεί η μεταβολή της επιφανειακής τάσης του ελαϊκού οξέος με αυτή ενός λιπαρού οξέος ίδιου μήκους ανθρακικής αλυσίδας (π.χ. ελαϊδικό ή στεατικό οξύ).

Στο Σχήμα 4.128 παρουσιάζονται οι καμπύλες της επιφανειακής τάσης στη διεπιφάνεια νερού/αέρα των λιπαρών οξέων συγκέντρωσης 10% ( $0,6 \cdot 10^{-3} \text{g/mL}$ ) και των αντίστοιχων συμπλόκων με τη μέθοδο της κρεμάμενης σταγόνας (*pendant drop*). Παρατηρώντας τις καμπύλες της επιφανειακής τάσης των διαλυμάτων των λιπαρών οξέων συγκέντρωσης 10% με τη μέθοδο της κρεμάμενης σταγόνας (Σχήμα 4.128) και της πλάκας Wilhelmy (Σχήμα 4.127), διαπιστώνεται ότι ήταν παρόμοιες.

Συγκρίνοντας την επιφανειακή τάση των διαλυμάτων λιπαρών οξέων με τα διαλύματα των αντίστοιχων συμπλόκων αμυλόζης–λιπαρών οξέων (ίδιας συγκέντρωσης προστιθέμενου λιπαρού οξέος), διαπιστώνεται ότι υπάρχει σαφής διαφορά μεταξύ των λιπαρών οξέων και συγκεκριμένα μεταξύ του δεκανοϊκού και του μυριστικού οξέος και των αντίστοιχων συμπλόκων. Συγκεκριμένα, παρατηρείται μια αύξηση στην τιμή της επιφανειακής τάσης των συμπλόκων που υποδηλώνει ότι τα λιπαρά οξέα εγκλείονται στο εσωτερικό της έλικας της αμυλόζης, με αποτέλεσμα να μην είναι διαθέσιμα για προσρόφηση στη διεπιφάνεια υγρού/αέρα.

Επίσης, συγκρίνοντας τις καμπύλες της επιφανειακής τάσης των διαλυμάτων των συμπλόκων με αυτή της καθαρής αμυλόζης διαπιστώνεται μια προοδευτική και συνεχής μείωση της επιφανειακής

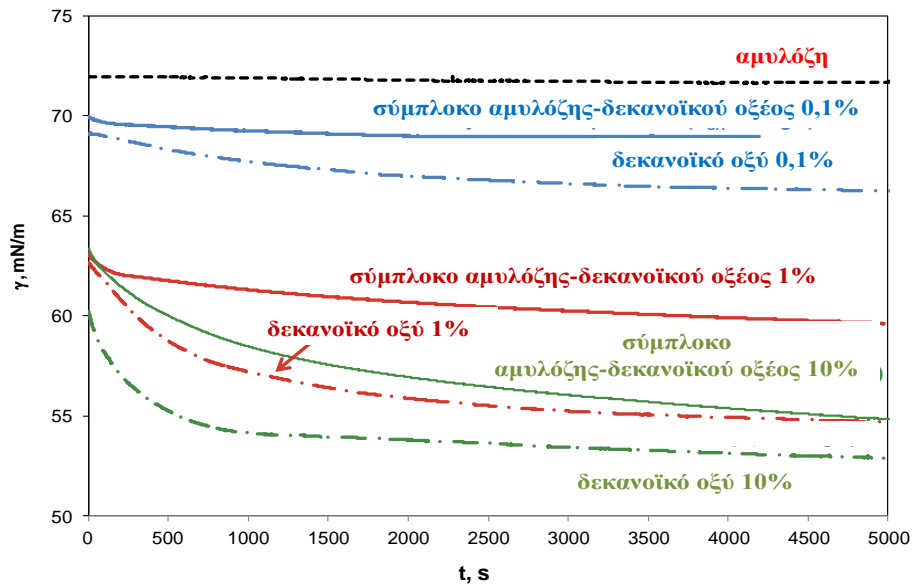
τάσης των συμπλόκων (Σχήμα 4.128) σε σχέση με τη καθαρή αμυλόζη (Σχήμα 4.127α) (μάρτυρας), γεγονός που οφείλεται σε περίσσεια ελεύθερων μορίων λιπαρών οξέων τα οποία δεν συμπλοκοποιήθηκαν και προσροφήθηκαν στη διεπιφάνεια υγρού/αέρα. Ωστόσο στην



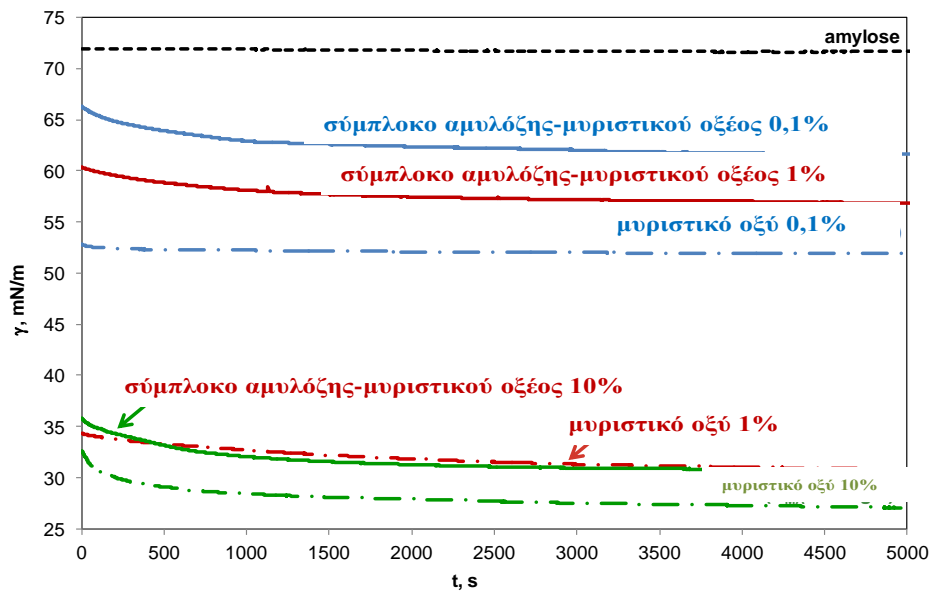
Σχήμα 4.128 Καμπύλες διεπιφανειακής τάσης ( $\gamma$ ) σε συνάρτηση με το χρόνο, συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό (amylose-CA complex), μυριστικό (amylose-MA complex) και ελαϊκό οξύ (amylose-OA complex) στη διεπιφάνεια νερού/αέρα με τη μέθοδο της κρεμάμενης σταγόνας. Τα λιπαρά οξέα δεκανοϊκό οξύ (CA), μυριστικό οξύ (CA) και ελαϊκό οξύ (OA) προστέθηκαν σε συγκέντρωση 10 % του βάρους της αμυλόζης κατά το σχηματισμό των συμπλόκων.

περίπτωση του ελαϊκού οξέος (μάρτυρας) και των συμπλόκων αμυλόζης με το ελαϊκό οξύ δεν παρατηρείται η συγκεκριμένη μείωση της επιφανειακής τάσης, γεγονός που πιθανότατα υποδηλώνει μη εγκλεισμό του λιπαρού οξέος στην έλικα της αμυλόζης ή στο ότι και στις δύο περιπτώσεις διαλυμάτων το ελεύθερο λιπαρό οξύ (μη συμπλεγμένο) ήταν σε συγκέντρωση κοντά στη ή πάνω από τη CMC, κάτι το οποίο ωστόσο θα διευκρινιστεί αναλυτικά παρακάτω.

Στα Σχήματα 4.129, 4.130 & 4.131 παρουσιάζονται οι καμπύλες επιφανειακής τάσης των διαλυμάτων των λιπαρών οξέων και των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων στα οποία το λιπαρό οξύ κατά τη συμπλοκοποίηση προστέθηκε σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις 10%, 1% και 0,1% που αντιστοιχεί σε  $0,6 \times 10^{-3}$ ,  $0,6 \times 10^{-4}$  και  $0,6 \times 10^{-5}$  g/mL λιπαρό οξύ αντίστοιχα.

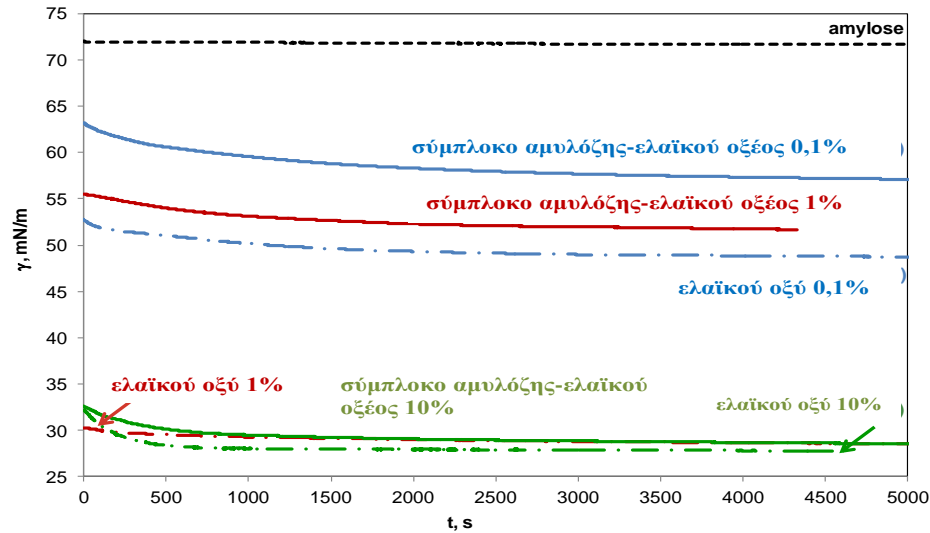


Σχήμα 4.129 Καμπύλες διεπιφανειακής τάσης ( $\gamma$ ) σε συνάρτηση με το χρόνο συμπλόκων αμυλόζης με δεκανοϊκό οξύ (amylose-CA complex) και καθαρής αμυλόζης στη διεπιφάνεια νερού/αέρα με τη μέθοδο της πλάκας Wilhelmy. Για την παρασκευή των συμπλόκων το δεκανοϊκό οξύ (OA) προστέθηκε σε συγκέντρωση 0,1, 1 και 10 % του βάρους της αμυλόζης.



Σχήμα 4.130 Καμπύλες διεπιφανειακής τάσης ( $\gamma$ ) σε συνάρτηση με το χρόνο συμπλόκων αμυλόζης με μυριστικό (amylose-MA complex) και καθαρής αμυλόζης στη διεπιφάνεια νερού/αέρα με τη μέθοδο της πλάκας Wilhelmy. Το μυριστικό οξύ (MA) προστέθηκε σε συγκέντρωση 0,1, 1 και 10 % του βάρους της αμυλόζης κατά το σχηματισμό των συμπλόκων.



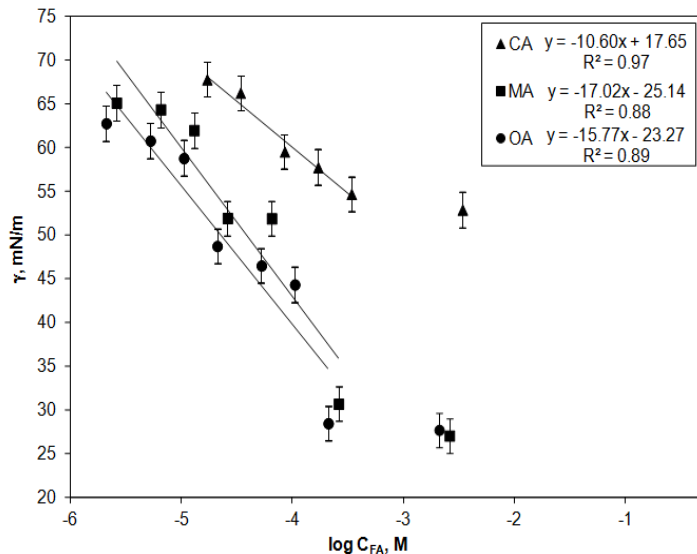


Σχήμα 4.131 Καμπύλες διεπιφανειακής τάσης ( $\gamma$ ) σε συνάρτηση με το χρόνο των συμπλόκων αμυλόζης με ελαϊκό οξύ (amylose-OA complex) και της αμυλόζης στη διεπιφάνεια υγρού/αέρα με τη μέθοδο της πλάκας Wilhelmy. Το ελαϊκό οξύ (OA) προστέθηκε σε συγκέντρωση 0,1, 1 και 10 % του βάρους της αμυλόζης κατά το σχηματισμό των συμπλόκων.

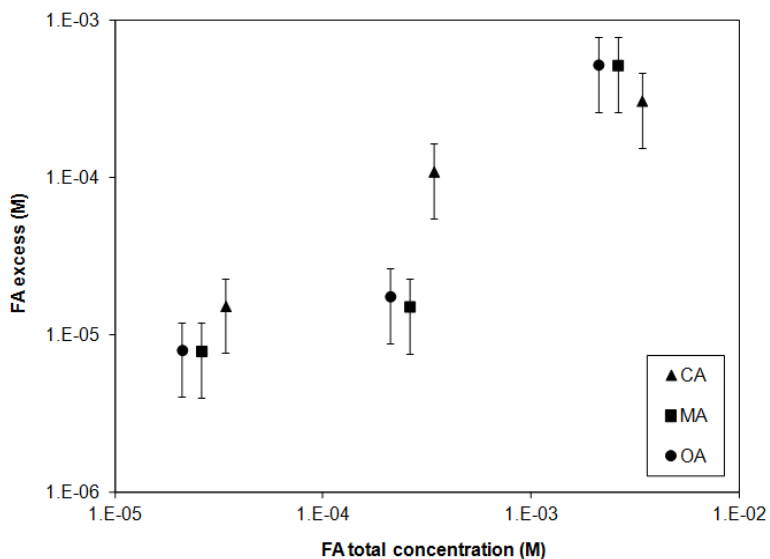
Σε όλες τις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα που προστέθηκαν στις τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις, η επιφανειακή τάση των διαλυμάτων των συμπλόκων ήταν υψηλότερη σε σχέση με την επιφανειακή τάση των λιπαρών οξέων, γεγονός που επιβεβαιώνει τον επιτυχή σχηματισμό των συμπλόκων. Επιπλέον, τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι αν και σε συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων 0,1 και 1 % δεν υπάρχουν αρκετά μόρια διαθέσιμων λιπαρών οξέων για να κορεστεί πλήρως η έλικα της αμυλόζης, υπάρχει περίσσεια λιπαρών οξέων στο διάλυμα μετά το σχηματισμό των συμπλόκων. Επίσης, οι καμπύλες επιφανειακής τάσης για τα σύμπλοκα αμυλόζης–ελαϊκού οξέος όπου το ελαϊκό οξύ προστέθηκε σε συγκεντρώσεις 0,1 και 1% υποδηλώνουν ότι το ελαϊκό οξύ εγκλείεται αποτελεσματικά στην έλικα της αμυλόζης επιβεβαιώνοντας το σχηματισμό συμπλόκου (Σχήμα 4.141γ) και ως εκ τούτου τα αποτελέσματα που ελήφθησαν για την συγκέντρωση ελαϊκού οξέος 10% πιθανότατα οφείλονται στο ότι σε αυτή τη συγκέντρωση το λιπαρό οξύ (ελεύθερο ή συμπλεγμένο) είναι κοντά στη τιμή CMC.

Με σκοπό να προσδιοριστεί κατά προσέγγιση η περίσσεια των λιπαρών οξέων, παρασκευάστηκαν διαλύματα λιπαρών οξέων διαφορετικών συγκεντρώσεων και μετρήθηκε η επιφανειακή τους τάση. Στο Σχήμα 4.132 απεικονίζεται το διάγραμμα της επιφανειακής τάσης ισορροπίας των διαλυμάτων λιπαρών οξέων σε συνάρτηση με το λογάριθμο της συγκέντρωσης.

Το γραμμικό μέρος της καμπύλης χρησιμοποιήθηκε για τους υπολογισμούς και οι αντίστοιχες εξισώσεις που χρησιμοποιήθηκαν απεικονίζονται στο Σχήμα 4.132. Η επιφανειακή τάση ισορροπίας που επιλέχθηκε αντιστοιχούσε σε χρόνο 5000s. Στο Σχήμα 4.133 απεικονίζεται η περίσσεια των λιπαρών οξέων σε συνάρτηση με την ολική συγκέντρωση των λιπαρών οξέων στο διάλυμα (δηλαδή συμπλεγμένων λιπαρών οξέων και ελεύθερων λιπαρών οξέων).



Σχήμα 4.132 Διεπιφανειακή τάση δυναμικής ισορροπίας ( $\gamma$ ) του δεκανοϊκού οξέος (CA), του μυριστικού οξέος (MA) και του ελαϊκού οξέος (OA) σε συνάρτηση με το λογάριθμο της συγκέντρωσης των λιπαρών οξέων ( $C_{FA}$ ).

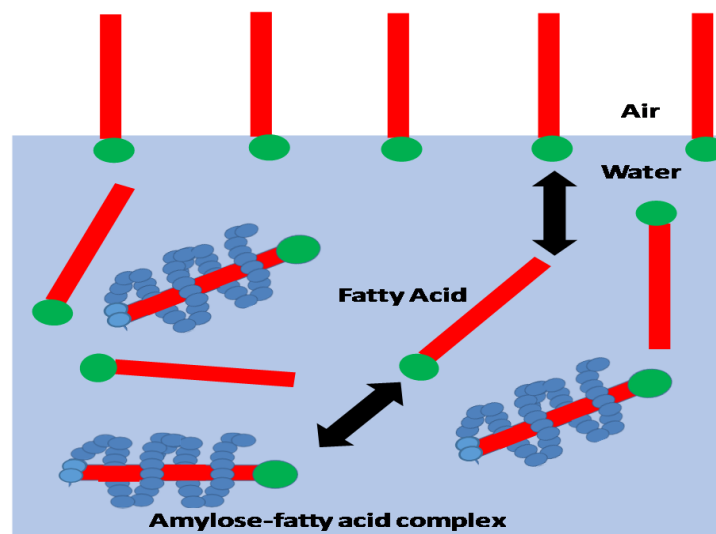


Σχήμα 4.133 Περίσσεια λιπαρών οξέων (FA excess-ελεύθερα-μη συμπλεγμένα λιπαρά οξέα) σε συνάρτηση με την ολική συγκέντρωση των λιπαρών οξέων (FA total concentration-ελεύθερα και συμπλεγμένα λιπαρά οξέα) στο διάλυμα των συμπλόκων. CA: δεκανοϊκό οξύ, MA: μυριστικό οξύ & OA: ελαϊκό οξύ αντίστοιχα.

Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η περίσσεια των λιπαρών οξέων στο διάλυμα των συμπλόκων εξαρτάται από τη συγκέντρωση του λιπαρού οξέος. Όπως προαναφέρθηκε (Σχήματα 4.127-4.131) σε όλες τις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα υπάρχει πάντα μία περίσσεια του λιπαρού οξέος, ακόμη και στις περιπτώσεις όπου το λιπαρό οξύ προστέθηκε σε συγκεντρώσεις 0,1 και 1%, όποτε δηλαδή η έλικα αμυλόζης δεν ήταν πλήρως κορεσμένη με λιπαρό οξύ.

Δεδομένου ότι σε  $pH=12,7$  η έλικα της αμυλόζης εμφανίζεται να είναι διογκωμένη και σε αυτό το  $pH$  τα λιπαρά οξέα είναι εξαιρετικά ευδιάλυτα, πιθανότατα τα λιπαρά οξέα δεν μπορούν να διατηρηθούν στο εσωτερικό της έλικας της αμυλόζης και κινούνται μέσα και έξω από την έλικά της δημιουργώντας μια κατάσταση δυναμικής ισορροπίας με τα ελεύθερα λιπαρά οξέα στο διάλυμα.

Λαμβάνοντας υπόψη ότι η αμυλόζη δεν είναι επιφανειακά ενεργή, και δεδομένου ότι τα λιπαρά οξέα προσροφώνται στη διεπιφάνεια νερού/αέρα, αυτό έχει ως αποτέλεσμα η συγκέντρωση των λιπαρών οξέων στο διάλυμα να μειώνεται σημαντικά, και κατά συνέπεια, το σύστημα τείνει να δημιουργήσει μια νέα κατάσταση ισορροπίας. Όσο το σύστημα τείνει προς αυτή τη νέα ισορροπία, μερικά μόρια του λιπαρού οξέος απομακρύνονται από το εσωτερικό της έλικας της αμυλόζης και διαχέονται στην ελεύθερη φάση και στη συνέχεια προσροφώνται στη διεπιφάνεια. Θα πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι ο ρυθμός μείωσης της επιφανειακής τάσης σε χρόνους  $\sim 5000$  s είναι υψηλότερη για το δεκανοϊκό οξύ, το οποίο είναι περισσότερο διαλυτό και πιο ευκίνητο σε σχέση με το μυριστικό και ελαϊκό οξύ, γεγονός που ενισχύει την παραπάνω θέση. Οι χαμηλοί ρυθμοί μείωσης της επιφανειακής τάσης σε μεγαλύτερους χρόνους για τα διαλύματα των συμπλόκων αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα θα μπορούσαν να σημαίνουν ότι μέρος του μη πολικού τμήματος του λιπαρού οξέος δεν εγκλείεται αποτελεσματικά στο εσωτερικό της έλικας της αμυλόζης και ως εκ τούτου τα σύμπλοκα εμφανίζονται να είναι επιφανειακά ενεργά. Ωστόσο, η υπόθεση αυτή είναι λιγότερο πιθανή να ισχύει δεδομένου ότι σύμφωνα με τους Carslon et al. (1979) και Godet et al. (1993) κατά το σχηματισμό των συμπλόκων το μη πολικό τμήμα της αλειφατικής αλυσίδας του λιπαρού οξέος εγκλείεται στο εσωτερικό της έλικας της αμυλόζης, ενώ η πολική κεφαλή παραμένει στο εξωτερικό λόγω ηλεκτροστατικών απώσεων. Στο Σχήμα 4.134 παρουσιάζεται, γραφικά, διάλυμα συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων όπου αναπαριστώνται τα μόρια ελεύθερων λιπαρών οξέων τα οποία προσροφώνται στη διεπιφάνεια νερού/αέρα και των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων που λόγω κινητικότητας δεν διατηρούνται στο εσωτερικό της έλικας της αμυλόζης αλλά κινούνται μέσα και έξω από την έλικα της αμυλόζης δημιουργώντας μια κατάσταση ισορροπίας με τα ελεύθερα λιπαρά οξέα που υπάρχουν στο διάλυμα.



Σχήμα 4.134 Σχηματική απεικόνιση διαλύματος συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων όπου αναπαριστώνται τα μόρια ελεύθερων λιπαρών οξέων τα οποία προσροφώνται προς τη διεπιφάνεια νερού/αέρα και των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων στο εσωτερικό της έλικας της αμυλόζης

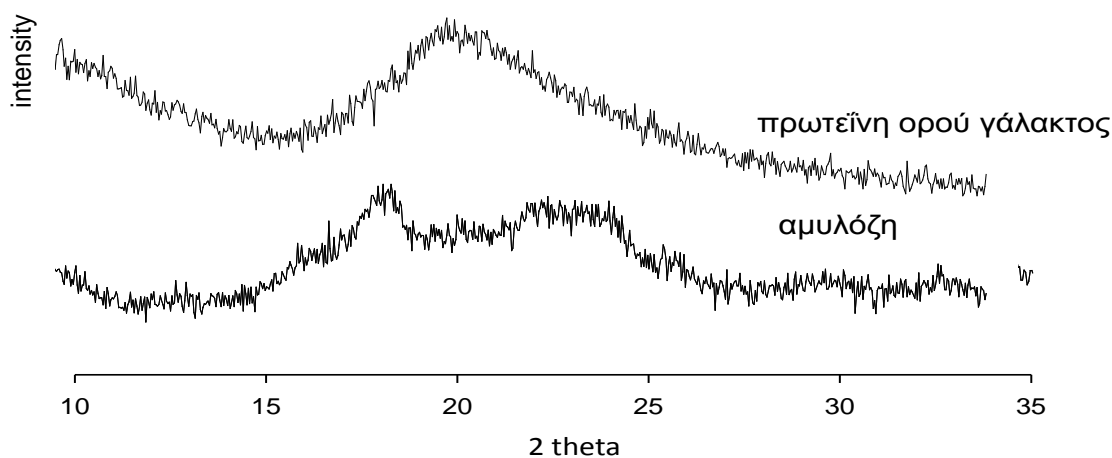
#### 4.13. ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑΣ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΕΝΟΣ ΤΡΙΑΔΙΚΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΑΜΥΛΟΖΗΣ-ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ-ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΟΡΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

##### 4.13.1. Δομικός χαρακτηρισμός του τριαδικού συμπλόκου εγκλεισμού αμυλόζης-λιπαρών οξέων-πρωτεΐνης με την τεχνική της περίθλασης ακτίνων X (XRD)

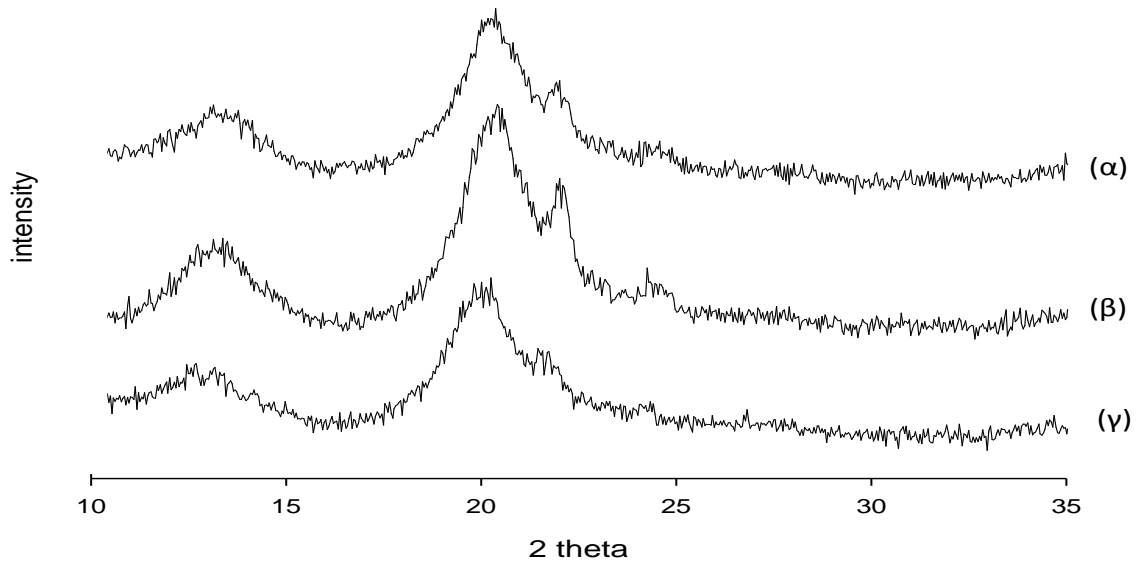
Όπως προαναφέρθηκε στην Ενότητα 2.4.10, ένα υδατοδιαλυτό τριμερές σύμπλοκο το οποίο θεωρήθηκε ότι ήταν αποτέλεσμα της αυτο-οργάνωσης αμυλόζης, πρωτεΐνης και ελεύθερου λιπαρού οξέος, αναφέρθηκε ότι ανακαλύφθηκε από ομάδα ερευνητών (Shah et al., 2011, Zhang et al. 2010, Zhang & Hamaker, 2004). Οι παραπάνω ερευνητές με τη χρήση χρωματογραφίας αποκλεισμού μεγέθους και με ιξωδομετρία θεώρησαν ότι κατέγραψαν το σχηματισμό ενός υδατοδιαλυτού τριαδικού συμπλόκου, το οποίο περιείχε αμυλόζη, πρωτεΐνη και ελεύθερο λιπαρό οξύ, με μοριακό βάρος της τάξης των  $10^6$  με  $10^7$  Da (Zhang et al., 2003). Ωστόσο, όπως αναφέρεται από τους Zhang et al. (2010), το πώς η υδρόφοβη (εσωτερικά) έλικα της αμυλόζης, η πρωτεΐνη και το ελεύθερο λιπαρό οξύ συμμετέχουν στην αυτο-οργάνωση του συμπλόκου, παραμένει άγνωστο.

Με σκοπό να διερευνηθεί η πιθανότητα σχηματισμού ενός τέτοιου τριαδικού συμπλόκου κατά τη διεργασία της συμπλοκοποίησης (Ενότητα 3.2.6), μετά την ανάμειξη του διαλύματος αμυλόζης και λιπαρού οξέος στους 50°C, ακολούθησε ρύθμιση του pH ~6 με τη χρήση 5N HCl και κατόπιν προστέθηκε η πρωτεΐνη ορού γάλακτος (60 mg). Ακολούθησε φυγοκέντρηση του διαλύματος στα  $4,200 \times g$  για 30min, με σκοπό τη παραλαβή των σχηματιζόμενων συμπλόκων και έπειτα τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν με νερό και με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) για την αφαίρεση της περίσσειας άλατος χλωριούχου καλίου και των λιπαρών οξέων που δεν συμπλοκοποιήθηκαν με την αμυλόζη, τα σύμπλοκα ξεπλύθηκαν και επαναφυγοκεντρήθηκαν στα  $4,200 \times g$  για 30min. Έπειτα ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφεται αναλυτικά στην Ενότητα 3.2.6.

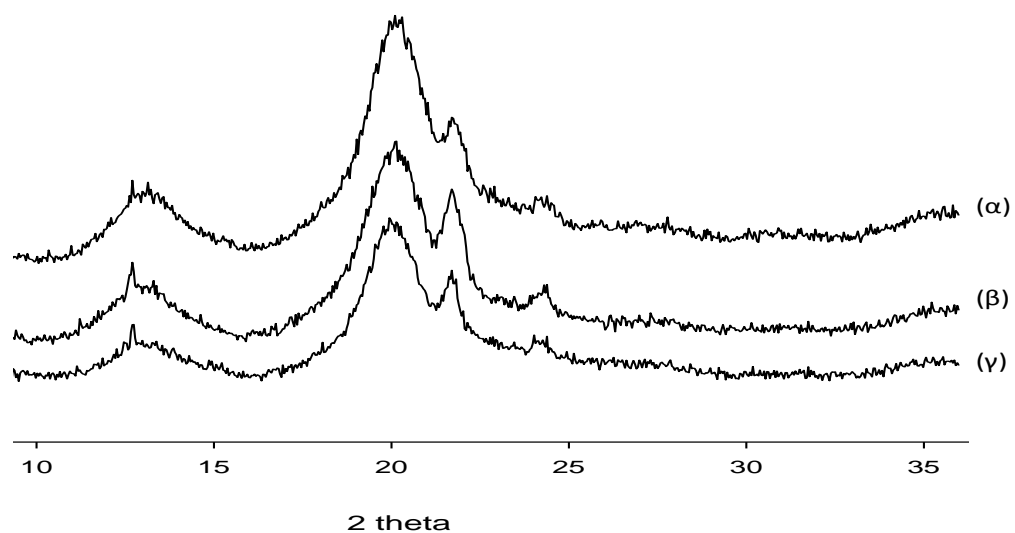
Στο Σχήμα 4.135 απεικονίζονται τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X της πρωτεΐνης ορού γάλακτος και της αμυλόζης, ενώ στα Σχήματα 4.136 και 4.137 απεικονίζονται τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X των συστημάτων αμυλόζης-λιπαρών οξέων (μυριστικό, παλμιτικό και στεατικό οξύ) παρουσία της πρωτεΐνης και των συμπλόκων αμυλόζης με τα αντίστοιχα λιπαρά οξέα. Όπως προαναφέρθηκε στην Ενότητα 4.2.1, τα σύμπλοκα που παρασκευάστηκαν στους 50°C εμφάνισαν τις χαρακτηριστικές κορυφές στις τιμές  $2\theta=13,2^\circ$  &  $19,8^\circ$  και επιβεβαίωσαν τον επιτυχή σχηματισμό της V-δομής της συμπλεγμένης αμυλόζης. Παρόμοια στα φάσματα περίθλασης ακτίνων X των συστημάτων αμυλόζης-λιπαρών οξέων-πρωτεΐνης, διαπιστώνεται η ύπαρξη των συγκεκριμένων κορυφών. Ωστόσο, όπως φαίνεται στο φάσμα περίθλασης ακτίνων X της πρωτεΐνης, εμφανίστηκε μια κορυφή στην ίδια τιμή  $2\theta=19,8^\circ$  που εμφάνισε και η V-δομή της συμπλεγμένης αμυλόζης γεγονός που δυσκολεύει πολύ την σωστή αποτίμηση των φασμάτων ακτίνων X. Επομένως, με την τεχνική της περίθλασης ακτίνων-X δεν είναι δυνατόν να επιβεβαιωθεί αν υφίσταται κάποιο είδος αλληλεπίδρασης μεταξύ πρωτεΐνης και των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων.



Σχήμα 4.135 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X αμυλόζης & πρωτεΐνης ορού γάλακτος.



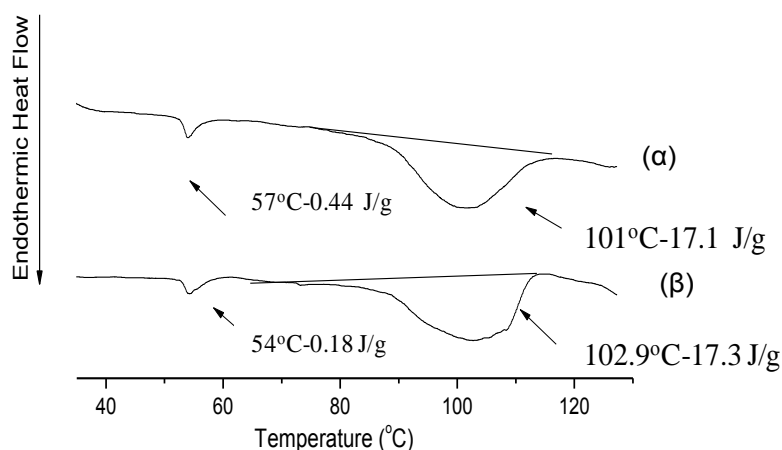
Σχήμα 4.136 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X (α) συστήματος αμυλόζης-μυριστικού οξέος παρουσία πρωτεΐνης ορού γάλακτος, (β) συστήματος αμυλόζης-παλμιτικού οξέος παρουσία πρωτεΐνης ορού γάλακτος και (γ) συστήματος αμυλόζης-στεατικού οξέος παρουσία πρωτεΐνης ορού γάλακτος. Τα δείγματα υπέστησαν κατεργασία με νερό και κατόπιν με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανση τους.



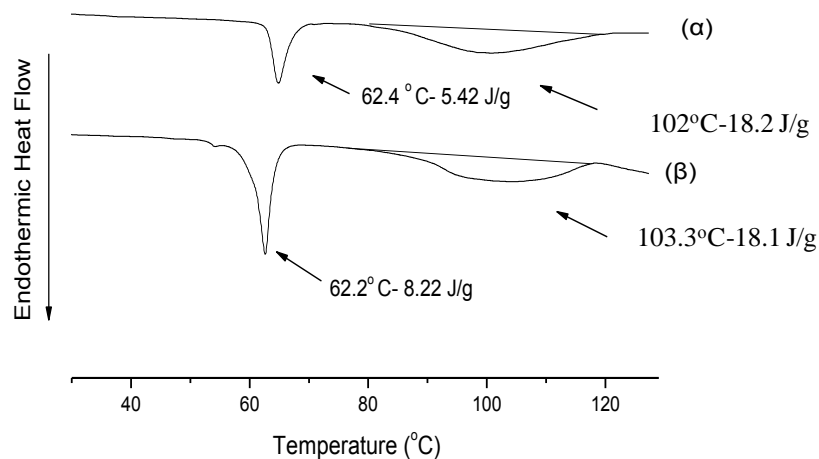
Σχήμα 4.137 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X (α) συμπλόκων αμυλόζης-μυριστικού οξέος, (β) συμπλόκων αμυλόζης-παλμιτικού οξέος και (γ) συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος. Τα δείγματα υπέστησαν κατεργασία με νερό και κατόπιν με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανση τους.

#### 4.13.2. Μελέτη των θερμικών ιδιοτήτων του τριαδικού συμπλόκου εγκλεισμού αμυλόζης-λιπαρών οξέων-πρωτεΐνης ορού γάλακτος με την τεχνική της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC)

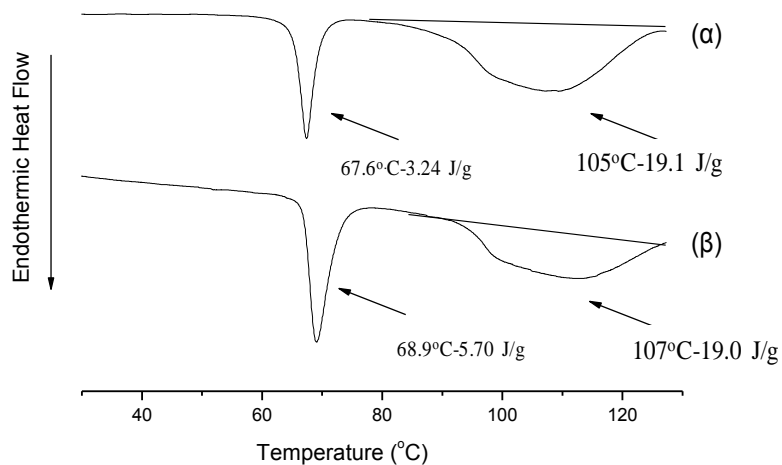
Στα Σχήματα 4.138, 4.139 & 4.140 απεικονίζονται θερμογραφήματα των συμπλόκων αμυλόζης-μεμυριστικό, παλμιτικό και στεατικό οξύ και των συστημάτων αμυλόζης-λιπαρών οξέων-πρωτεΐνης ορού γάλακτος. Τα σύμπλοκα εμφάνισαν δύο ενδόθερμες κορυφές. Όπως προαναφέρθηκε (Ενότητα 4.3.2.), η πρώτη ενδόθερμη κορυφή οφείλεται στην θερμοκρασία τήξης του μη-συμπλοκοποιημένου λιπαρού οξέος, ενώ η δεύτερη ενδόθερμη κορυφή στη θερμοκρασία διάσπασης των συμπλόκων. Όπως αναμενόταν, η θερμοκρασία διάσπασης των συμπλόκων και των συστημάτων αμυλόζης-λιπαρών οξέων-πρωτεΐνης κυμάνθηκε μεταξύ 100 έως 110°C. Ωστόσο, παρατηρώντας τα θερμογραφήματα των συστημάτων αμυλόζης-λιπαρών οξέων-πρωτεΐνης, φαίνεται ότι δεν υπάρχει καμία διαφοροποίηση των ενδόθερμων κορυφών των συμπλόκων αμυλόζης με το μυριστικό, παλμιτικό και στεατικό οξύ από την παρουσία της πρωτεΐνης ορού γάλακτος. Τόσο η θερμοκρασία όσο και η ενθαλπία διάσπασης των συμπλόκων και των συστημάτων αμυλόζης-λιπαρών οξέων-πρωτεΐνης ήταν παρόμοιες γεγονός που υποδεικνύει ότι η παρουσία της πρωτεΐνης ορού γάλακτος δεν επηρέασε το σχηματισμό των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων.



Σχήμα 4.138 Θερμογραφήματα (α) συστημάτων αμυλόζης-μυριστικού οξέος-πρωτεΐνης ορού γάλακτος και (β) συμπλόκων αμυλόζης-μυριστικού οξέος. Τα δείγματα υπέστησαν κατεργασία με νερό και με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανση τους.



Σχήμα 4.139 Θερμογραφήματα (α) συστημάτων αμυλόζης-παλμιτικού οξέος-πρωτεΐνης ορού γάλακτος και (β) συμπλόκων αμυλόζης-παλμιτικού οξέος. Τα δείγματα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανση τους.



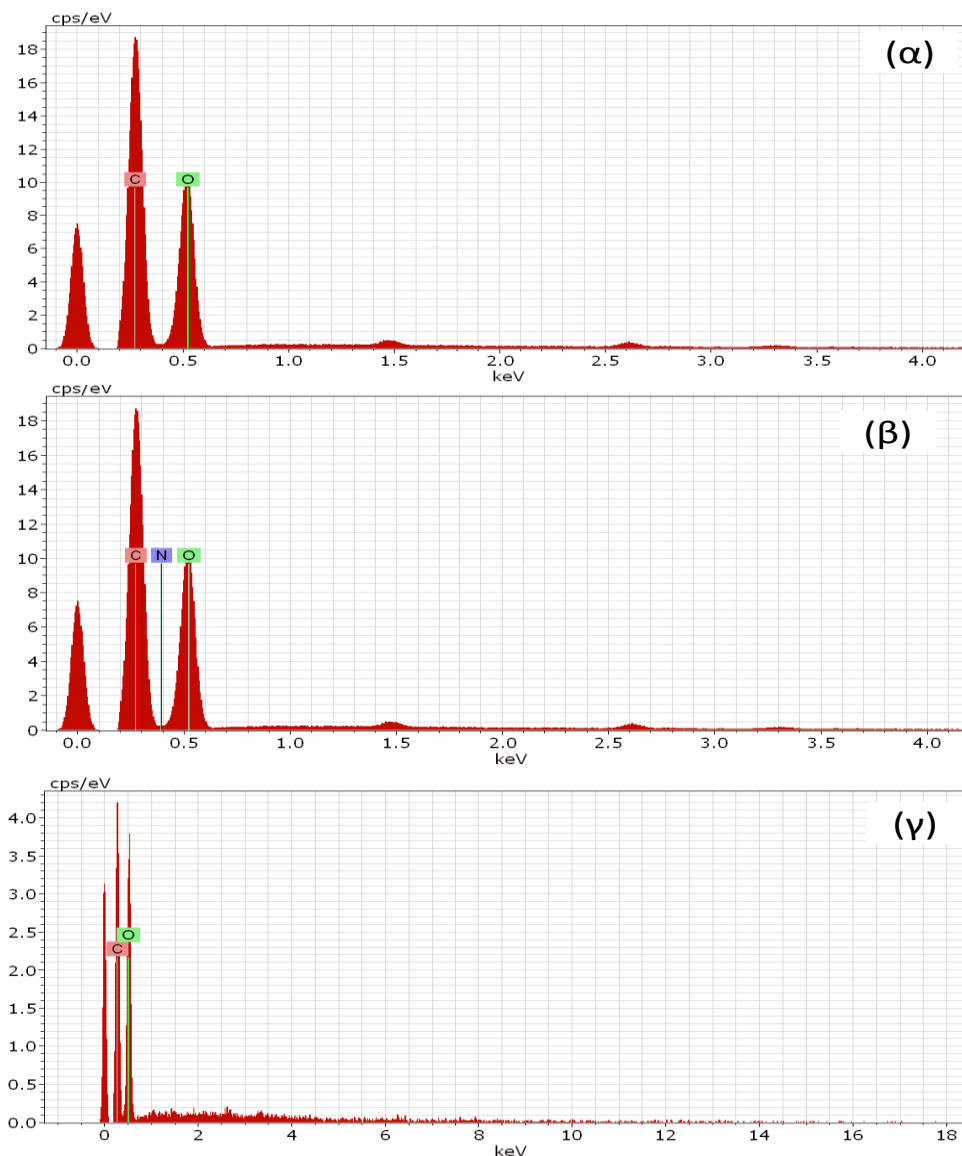
Σχήμα 4.140 Θερμογραφήματα (α) συστημάτων αμυλόζης-στεατικού οξέος-πρωτεΐνης ορού γάλακτος και (β) συμπλόκων αμυλόζης-στεατικού οξέος. Τα δείγματα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) πριν την ξήρανση τους.

#### 4.13.3. Στοιχειακή μικροανάλυση του τριαδικού συμπλόκου εγκλεισμού αμυλόζης λιπαρών οξέων-πρωτεΐνης ορού γάλακτος (EDS)

Η στοιχειακή μικροανάλυση (EDS) των συστημάτων αμυλόζης με μυριστικό οξύ (α), παλμιτικό οξύ (β) και στεατικό οξύ (γ), παρουσία πρωτεΐνης ορού γάλακτος έδειξε ότι τα στοιχεία από τα οποία



αποτελούνται τα συστήματα της αμυλόζης-λιπαρών οξέων παρουσία πρωτεΐνης ορού γάλακτος ήταν ο άνθρακας (C) και το οξυγόνο (O) (Σχήμα 4.141). Σε όλα τα δείγματα δεν παρατηρήθηκε κανένα ίχνος του στοιχείου αζώτου, γεγονός που επιβεβαιώνει την απουσία της πρωτεΐνης και τη μη δημιουργία ενός τριαδικού συμπλόκου.



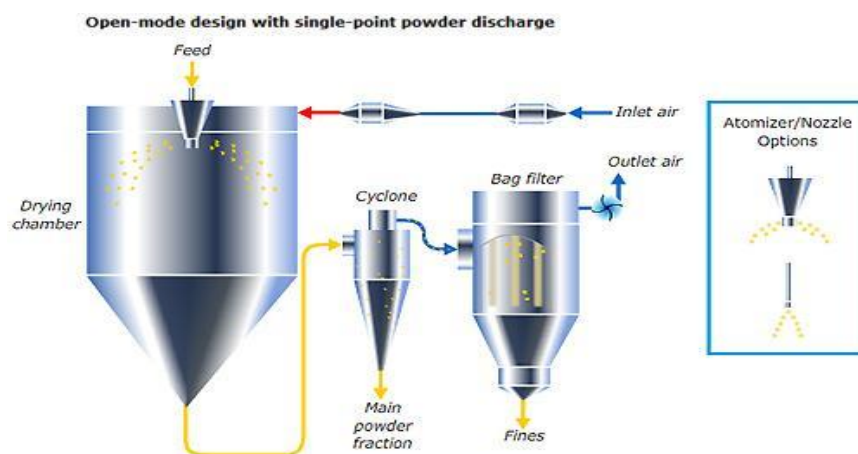
Σχήμα 4.141 Στοιχειακή μικροανάλυση συστημάτων αμυλόζης με μυριστικό οξύ (α), παλμιτικό οξύ (β) και στεατικό οξύ (γ), παρουσία πρωτεΐνης ορού γάλακτος. Τα δείγματα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) κατά την παρασκευή τους.

Τα αποτελέσματα των παραπάνω αναλύσεων και κυρίως αυτών της στοιχειακής μικροανάλυσης έδειξαν ότι δεν υπάρχει διασύνδεση των συμπλόκων με τη πρωτεΐνη γιατί διαφορετικά η στοιχειακή μικροανάλυση θα καταδείκνυε την παρουσία έστω ιχνών πρωτεΐνης. Πιθανότατα κατά την παρασκευή των συμπλόκων, η κατεργασία των δειγμάτων με νερό για την αφαίρεση της περίσσειας

άλατος χλωριούχου καλίου (όπως προαναφέρθηκε στην Ενότητα 4.1.1) έχει ως αποτέλεσμα την απομάκρυνση την πρωτεΐνης γεγονός που υποδεικνύει ότι η πρωτεΐνη ορού γάλακτος όχι μόνο δεν αλληλεπιδρά μοριακά με την αμυλόζη αλλά και ούτε παγιδεύεται μηχανικά μεταξύ των ελίκων της αμυλόζης.

#### 4.14. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΑΜΥΛΟΥ-ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΞΗΡΑΝΣΗΣ ΜΕ ΕΚΝΕΦΩΣΗ (SPRAY DRIER)

Με σκοπό να διερευνηθεί εάν οι φυσικοχημικές ιδιότητες των συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων, που παρασκευάστηκαν σε εργαστηριακή κλίμακα, παραμένουν οι ίδιες και σε βιομηχανική κλίμακα, αποφασίστηκε η παραγωγή των συμπλόκων σε πιλοτική κλίμακα σε συνθήκες που να προσομοιάζουν με αυτές μιας βιομηχανικής εφαρμογής. Η βιομηχανική εφαρμογή που επιλέχθηκε ήταν αυτή της παραγωγής των συμπλόκων σε ξηραντήριο με εκνέφωση (spray drier) η οποία κατά την άποψή μας είναι και η πλέον ενδεδειγμένη, γιατί οι συνθήκες που επικρατούν στο ξηραντήριο προσομοιάζουν αυτές που χρησιμοποιήσαμε για τη παρασκευή των συμπλόκων σε εργαστηριακή κλίμακα. Επιπλέον, η ξήρανση με εκνέφωση θεωρείται ως μια από τις καλύτερες μεθόδους ενθυλάκωσης. Η συγκεκριμένη τεχνική βρίσκει άμεση εφαρμογή στη βιομηχανία παρουσιάζοντας τα εξής πλεονεκτήματα: πολύ μικρό χρόνο παραμονής σε υψηλές θερμοκρασίες (10-20 s), η μέση θερμοκρασία είναι 70°C και επιπλέον θεωρείται μια μέθοδος εξαιρετικά αποτελεσματική ώστε να παραχθούν προϊόντα σε στερεή μορφή, τα οποία παρουσιάζουν εξαιρετική διασπαρτικότητα και διατήρηση των λειτουργικών χαρακτηριστικών τους λόγω της πολύ μικρής έκθεσης τους σε ακραίες δραστικές συνθήκες.



Σχήμα 4.142 Σχηματική απεικόνιση ξηραντηρίου με εκνέφωση

#### 4.14.1. Σύσταση των αμύλων (προζελατινοποιημένο άμυλο καλαμποκιού, άμυλο ταπιόκας, φυσικό άμυλο καλαμποκιού)

Η σύσταση των αμύλων που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή των συμπλόκων αναφορικά με την υγρασία, την πρωτεΐνη και την αμυλόζη (φαινομενική και ολική) παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 4.1. Στον Πίνακα 4.2 παρουσιάζονται οι θερμοκρασίες ζελατινοποίησης των αμύλων.

#### 4.14.2. Επίδραση της ξήρανσής με εκνέφωση στο ποσοστό υγρασίας των αφυδατωμένων συμπλόκων αμύλου με τα λιπαρά οξέα

Η περιεκτικότητά σε υγρασία των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%) με μυριστικό οξύ κυμάνθηκε μεταξύ 2,44 και 6,35% (Πίνακας 4.14), ενώ με παλμιτικό οξύ μεταξύ 4,40 και 7,77% (Πίνακας 4.15). Η περιεκτικότητά των συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%) με

Πίνακας 4.14 Παράμετροι λειτουργίας κατά την ξήρανσή με εκνέφωση των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-μυριστικού οξέος

Δείγματα	Παροχή τροφοδοσίας (kg/s)	T <sub>εισόδου αέρα</sub> (°C)	T <sub>εξόδου αέρα</sub> (°C)	Σχετική υγρασία (%)	Υγρασία (%)
1	274×10 <sup>-5</sup>	190	145	51	2,44
2	490×10 <sup>-5</sup>	180	105	51	5,13
3	490×10 <sup>-5</sup>	235	125	51	3,74
4	673×10 <sup>-5</sup>	220	93	56	6,35
5	673×10 <sup>-5</sup>	180	67	59	5,42

1,2, 3, 4, 5: επαναλήψεις δειγμάτων

Πίνακας 4.15 Παράμετροι λειτουργίας κατά την ξήρανσή με εκνέφωση των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος

Δείγματα	Παροχή τροφοδοσίας (kg/s)	T <sub>εισόδου αέρα</sub> (°C)	T <sub>εξόδου αέρα</sub> (°C)	Σχετική υγρασία (%)	Υγρασία (%)
1	523×10 <sup>-5</sup>	180	85	49	6.22
2	671×10 <sup>-5</sup>	180	67	52	7.41
3	671×10 <sup>-5</sup>	265	110	55	7.77
4	595×10 <sup>-5</sup>	220	100	55	4.40
5	595×10 <sup>-5</sup>	170	75	60	6.39

1,2, 3, 4, 5: επαναλήψεις δειγμάτων

μυριστικό οξύ κυμάνθηκε μεταξύ 2,40 και 6,76% (Πίνακας 4.16) ενώ με παλμιτικό οξύ μεταξύ 1,55 και 7,95% (Πίνακας 4.17). Στην περίπτωση των συμπλόκων φυσικού αμύλου καλαμποκιού (5%) με παλμιτικό οξύ η περιεκτικότητά σε υγρασία κυμάνθηκε μεταξύ 1,64 και 4,90% (Πίνακας 4.18) ενώ των συμπλόκων φυσικού άμυλου καλαμποκιού (10%) με παλμιτικό οξύ κυμάνθηκε μεταξύ 1,25 και 11,6% (Πίνακας 4.19).

Σύμφωνα με τους Gharsallaoui et al. (2007), Reineccius (1988) και Zbicinski et al. (2002), οι παράμετροι λειτουργίας κατά τη διεργασία ξήρανσής με εκνέφωση, όπως η θερμοκρασία εισόδου, η παροχή τροφοδοσίας, η θερμοκρασία εξόδου, και η συγκέντρωση στερεών θεωρούνται σημαντικές, διότι επηρεάζουν τα ποιοτικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος. Κατά τη διάρκεια της ξήρανσής με εκνέφωση, οι χαμηλές θερμοκρασίες εισόδου του αέρα έχουν ως αποτέλεσμα χαμηλούς ρυθμούς εξάτμισης, γεγονός που οδηγεί στην παραγωγή σκόνης με υψηλό ποσοστό υγρασίας, ενώ οι υψηλές θερμοκρασίες εισόδου αέρα έχουν ως αποτέλεσμα την υπερβολική εξάτμιση και την παραγωγή σκόνης με χαμηλό ποσοστό υγρασίας. Πιθανότατα, όσο μεγαλύτερη είναι η θερμοκρασιακή διαφορά μεταξύ των λεπτών σταγονιδίων των συμπλόκων και του θερμού αέρα ξήρανσής τόσο μεγαλύτερος είναι ρυθμός μεταφοράς θερμότητας προς τα σωματίδια με αποτέλεσμα τη γρήγορη εξάτμιση του περιεχόμενου νερού.

Επίσης, παρατηρώντας τους Πίνακες 4.18 & 4.19 διαπιστώνεται ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του αμύλου κατά τη διαδικασία της συμπλοκοποίησης, η περιεκτικότητά σε υγρασία των συμπλόκων αυξάνεται γεγονός που σχετίζεται με την παρουσία της αμυλοπηκτικής που αποτελεί κυρίαρχο συστατικό του αμύλου καλαμποκιού. Συγκεκριμένα, στην περίπτωση των συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (10%) με παλμιτικό οξύ, μεγαλύτερη ποσότητα αμυλοπηκτικής υπάρχει στο σύστημα, η οποία ως υδροκολλοειδές, δεσμεύει και εγκλωβίζει περισσότερο νερό με αποτέλεσμα τα επίπεδα υγρασίας στα αφυδατωμένα σύμπλοκα να είναι υψηλότερα σε σχέση με τα σύμπλοκα αμύλου καλαμποκιού (5%) με παλμιτικό οξύ. Παρόμοια, οι Abadio et al. (2004) αναφέρουν ότι η αύξηση της συνολικής περιεκτικότητάς σε στερεά οδηγεί σε μείωση της περιεκτικότητάς σε υγρασία των τελικών αφυδατωμένων προϊόντων. Επομένως, με βάση τα παραπάνω συνάγεται ότι το ποσοστό υγρασίας των αφυδατωμένων συμπλόκων σχετίζεται άμεσα με τις μεταβολές των τριών παραμέτρων (θερμοκρασία εισόδου αέρα, παροχής τροφοδοσίας, συγκέντρωση του αμύλου) με αποτέλεσμα την παραγωγή συμπλόκων με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας.

Πίνακας 4.16 Παράμετροι λειτουργίας κατά την ξήρανσή με εκνέφωση των συμπλόκων άμυλο ταπιόκας (5%)-μυριστικού οξέος

Δείγματα	Παροχή τροφοδοσίας (kg/s)	T <sub>εισόδου αέρα</sub> (°C)	T <sub>εξόδου αέρα</sub> (°C)	Σχετική υγρασία (%)	Υγρασία (%)
1	269×10 <sup>-5</sup>	175	115	60	2,65
2	269×10 <sup>-5</sup>	220	147	52	2,40
3	467×10 <sup>-5</sup>	215	115	50	5,36
4	467×10 <sup>-5</sup>	180	75	52	6,76

1, 2, 3, 4: επαναλήψεις δειγμάτων

Πίνακας 4.17 Παράμετροι λειτουργίας κατά την ξήρανσή με εκνέφωση των συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-παλμιτικού οξέος

Δείγματα	Παροχή τροφοδοσίας (kg/s)	T <sub>εισόδου αέρα</sub> (°C)	T <sub>εξόδου αέρα</sub> (°C)	Σχετική υγρασία (%)	Υγρασία (%)
1	677×10 <sup>-5</sup>	175	107	51	4,17
2	677×10 <sup>-5</sup>	225	140	52	1,55
3	677×10 <sup>-5</sup>	130	75	52	5,88
4	741×10 <sup>-5</sup>	175	73	55	7,95
5	741×10 <sup>-5</sup>	250	110	55	4,06
6	938×10 <sup>-5</sup>	250	95	55	7,30

1, 2, 3, 4, 5, 6: επαναλήψεις δειγμάτων

Πίνακας 4.18 Παράμετροι λειτουργίας κατά την ξήρανσή με εκνέφωση των συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος

Δείγματα	Παροχή τροφοδοσίας (kg/s)	T <sub>εισόδου αέρα</sub> (°C)	T <sub>εξόδου αέρα</sub> (°C)	Σχετική υγρασία (%)	Υγρασία (%)
1	680×10 <sup>-5</sup>	220	143	44	1,89
2	680×10 <sup>-5</sup>	165	107	46	1,64
3	749×10 <sup>-5</sup>	167	93	46	2,60
4	749×10 <sup>-5</sup>	210	115	43	2,05
5	889×10 <sup>-5</sup>	230	110	43	2,60
6	889×10 <sup>-5</sup>	165	72	46	4,90

1, 2, 3, 4, 5, 6: επαναλήψεις δειγμάτων

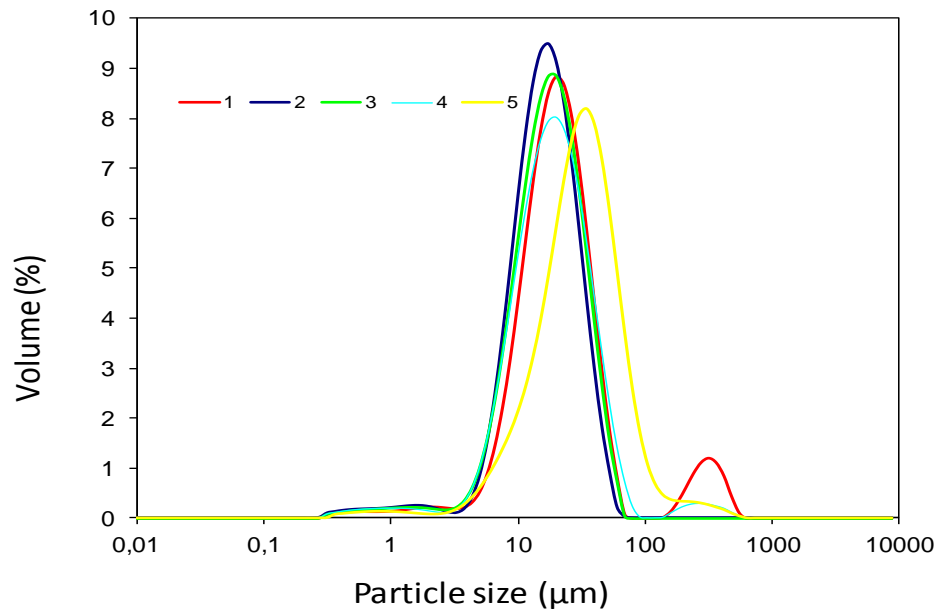
Πίνακας 4.19 Παράμετροι λειτουργίας κατά την ξήρανσή με εκνέφωση των συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (10%)-παλμιτικού οξέος

Δείγματα	Παροχή τροφοδοσίας (kg/s)	T <sub>εισόδου αέρα</sub>	T <sub>εξόδου αέρα</sub>	Σχετική υγρασία	Υγρασία (%)
1	288×10 <sup>-5</sup>	165	100	63	2,69
2	288×10 <sup>-5</sup>	122	70	62	2,57
3	288×10 <sup>-5</sup>	220	135	62	1,25
4	465×10 <sup>-5</sup>	215	108	58	1,92
5	465×10 <sup>-5</sup>	170	80	56	1,91
6	657×10 <sup>-5</sup>	160	53	56	11,60
7	657×10 <sup>-5</sup>	230	77	60	9,71

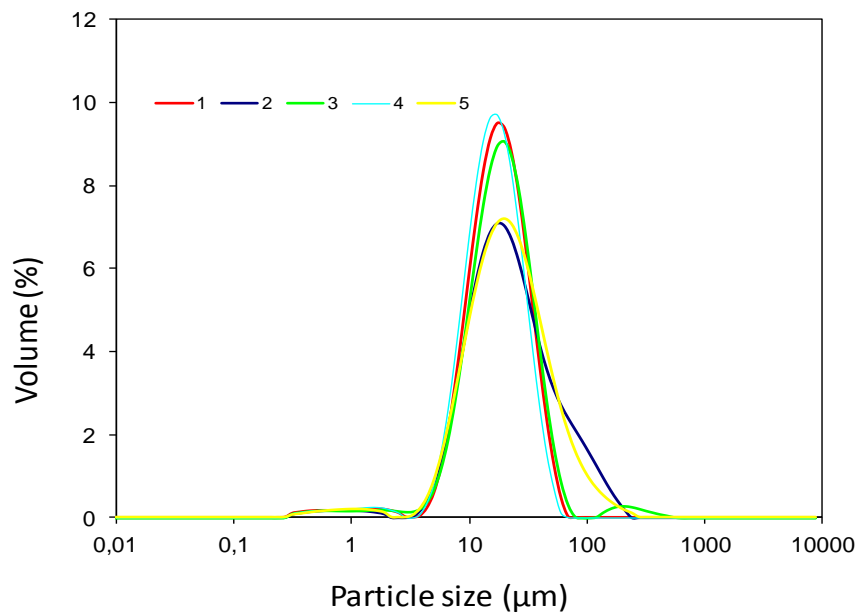
1, 2, 3, 4, 5, 6, 7: επαναλήψεις δειγμάτων

#### 4.14.3. Προσδιορισμός κατανομής μεγέθους σωματιδίων των αφυδατωμένων συμπλόκων αμύλων-λιπαρών οξέων

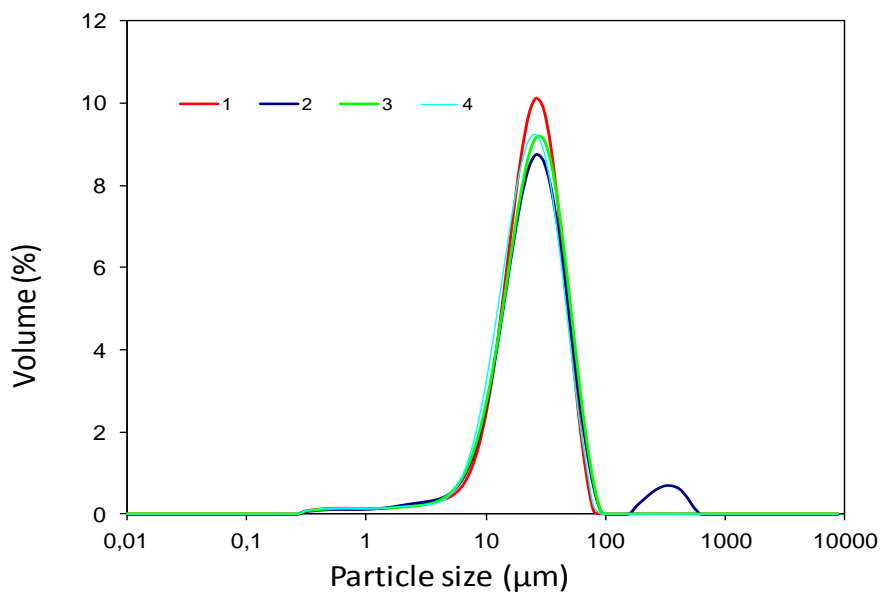
Η κατανομή μεγέθους σωματιδίων των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%) με μυριστικό και παλμιτικό οξύ, των συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%) με μυριστικό και παλμιτικό οξύ και των συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (5 ή 10%) με παλμιτικό οξύ παρουσιάζονται στα Σχήματα 4.143, 4.144, 4.145, 4.146, 4.147 & 4.148, αντίστοιχα. Στους Πίνακες 4.20, 4.21, 4.22, 4.23, 4.24 & 4.25, παρουσιάζονται οι κοκκομετρικές παράμετροι των αφυδατωμένων συμπλόκων όπου d (4,3) είναι η μέση διάμετρος του όγκου, και d (3,2) είναι η μέση διάμετρος του εμβαδού επιφανείας και d (0,1), d (0,5) και d (0,9) είναι η διάμετρος μεγαλύτερη ή ίση αυτής του 10%, 50% και 90% των σωματιδίων. Παρατηρώντας τους Πίνακες 4.20, 4.21, 4.22, 4.23, 4.24 & 4.25, διαπιστώνεται ότι η μέση διάμετρος d (4,3) των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού, του άμυλου ταπιόκας και του φυσικού αμύλου καλαμποκιού με τα λιπαρά οξέα κυμάνθηκε από 1 έως 100 μm. Όλα τα αφυδατωμένα σύμπλοκα εμφάνισαν κανονική καμπύλη κατανομής. Ωστόσο, η εμφάνιση περισσότερων της μιας καμπυλών κατανομής που παρατηρείται σε ορισμένα από τα δείγματα σχετίζεται με τα διαφορετικά ποσοστά υγρασίας των αφυδατωμένων συμπλόκων.



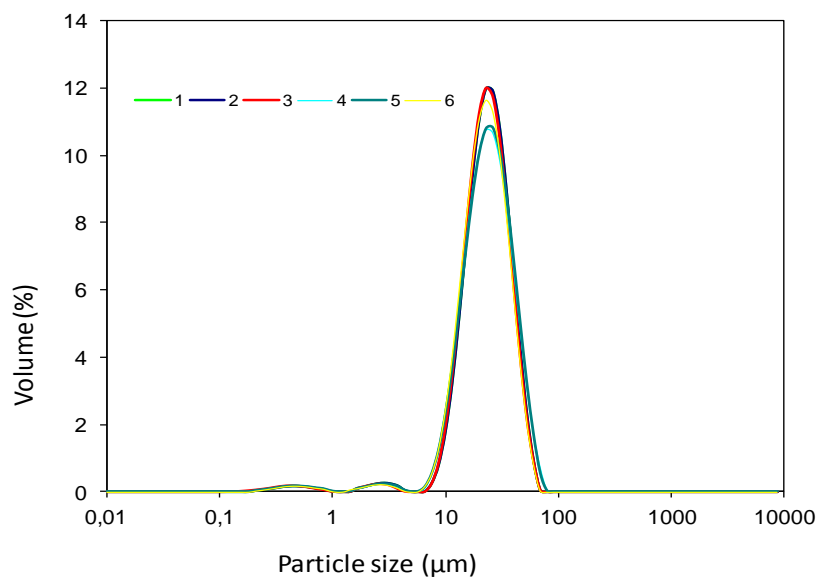
Σχήμα 4.143. Διάγραμμα κατανομής μεγέθους σωματιδίων συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-μυριστικού οξέος με διαφορετικό ποσοστό υγρασίας (Πίνακας 4.14).



Σχήμα 4.144 Διάγραμμα κατανομής μεγέθους σωματιδίων συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικό ποσοστό υγρασίας (Πίνακας 4.15).

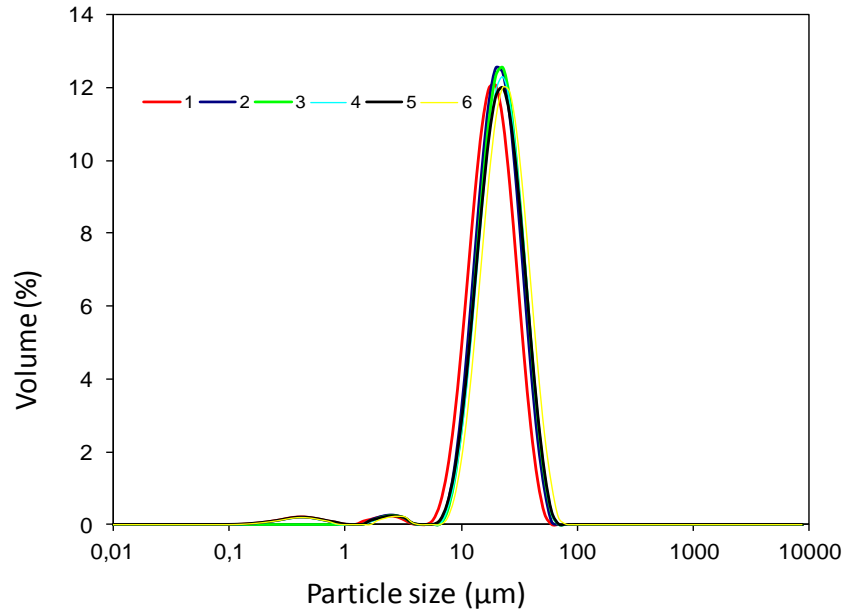


Σχήμα 4.145 Διάγραμμα κατανομής μεγέθους σωματιδίων συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-μυριστικού οξέος με διαφορετικό ποσοστό υγρασίας (Πίνακας 4.16).

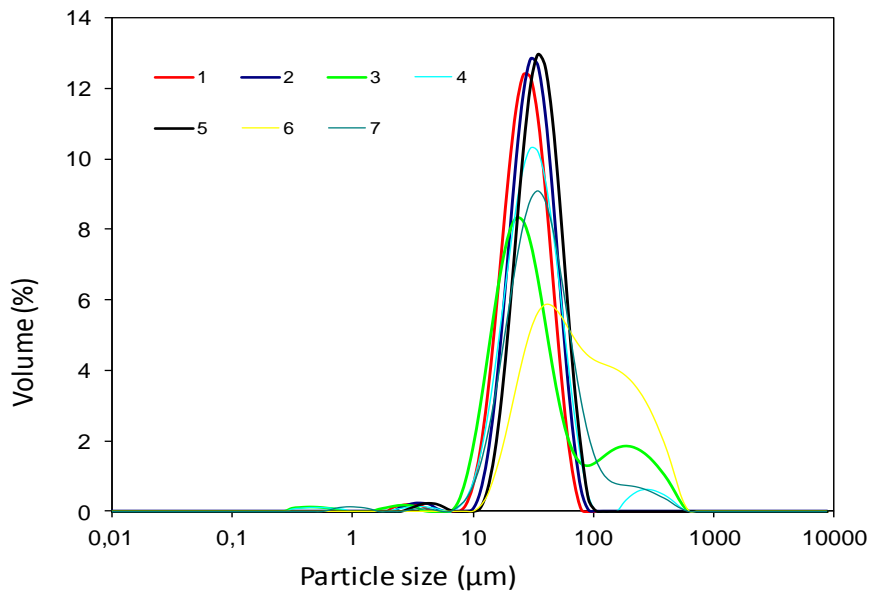


Σχήμα 4.146 Διάγραμμα κατανομής μεγέθους σωματιδίων συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικό ποσοστό υγρασίας (Πίνακας 4.17).





Σχήμα 4.147 Διάγραμμα κατανομής μεγέθους σωματιδίων συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικό ποσοστό υγρασίας (Πίνακας 4.18).



Σχήμα 4.148 Διάγραμμα κατανομής μεγέθους σωματιδίων συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (10%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικό ποσοστό υγρασίας (Πίνακας 4.19).

Πίνακας 4.20 Διάμετροι συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-μυριστικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.14)

	<b>d (4.3)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d (3.2)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.1)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.5)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.9)/<math>\mu\text{m}</math></b>
1	44,37	12,49	9,27	21,67	51,12
2	19,71	10,31	8,01	17,47	35,03
3	21,22	10,67	7,86	18,70	38,65
4	28,71	11,21	8,01	19,87	45,82
5	25,43	10,45	7,97	20,29	42,44

1, 2, 3, 4, 5: επαναλήψεις δειγμάτων

Πίνακας 4.21 Διάμετροι συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.15)

	<b>d (4.3)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d (3.2)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.1)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.5)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.9)/<math>\mu\text{m}</math></b>
1	21,020	10,97	8,71	18,65	37,20
2	33,44	12,40	8,67	22,05	74,69
3	26,72	11,19	8,69	19,87	41,86
4	19,23	10,10	8,07	17,11	33,82
5	30,80	12,57	8,58	22,07	61,89

1, 2, 3, 4, 5: επαναλήψεις δειγμάτων

Πίνακας 4.22 Διάμετροι συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-μυριστικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.16)

	<b>d (4.3)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d (3.2)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.1)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.5)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.9)/<math>\mu\text{m}</math></b>
1	28,37	14,05	11,41	26,19	48,65
2	43,19	14,36	10,62	27,01	59,34
3	29,79	14,38	10,81	26,89	53,34
4	27,52	13,39	10,34	24,79	49,10

1, 2, 3, 4: επαναλήψεις δειγμάτων

Πίνακας 4.23 Διάμετροι συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.17)

	<b>d(4.3)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(3.2)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.1)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.5)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.9)/<math>\mu\text{m}</math></b>
1	28,37	14,05	11,41	26,19	48,96
2	26,92	13,01	13,68	25,20	43,36
3	26,48	11,39	13,45	24,71	42,80
4	27,62	12,79	12,91	25,19	46,45
5	27,76	13,09	12,96	25,45	46,39
6	25,92	12,35	12,73	24,11	42,38

1, 2, 3, 4, 5, 6: επαναλήψεις δειγμάτων

Πίνακας 4.24 Διάμετροι συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.18)

	<b>d (4.3)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d (3.2)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.1)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.5)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.9)/<math>\mu\text{m}</math></b>
1	20,97	9,52	10,70	19,59	33,81
2	23,87	18,84	12,74	22,20	37,70
3	24,96	19,74	13,30	23,19	39,45
4	24,93	10,82	12,87	23,37	39,94
5	24,56	10,64	12,46	22,93	39,69
6	27,16	11,46	13,86	25,26	43,82

1, 2, 3, 4, 5, 6: επαναλήψεις δειγμάτων

Πίνακας 4.25 Διάμετροι συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (10%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.19)

	<b>d (4.3)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d (3.2)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.1)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.5)/<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>d(0.9)/<math>\mu\text{m}</math></b>
1	31,42	25,07	16,59	29,23	49,69
2	35,65	28,73	19,35	33,32	55,67
3	68,83	18,60	14,30	30,69	199,69
4	47,30	19,53	16,76	33,54	66,27
5	40,18	32,54	21,90	37,61	62,06
6	120,36	57,49	26,80	74,54	288,27
7	55,51	27,06	18,08	38,50	95,19

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7: επαναλήψεις δειγμάτων

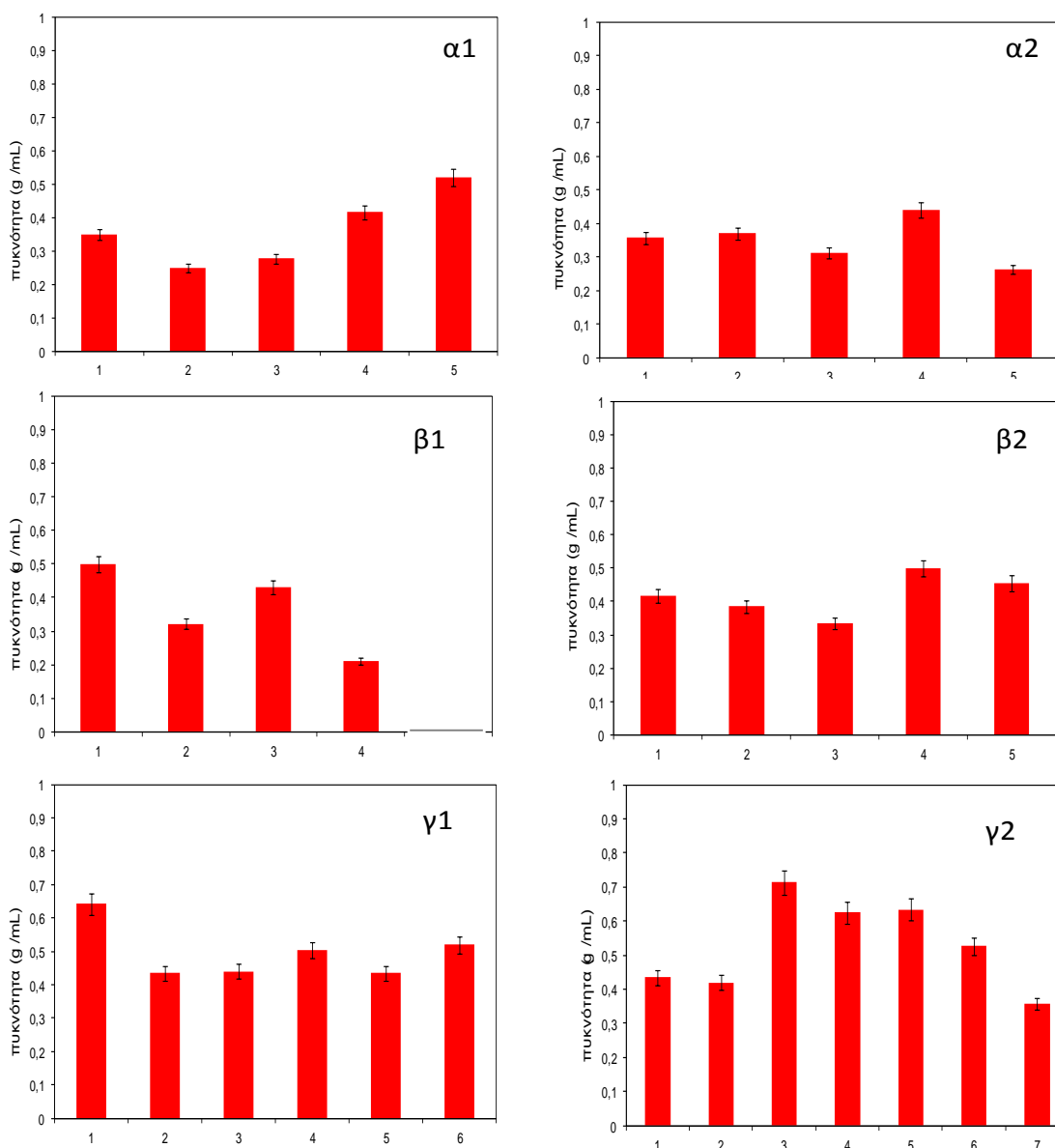
Παρατηρώντας τους Πίνακες 4.20, 4.21, 4.22, 4.23, 4.24 & 4.25, με τις παραμέτρους που μετρήθηκαν κατά τη διεργασία της ξήρανσής, η κατανομή μεγέθους σωματιδίων αυξήθηκε καθώς η θερμοκρασία εισόδου του αέρα και η παροχή τροφοδοσίας αυξήθηκε. Με βάση τα αποτελέσματα διαπιστώνεται ότι υψηλοί ρυθμοί εξάτμισης οδηγούν στην παραγωγή συμπλόκων με μεγαλύτερη διάμετρο, γεγονός που πιθανότατα σχετίζεται με τη μεγάλη θερμοκρασιακή διαφορά μεταξύ του υλικού τροφοδοσίας και του αέρα, με αποτέλεσμα τη δημιουργία συμπλόκων με πορώδη (ανοικτή) δομή.

Επιπλέον, τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του αμύλου, το μέγεθος των σωματιδίων των αφυδατωμένων συμπλόκων αυξήθηκε. Οι Rizkalla et al. (2008) ανέφεραν ότι η αύξηση της συγκέντρωσης υγρών και στερεών οδηγεί σε αύξηση του μεγέθους των σωματιδίων γεγονός που πιθανότατα σχετίζεται με τους υψηλά επίπεδα υγρασίας των συμπλόκων. Επομένως, με βάση τα παραπάνω, συμπεραίνεται ότι η διεργασία της ξήρανσής με εκνέφωση οδηγεί στη δημιουργία μικροσωματιδίων και ο βασικός παράγοντας ο οποίος επηρεάζει το μέγεθος των σωματιδίων των αφυδατωμένων συμπλόκων είναι η υγρασία.

#### **4.14.4. Προσδιορισμός φαινομενικής πυκνότητας των αφυδατωμένων συμπλόκων αμύλων-λιπαρών οξέων**

Η φαινομενική πυκνότητα προσδιορίστηκε υπολογίζοντας το βάρος της σκόνης συμπλόκου προς το αντίστοιχο όγκο του. Συγκεκριμένα, 5g σκόνης συμπλόκου τοποθετήθηκαν σε ογκομετρικό κύλινδρο χωρητικότητας 25 ml και ύστερα από έντονη ανατάραξη καταγράφηκε ο όγκος που καταλάμβανε η σκόνη του συμπλόκου (Jinarong et al., 2008):

Οι τιμές φαινομενικής πυκνότητας για την περίπτωση των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου με μυριστικό και με παλμιτικό οξύ κυμάνθηκαν μεταξύ των 0,25-0,5 g/ml, ενώ στην περίπτωση των συμπλόκων αμύλου ταπιόκας με μυριστικό και με παλμιτικό οξύ κυμάνθηκαν μεταξύ 0,21-0,52 g/ml. Επίσης, στην περίπτωση των συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού 5 και 10% με παλμιτικό οξύ οι τιμές φαινομενικής πυκνότητας κυμάνθηκαν μεταξύ 0,4-0,7 g/ml. Οι διαφορετικές τιμές που παρουσιάζονται μεταξύ των δειγμάτων πιθανότατα σχετίζονται με τα διαφορετικά ποσοστά υγρασίας των συμπλόκων. Όσο μεγαλύτερη είναι η υγρασία του συμπλόκου, τόσο τα μόρια του τείνουν να «κολλάνε» μεταξύ τους αφήνοντας περισσότερους ενδιάμεσους χώρους και περισσότερα διάκενα ανάμεσά τους, με αποτέλεσμα να καταλαμβάνουν μεγαλύτερο όγκο (Goula & Adamopoulos, 2005).

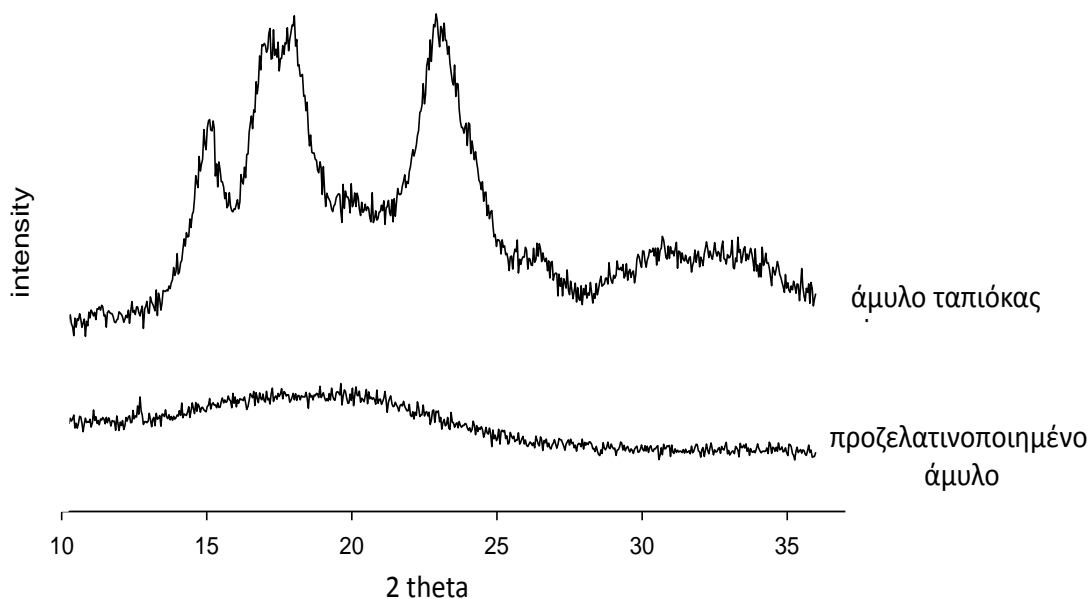


Σχήμα 4.149 Φαινομενική πυκνότητα συμπλόκων προζελατοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%) με μυριστικό (α1) και με παλμιτικό οξύ (α2), των συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%) με μυριστικό (β1) και με παλμιτικό οξύ (β2) και των συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού 5% (γ1) και 10% (γ2) με παλμιτικό οξύ. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7: επαναλήψεις δειγμάτων (Πίνακες 4.14, 4.15, 4.16, 4.17, 4.18, 4.19)

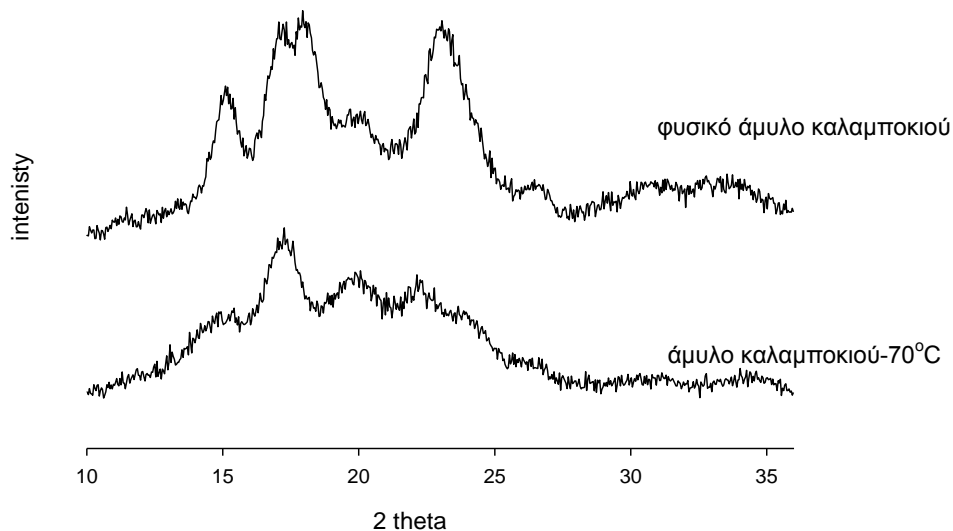
#### 4.14.5. Δομικός χαρακτηρισμός των αφυδατωμένων συμπλόκων αμύλων-λιπαρών οξέων με τη τεχνική της περίθλασης ακτίνων X (XRD)

Στο Σχήμα 4.150 παρουσιάζεται το φάσμα περίθλασης ακτίνων X του προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού και του αμύλου ταπιόκας ενώ στο Σχήμα 4.150 παρουσιάζεται το φάσμα

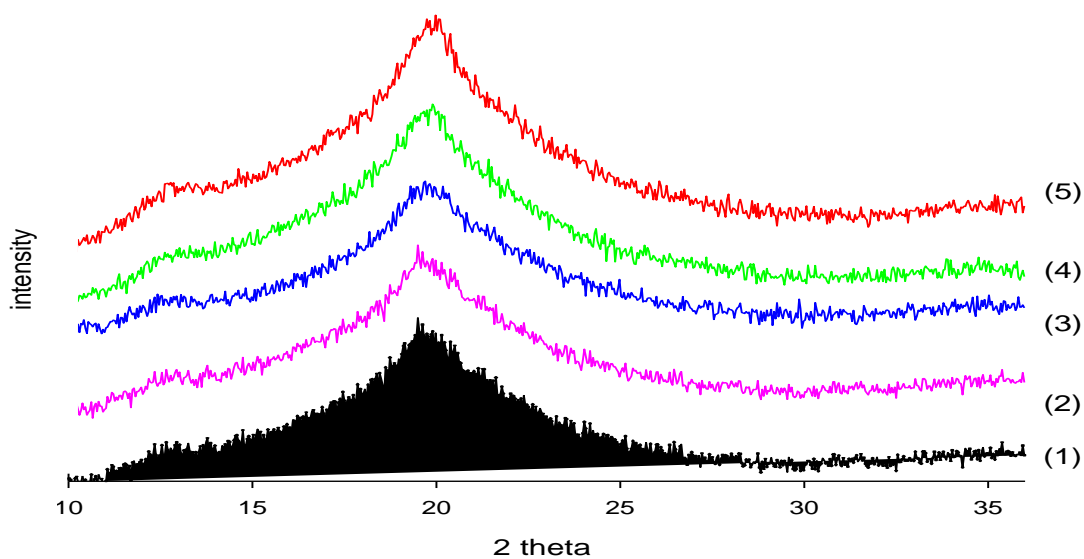
περίθλασης ακτίνων X του φυσικού αμύλου καλαμποκιού και του αμύλου καλαμποκιού που έχει θερμανθεί στους 70°C για 20 min. Στα Σχήματα 4.151, 4.152, 4.153, 4.154, 4.155 & 4.156 παρουσιάζεται το φάσμα περίθλασης ακτίνων X των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου (5%)-λιπαρών οξέων (μυριστικού και παλμιτικού οξέος), των συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-λιπαρών οξέων (μυριστικού και παλμιτικού οξέος), των συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (5%)-μυριστικού οξέος και των συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (10%)-παλμιτικού οξέος σε συνάρτηση με την περιεκτικότητά των συμπλόκων σε υγρασία (Πίνακες 4.14, 4.15, 4.16, 4.17, 4.18 & 4.19).



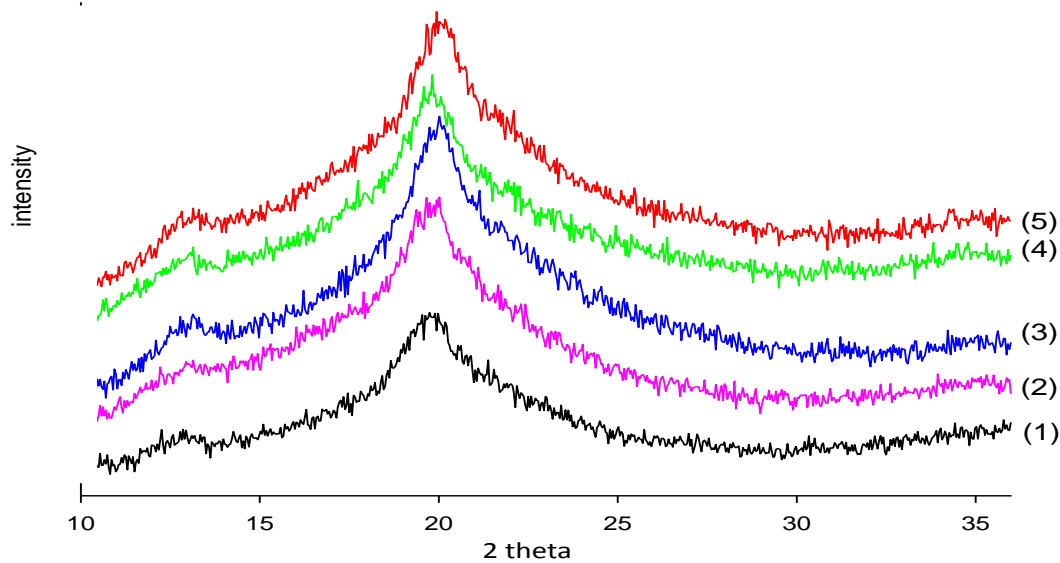
Σχήμα 4.150 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X φυσικού αμύλου ταπιόκας και προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού.



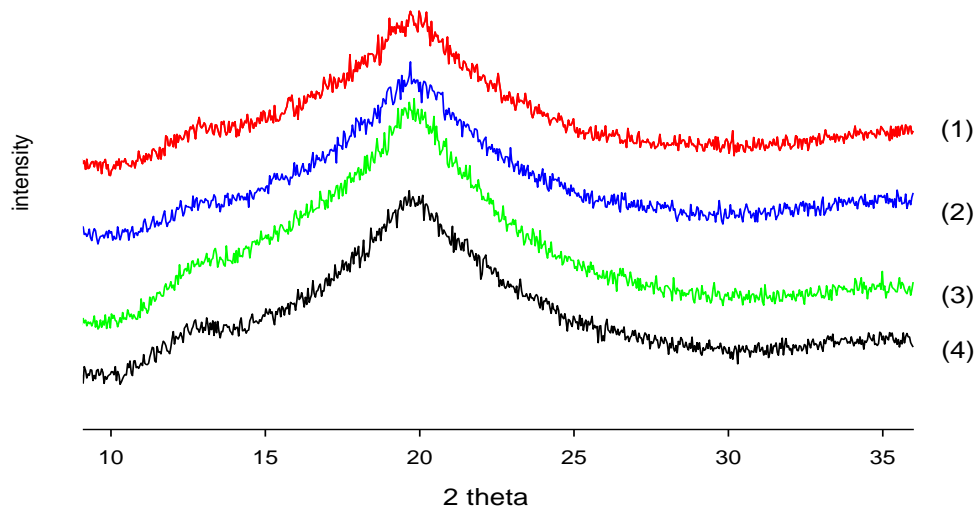
Σχήμα 4.151 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X φυσικού αμύλου καλαμποκιού και αμύλου καλαμποκιού μετά από θέρμανση στους 70°C για 20 min.



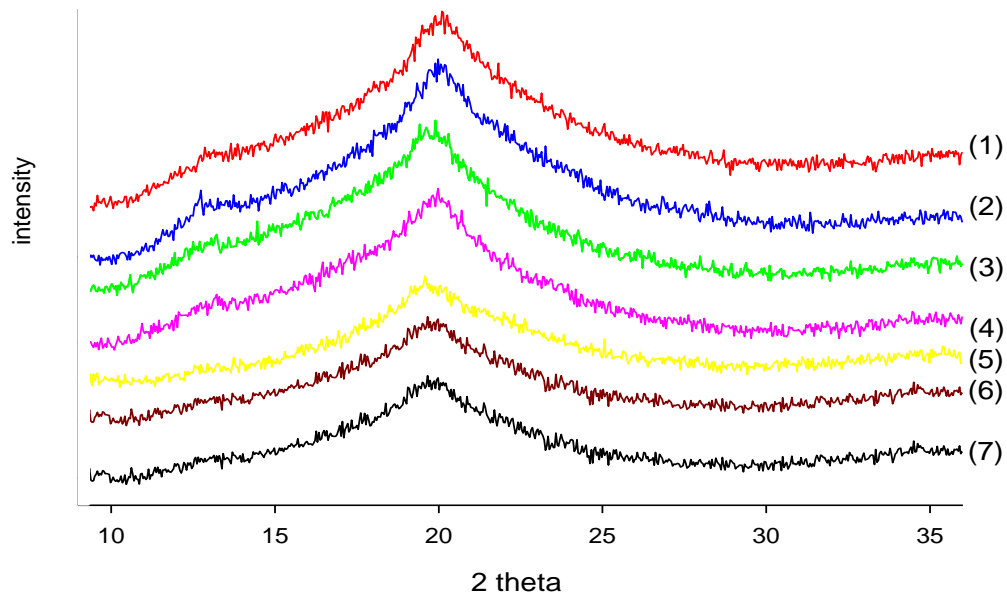
Σχήμα 4.152 Φάσματα περίθλασης ακτίνων συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-μυριστικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.14). 1, 2, 3, 4, 5: επαναλήψεις δειγμάτων.



Σχήμα 4.153 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.15). 1, 2, 3, 4, 5: επαναλήψεις δειγμάτων.

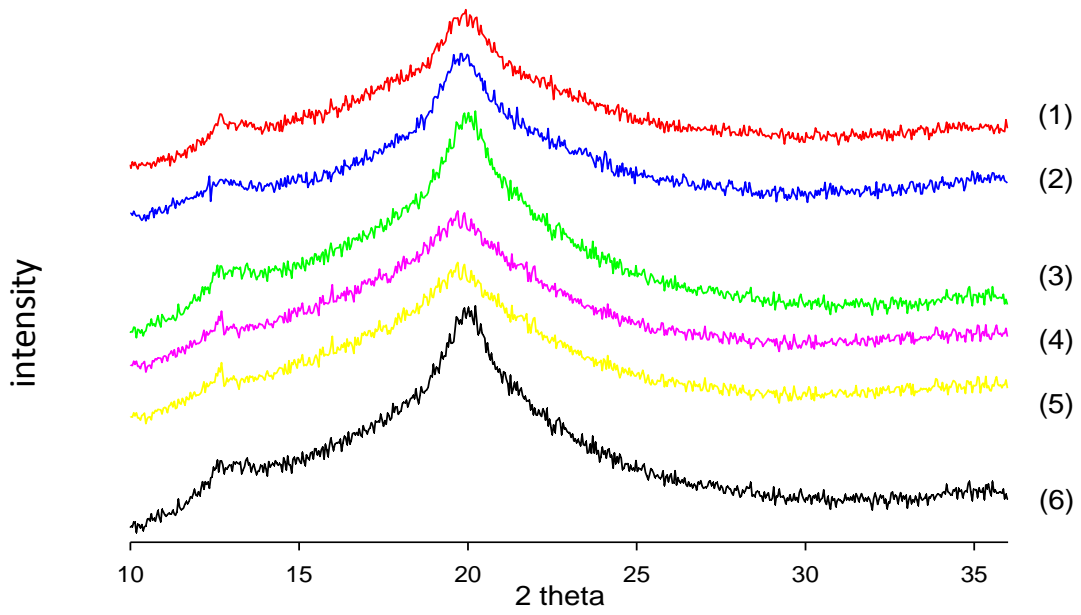


Σχήμα 4.154 Φάσματα περίθλασης ακτίνων συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-μυριστικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.16). 1, 2, 3, 4: επαναλήψεις δειγμάτων

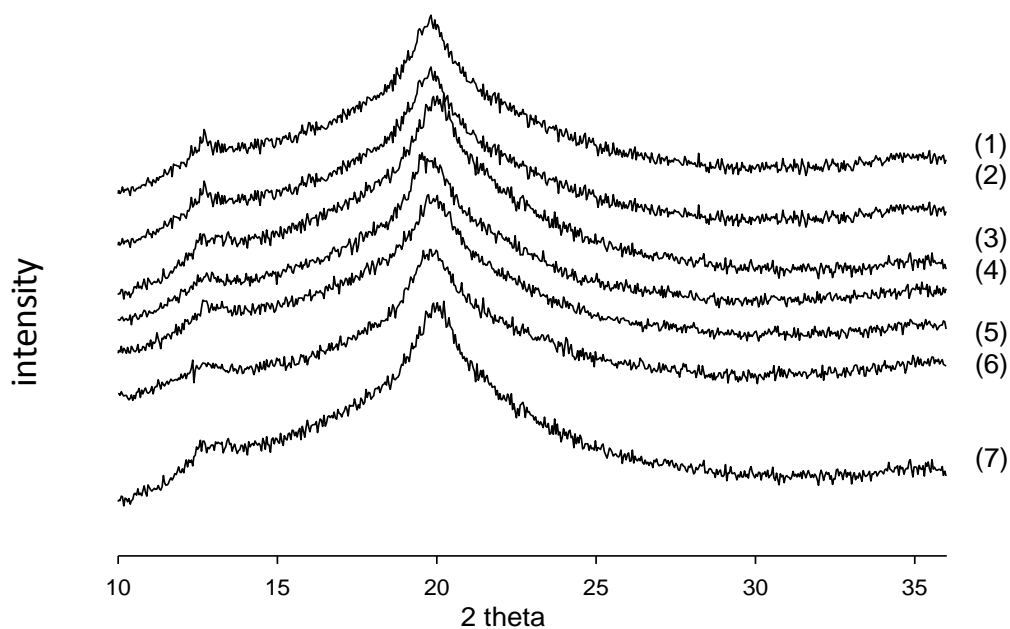


Σχήμα 4.155 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.17). 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7: επαναλήψεις δειγμάτων





Σχήμα 4.156 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων φυσικού αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.18). 1, 2, 3, 4, 5: επαναλήψεις δειγμάτων



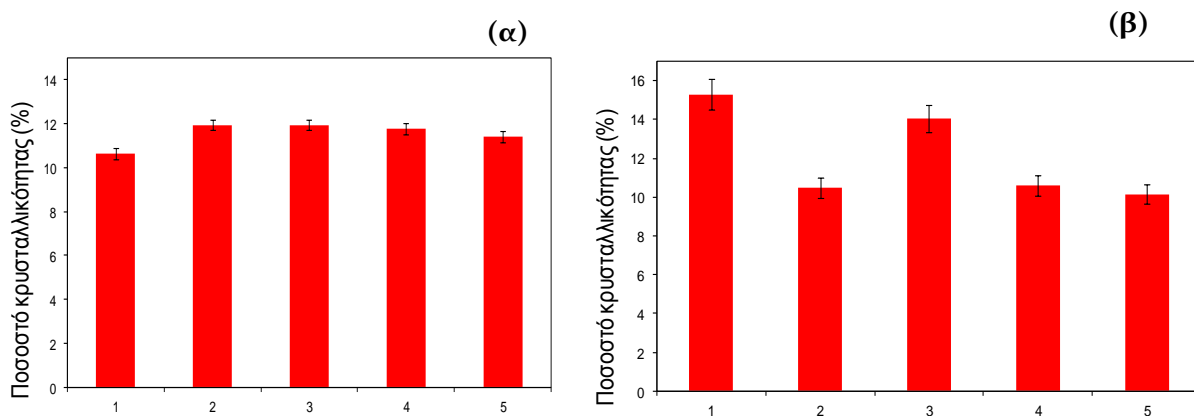
Σχήμα 4.157 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων φυσικού αμύλου καλαμποκιού (10%)-παλμιτικού οξέος με διαφορετικά ποσοστά υγρασίας (Πίνακας 4.16). 1, 2, 3, 4, 5: επαναλήψεις δειγμάτων

Παρατηρώντας τα φάσματα, διαπιστώνεται ότι όλα τα σύμπλοκα εμφάνισαν την χαρακτηριστική κορυφή που αντιστοιχεί στις τιμές  $2\theta=13,1^\circ$  και  $19,8^\circ$  και επιβεβαίωσαν τον επιτυχή σχηματισμό ημικρυσταλλικών συμπλόκων.

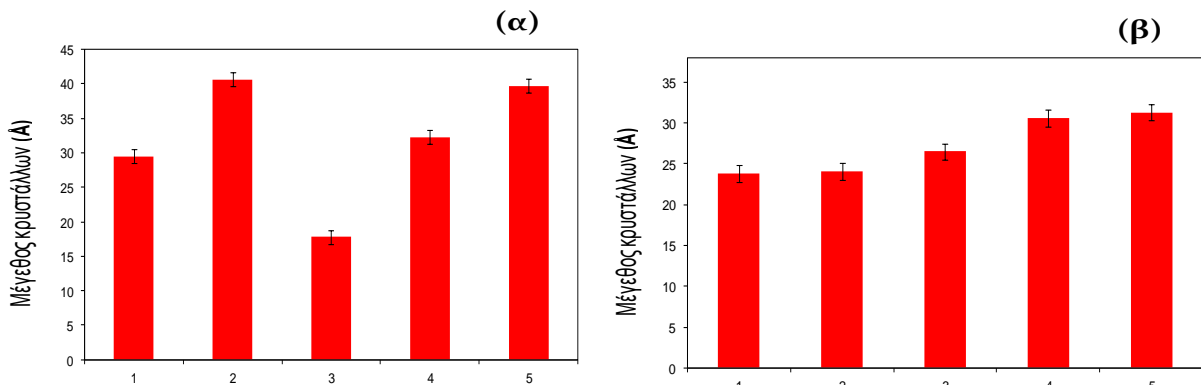
Στα Σχήματα 4.158 & 4.159 απεικονίζονται ο βαθμός κρυσταλλικότητάς (%) και το μέγεθος των κρυστάλλων των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου (5%) με παλμιτικό και με μυριστικό οξύ ενώ στα Σχήματα 4.160 & 4.161 παρουσιάζονται ο βαθμός κρυσταλλικότητάς (%) και το μέγεθος των κρυστάλλων των συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%) με μυριστικό και με παλμιτικό οξύ. Αντίστοιχα, στα Σχήματα 4.162 & 4.163 παρουσιάζεται ο βαθμός κρυσταλλικότητάς και το μέγεθος των κρυστάλλων των συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (5 & 10%) με παλμιτικό οξύ. Όπως αποδεικνύεται από τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X των συμπλόκων αμύλων με τα λιπαρά οξέα οι τιμές των παραμέτρων ξήρανσής με εκνέφωση που εφαρμόστηκαν επηρέασαν τα δομικά χαρακτηριστικά των συμπλόκων. Ως γνωστό (Mosen et al., 2004), η τεχνική της ξήρανσής με εκνέφωση χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή άμορφων υλικών. Ανάλογα, στη παρούσα εργασία παρατηρώντας το βαθμό κρυσταλλικότητάς των αφυδατωμένων συμπλόκων διαπιστώνεται

ότι αυξάνοντας τη θερμοκρασία εισόδου και τη παροχή τροφοδοσίας, μειώθηκε ο βαθμός κρυσταλλικότητας των συμπλόκων.

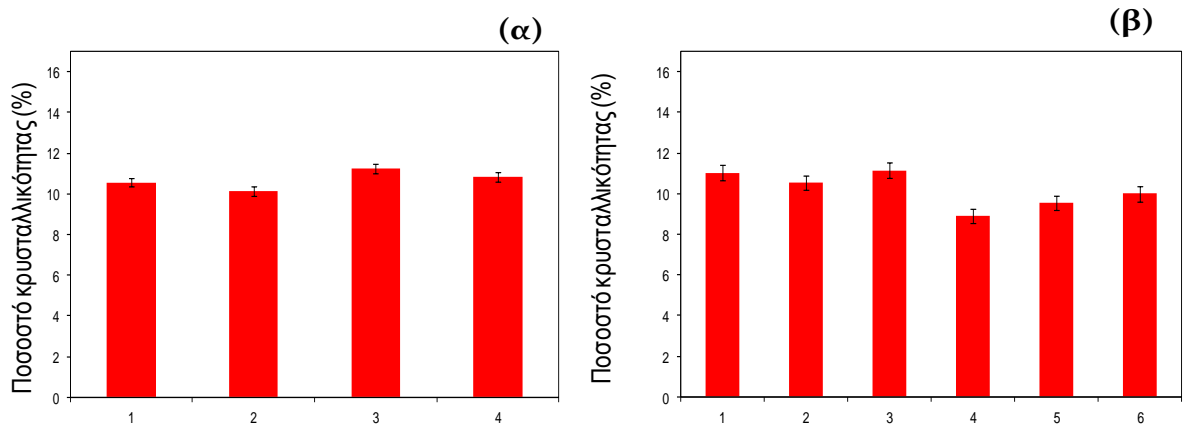
Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση της διαδικασίας της ξήρανσής στη δομή των συμπλόκων αμυλόζης, τα σύμπλοκα πριν να ξηρανθούν συλλέχθηκαν από τη δεξαμενή τροφοδοσίας και έπειτα φυγοκεντρήθηκαν στις 4500 g x 30min. Κατόπιν, τα δείγματα αφέθηκαν να ξηρανθούν σε θερμοκρασία δωματίου υπό τη επίδραση συνεχούς ρεύματος αέρα. Παρατηρώντας τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X των συμπλόκων (Σχήματα 4.164, 4.165 & 4.166) διαπιστώνεται η ύπαρξη της χαρακτηριστικής κορυφής που αντιστοιχεί στην τιμή  $2\theta=19,7^\circ$ . Ωστόσο ο βαθμός κρυσταλλικότητας και το μέγεθος των αφυδατωμένων συμπλόκων ήταν χαμηλότερος σε σύγκριση με το βαθμό κρυσταλλικότητας των συμπλόκων που αφέθηκαν να ξεραθούν σε θερμοκρασία δωματίου υπό τη διέλευση συνεχούς ρεύματος αέρα. Συγκεκριμένα, ο βαθμός κρυσταλλικότητας των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου (5%) με μυριστικό και παλμιτικό οξύ μετά τη ξήρανσή με εκνέφωση ήταν 13 και 12% αντίστοιχα ενώ πριν τη ξήρανσή με εκνέφωση ήταν και για τις δύο περιπτώσεις συμπλοκοποίησης ~27%. Παρόμοια, ο βαθμός κρυσταλλικότητας (%) των συμπλόκων αμύλου ταπιόκας με τα λιπαρά οξέα και φυσικού αμύλου καλαμποκιού και στις δύο συγκεντρώσεις (5, ή 10%) με παλμιτικό οξύ πριν τη ξήρανσή με ψεκασμό ήταν ~13, ~16 και ~17% αντίστοιχα, ενώ μετά τη ξήρανσή περίπου ήταν 10-12%. Προφανώς, κατά τη διάρκεια της ξήρανσής με εκνέφωση λόγω απότομης και ακαριαίας εξάτμισης απομακρύνονται περισσότερα μόρια νερού υπό μορφή ατμού από ότι με τη φυσική ξήρανσή, με αποτέλεσμα να μειώνεται η κινητικότητα των μορίων των συμπλόκων και να δημιουργούνται λιγότερα κρυσταλλικά σύμπλοκα. Αντίθετα κατά τη φυσική ξήρανσή των συμπλόκων, η κινητικότητα των συμπλόκων είναι μεγαλύτερη, λόγω της παρουσίας περισσότερων μορίων νερού, με αποτέλεσμα τη δημιουργία περισσότερων διατεταγμένων κρυσταλλικών δομών.



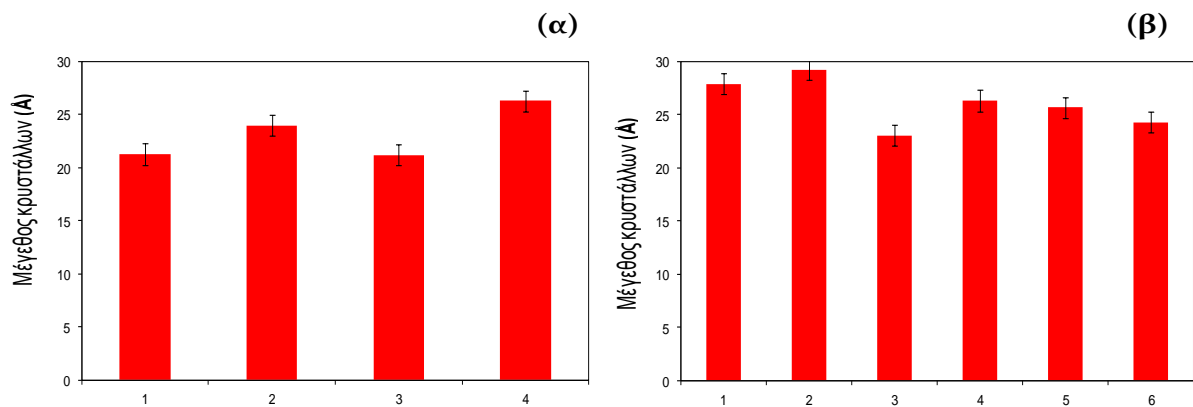
Σχήμα 4.158 Βαθμός κρυσταλλικότητας (%) των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%) με μυριστικό (α) και με παλμιτικό (β) οξύ. 1, 2, 3, 4, 5: επαναλήψεις δειγμάτων



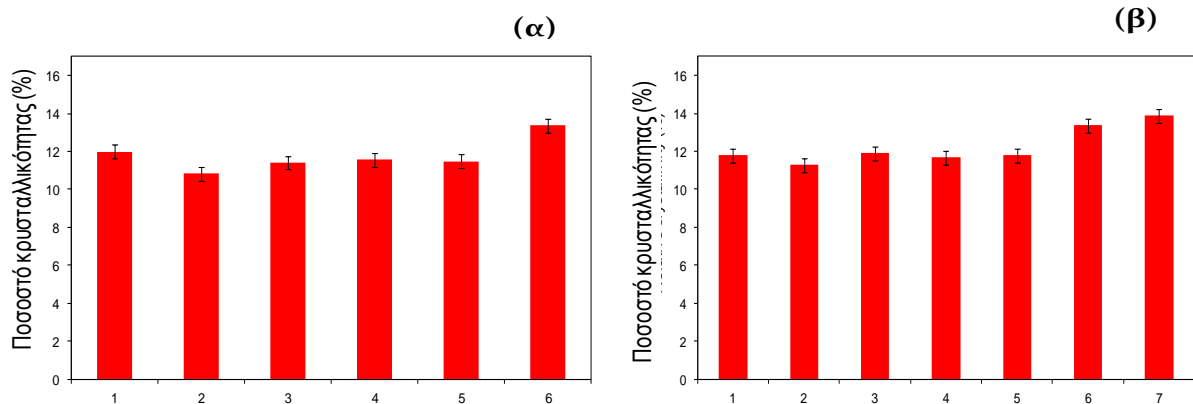
Σχήμα 4.159 Μέγεθος κρυστάλλων των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%) με μυριστικό οξύ (α) και με παλμιτικό οξύ (β). 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7: επαναλήψεις δειγμάτων



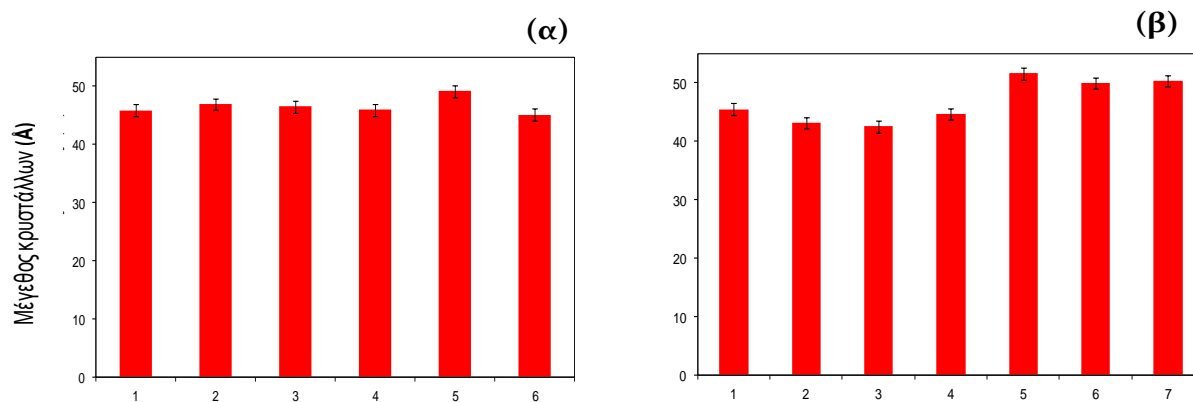
Σχήμα 4.160 Βαθμός κρυσταλλικότητας (%) των συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%) με μυριστικό (α) και με παλμιτικό (β) οξύ. 1, 2, 3, 4, 5, 6: επαναλήψεις δειγμάτων



Σχήμα 4.161 Μέγεθος κρυστάλλων των συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%) με μυριστικό οξύ (α) και με παλμιτικό οξύ (β). 1, 2, 3, 4, 5, 6: επαναλήψεις δειγμάτων

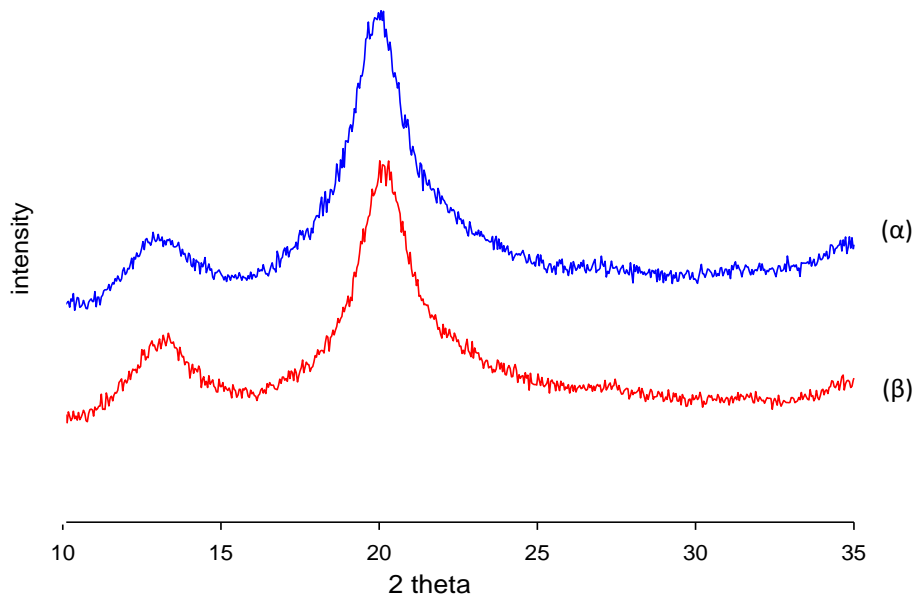


Σχήμα 4.162 Βαθμός κρυσταλλικότητας (%) των συμπλόκων φυσικού αμύλου καλαμποκιού (5%) με μυριστικό (α) και με παλμιτικό (β) οξύ. 1, 2, 3, 4, 5, 6: επαναλήψεις δειγμάτων

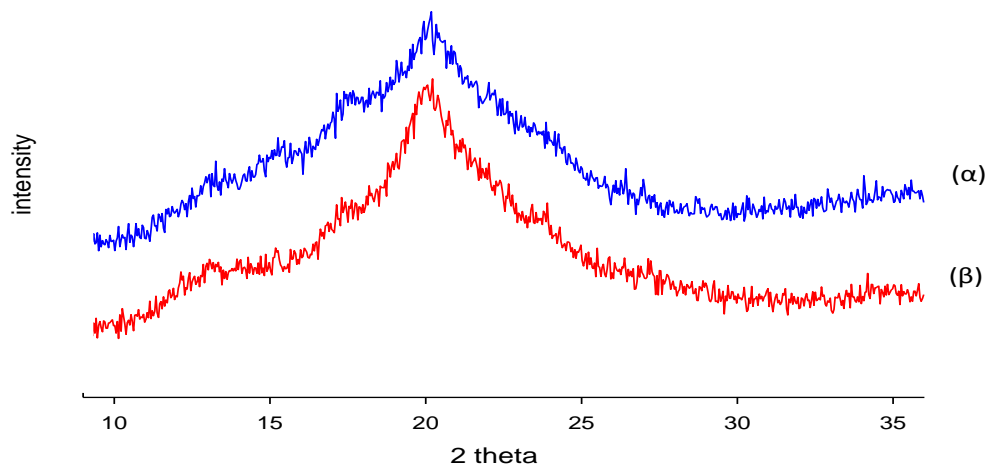


Σχήμα 4.163 Μέγεθος κρυστάλλων των συμπλόκων φυσικού αμύλου καλαμποκιού (10%) με μυριστικό οξύ (α) και με παλμιτικό οξύ (β). 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7: επαναλήψεις δειγμάτων

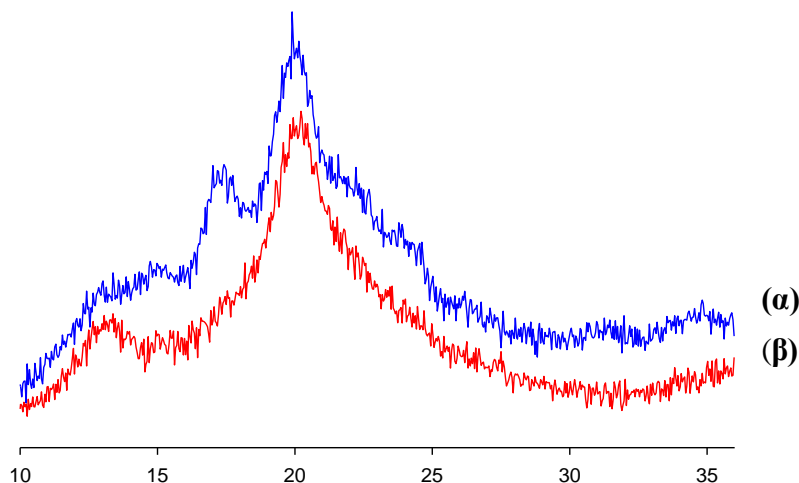
Αναφορικά με το μέγεθος των κρυστάλλων, η ξήρανσή με εκνέφωση οδηγεί στη παραγωγή συμπλόκων με μικρότερο μέγεθος γεγονός που πιθανότατα οφείλεται στο ότι λόγω υψηλής θερμοκρασίας που εφαρμόζεται κατά τη ξήρανσή με εκνέφωση, ο ρυθμός δημιουργίας των πυρήνων των κρυστάλλων αυξάνεται με αποτέλεσμα οι κρύσταλλοι που σχηματίζονται να εμφανίζουν μικρότερο μέγεθος σε αντίθεση με τη φυσική ξήρανσή με ρεύμα αέρα που λόγω της αργής κρυστάλλωσης δημιουργούνται πολύ μεγαλύτεροι κρύσταλλοι.



Σχήμα 4.164 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X (α) συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου (5%)-μυριστικού οξέος και (β) συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου (5%)-παλμιτικού οξέος πριν τη διεργασία της ξήρανσής με ψεκασμό.



Σχήμα 4.165 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X (α) συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-μυριστικού οξέος και (β) συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-παλμιτικού οξέος πριν τη διεργασία της ξήρανσής με ψεκασμό.



Σχήμα 4.166 Φάσματα περίθλασης ακτίνων X συμπλόκων (α) φυσικού αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος και (β) συμπλόκων φυσικού αμύλου καλαμποκιού (10%)-παλμιτικού οξέος πριν τη διεργασία της ξήρανσής με εκνέφωση

#### 4.14.6. Θερμικές ιδιότητες των αφυδατωμένων συμπλόκων αμύλων-λιπαρών οξέων με τη τεχνική της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC)

Στους πίνακες 4.26, 4.27 & 4.28 απεικονίζεται η θερμοκρασία διάσπασης και η ενθαλπία των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου (5%)-λιπαρών οξέων (μυριστικό & παλμιτικό οξύ), των συμπλόκων αμύλου ταπιόκας (5%)-λιπαρών οξέων (μυριστικό & παλμιτικό οξύ) και των συμπλόκων αμύλου καλαμποκιού (5%)-λιπαρών οξέων (μυριστικό & παλμιτικό οξύ) που παρασκευάστηκαν με την τεχνική της ξήρανσής με εκνέφωση.

Τα αποτελέσματα έδειξαν μία ευρεία ενδόθερμη κορυφή η οποία αποδίδεται στη θερμοκρασία διάσπασης των συμπλόκων (Karkalas et al., 1995; Biliaderis et al., 1985; Raphaelides & Karkalas, 1988; Biliaderis & Seneviratne, 1995; Tufvesson et al., 2003b). Παρατηρώντας του Πίνακες 4.27, 4.28, & 4.29 διαπιστώνεται ότι οι θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων αμυλόζης-λιπιδίων αυξάνουν με το μήκος της αλειφατικής αλυσίδας του λιπιδίου. Αυτό οφείλεται στο χαμηλότερο υδρόφιλο χαρακτήρα που παρουσιάζουν οι μακριές αλυσίδες των λιπαρών με αποτέλεσμα να ευνοείται περισσότερο ο εγκλεισμός του λιπιδίου μέσα στην υδρόφοβη κοιλότητα της έλικας. Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση της διεργασίας της ξήρανσής με εκνέφωσης στην κρυσταλλικότητά των συμπλόκων, δείγματα συμπλόκων πριν από την ξήρανσή μελετήθηκαν με διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (Πίνακας 4.30).

Πίνακας 4.26 Θερμοκρασία διάσπασης (°C) και ενθαλπία (J/g) των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-μυριστικού οξέος και των συμπλόκων προζελατινοποιημένου αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος μετά την ξήρανσή με εκνέφωση

<b>Σύμπλοκα προζελατινοποιημένου αμύλου-μυριστικού οξέος</b>	<b>Θερμοκρασία διάσπασης (°C)</b>	<b>Ενθαλπία (J/g)</b>
(1)	97,7 (±0,1)	1,7 (±0,2)
(2)	87,9(±0,3)	2,5(±0,1)
<b>Σύμπλοκα προζελατινοποιημένου αμύλου-παλμιτικού οξέος</b>	<b>Θερμοκρασία διάσπασης (°C)</b>	<b>Ενθαλπία (J/g)</b>
(1)	95,6 (±0,2)	2,1 (±0,1)

(1), (2): επαναλήψεις σύμπλοκων προζελατινοποιημένου αμύλου λιπαρών οξέων (μυριστικού και παλμιτικού οξέος) με τα αντίστοιχα ποσοστά υγρασίας όπως αναφέρονται στους Πίνακες 4.14 & 4.15

Πίνακας 4.27 Θερμοκρασία διάσπασης (°C) και ενθαλπία (J/g) συμπλόκου αμύλου ταπιόκας (5%)-μυριστικού οξέος και συμπλόκου αμύλου ταπιόκας (5%)-παλμιτικού οξέος μετά την ξήρανσή με εκνέφωση

<b>Σύμπλοκα αμύλου ταπιόκας-μυριστικού οξέος</b>	<b>Θερμοκρασία διάσπασης (°C)</b>	<b>Ενθαλπία (J/g)</b>
(1)	98,5(±0,2)	0,8(±0,3)
<b>Σύμπλοκα αμύλου ταπιόκας-παλμιτικού οξέος</b>	<b>Θερμοκρασία διάσπασης (°C)</b>	<b>Ενθαλπία (J/g)</b>
(1)	96,3(±0,1)	0,1(±0,2)

(1): επαναλήψη σύμπλοκων αμύλου-ταπιόκας λιπαρών οξέων (μυριστικού και παλμιτικού οξέος) με τα αντίστοιχα ποσοστά υγρασίας όπως αναφέρονται στους Πίνακες 4.16 & 4.17

Πίνακας 4.28 Θερμοκρασία διάσπασης (°C) και ενθαλπία (J/g) συμπλόκου φυσικού αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος μετά την ξήρανσή με εκνέφωση

<b>Σύμπλοκα αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος</b>	<b>Θερμοκρασία διάσπασης (°C)</b>	<b>Ενθαλπία (J/g)</b>
(1)	89.4 (±0,2)	0.8 (±0,1)

(1): επαναλήψεις σύμπλοκων αμύλου καλαμποκιού–παλμιτικού οξέος με τα αντίστοιχα ποσοστά υγρασίας όπως αναφέρονται στους Πίνακες 4.15 & 4.16



Πίνακας 4.29 Θερμοκρασία διάσπασης (°C) και ενθαλπία (J/g) συμπλόκων προζελατινοποιημένο αμύλου (5%) με μυριστικό και με παλμιτικό οξύ, αμύλου ταπιόκας (5%) με μυριστικό και με παλμιτικό οξύ και φυσικού αμύλου καλαμποκιού (5 ή 10%) με παλμιτικό οξύ πριν τη διεργασία της ξήρανσής με εκνέφωση.

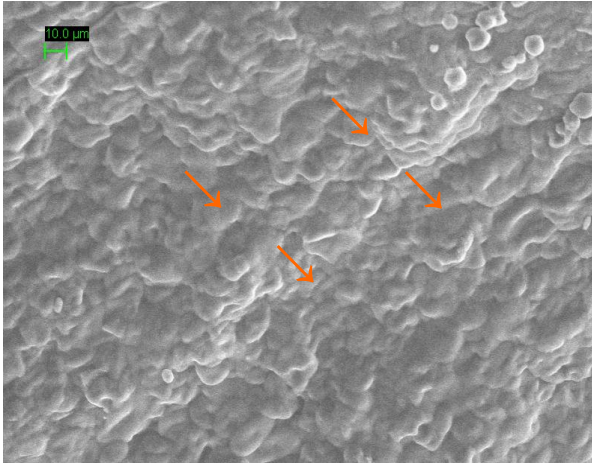
Σύμπλοκα	Θερμοκρασία διάσπασης (°C)	Ενθαλπία (J/g)
Προζελατινοποιημένου αμύλου-μυριστικού οξέος	101,2	11,8
Προζελατινοποιημένου αμύλου-παλμιτικού οξέος	(1 <sup>η</sup> ) 96,5	7,8
	(2 <sup>η</sup> ) 122,6	0,8
Αμύλου ταπιόκας-μυριστικού οξέος	(1 <sup>η</sup> ) 103,6	7,9
	(2 <sup>η</sup> ) 115	3,1
Αμύλου ταπιόκας-παλμιτικού οξέος	101,9	13,1
Φυσικού αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος	102,1	1,71
Φυσικού αμύλου καλαμποκιού (10%)-παλμιτικού οξέος	101,1	1,1

Τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι οι θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων πριν την ξήρανσή ήταν χαμηλότερες από ότι μετά την ξήρανση με εκνεφωση γεγονός που υποδηλώνει τον σχηματισμό περισσότερο κρυσταλλικών και θερμικά σταθερών συμπλόκων. Η διαφοροποίηση που παρατηρείται στις θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων πριν και μετά τη ξήρανσή προφανώς οφείλεται στο μικρότερο βαθμό κρυστάλλωσης μετά τη ξήρανσή με εκνέφωση σε σχέση με τη φυσική ξήρανσή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος σε ρεύμα αέρα που ακολουθήθηκε για τα δείγματα που δεν ξηράνθηκαν στο ξηραντήριο. Τα δεδομένα αυτά είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα που ελήφθησαν με την τεχνική της περίθλασης ακτίνων X.

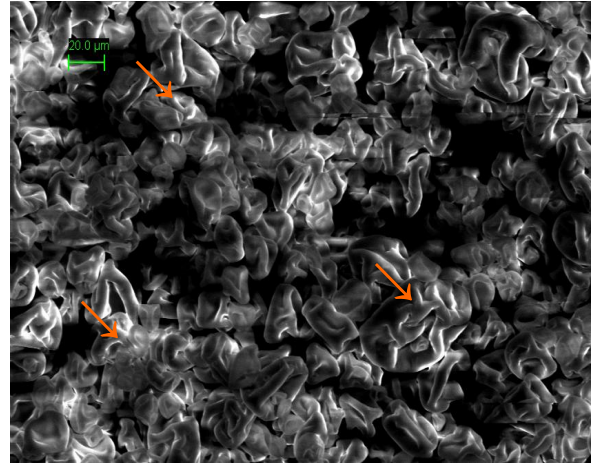
#### 4.14.7. Μικροσκοπική ανάλυση των αφυδατωμένων συμπλόκων φυσικού αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος

Στο Σχήμα 4.167 παρουσιάζονται οι μικροφωτογραφίες SEM συμπλόκου φυσικού αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος πριν και μετά τη διεργασία της ξήρανσής με εκνέφωση. Παρατηρώντας τις μικροφωτογραφίες των συμπλόκων πριν την ξηρανσή διαπιστώνεται ότι το

σύμπλοκο εμφανίζεται ως μια ενιαία μάζα ενώ μετά τη διεργασία της ξήρανσής με εκνέφωση διακρίνονται μεμονωμένοι αμυλόκοκκοι, ωστόσο στο σύνολο τους εμφανίζονται να είναι παραμορφωμένοι με την αμυλόζη να έχει διαχυθεί προς τα έξω και να έχει συμπλεχθεί με τα μόρια των λιπαρών οξέων που βρίσκονται στο γειτονικό περιβάλλον της. Ωστόσο παρατηρώντας τη μικροφωτογραφία SEM μετά τη ξήρανσή διαπιστώνεται ότι ορισμένοι αμυλόκοκκοι εμφανίζονται να διατηρούν το σχήμα τους.



Πριν την ξήρανση τους



Μετά την ξήρανση τους

Σχήμα 4.167 Σχήμα 4.167 Μικροφωτογραφίες SEM συμπλοκών φυσικού αμύλου καλαμποκιού (5%)-παλμιτικού οξέος πριν και μετά τη ξήρανσή με εκνέφωση

## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ– ΘΕΜΑΤΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

### 5.1. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Ημικρυσταλλικά σύμπλοκα μπορούν να σχηματισθούν και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και όχι απαραίτητα σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 60°C.
- Η παρατεταμένη διαλυτοποίησή του στεατικού οξέος έχει ως αποτέλεσμα το στεατικό οξύ να οργανώνεται σε άλλες μεσοφάσεις (π.χ. μικύλλια, διμερή) που προφανώς καθιστούν το λιπαρό οξύ μη διαθέσιμο να αντιδράσει με την αμυλόζη.
- Ο βαθμός κρυσταλλικότητάς και το μέγεθος των κρυστάλλων των συμπλόκων επηρεάζονται από τη θερμοκρασία παρασκευής τους όχι όμως από το μήκος αλυσίδας και το βαθμό ακορεστότητας του συμπλεγμένου λιπαρού οξέος.
- Όσο αυξάνεται η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων τόσο αυξάνεται ο βαθμός κρυσταλλικότητάς τους.
- Ο βαθμός κρυσταλλικότητάς των συμπλόκων pregel επηρεάζεται τόσο από την παρουσία της αμυλοπηκτίνης όσο και από τη περιεκτικότητά της στο σύστημα του αμύλου.
- Το μέγεθος των κρυστάλλων των συμπλόκων μειώνεται όσο αυξάνεται η θερμοκρασία παρασκευής των συμπλόκων.
- Το μέγεθος των κρυστάλλων στα σύμπλοκα του pregel είναι μεγαλύτερο σε σύγκριση με εκείνο των συμπλόκων της αμυλόζης γεγονός που πιθανώς να οφείλεται στη παρουσία της αμυλοπηκτίνης.
- Η παρουσία της αμυλοπηκτίνης φαίνεται να παρεμποδίζει τη δημιουργία των κρυστάλλων, για παράδειγμα, στις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης με τα άμυλα (pregel και Hylon VII) διαπιστώνεται ότι όσο αυξάνεται η περιεκτικότητά της αμυλοπηκτίνης τόσο μειώνεται η κρυσταλλικότητά.
- Η ενδόθερμη κορυφή διάσπασης των συμπλόκων είναι ευρεία που υποδηλώνει την ύπαρξη ενός συστήματος που αποτελείται είτε από έλικες αμυλόζης που είναι τυχαία προσανατολισμένες στο χώρο (άμορφη δομή) είτε έλικες αμυλόζης που είναι διευθετημένες στο χώρο και σχηματίζουν διατεταγμένες δομές (αναδιπλωμένες λαμέλλες -folded lamellae), δηλ. κρυσταλλίτες, είτε τέλος έλικες αμυλόζης όπου ένα τμήμα τους είναι τυχαία

διευθετημένο στο χώρο και το άλλο συμμετέχει στη δομή ενός κρυσταλλίτη (fringed micelles).

- Οι θερμοκρασίες διάσπασης των συμπλόκων αυξήθηκαν με αύξηση του μήκους της ανθρακικής αλυσίδας των λιπαρών οξέων και με αύξηση της θερμοκρασίας παρασκευής τους και μειώθηκαν με βάση το βαθμό ακορεστότητας των λιπαρών οξέων
- Οι ενθαλπίες διάσπασης των συμπλόκων είναι παρόμοιες με μικρές διαφορές μεταξύ τους.
- Η θερμοκρασία διάσπασης και η ενθαλπία των συμπλόκων οφείλονται στη δομή των συμπλόκων.
- Η κατεργασία των συμπλόκων με διάλυμα αιθανόλης/νερού (50/50) δεν θεωρείται αποτελεσματική για την απομάκρυνση της περίσσειας των ελεύθερων λιπαρών οξέων και απαιτείται επιπλέον κατεργασία με διαλύτες, όπως ο διαιθυλαιθέρας και η μεθανόλη.
- Η παρουσία αυτών των εξώθερμων κορυφών επιβεβαίωσε τον επανασηματισμό των συμπλόκων και την επανακρυστάλλωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων.
- Η ενθαλπία διάσπασης των συμπλόκων κατά την ψύξη εμφανίζεται να είναι κατά πολύ μικρότερη από την ενθαλπία κατά τη θέρμανση.
- Η μελέτη συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα με την τεχνική της φασματοσκοπίας υπέρυθρου (FTIR) επιβεβαίωσε τον επιτυχή σχηματισμό των συμπλόκων.
- Η συνεστιακή μικροσκοπία με ακτίνες laser (CLSM) έδειξε μια ομοιογενή κατανομή των λιπαρών οξέων σε όλο το matrix της αμυλόζης που αποτελεί ένδειξη επιτυχούς συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα
- Η SEM έδειξε ότι σε όλες τις περιπτώσεις συμπλοκοποίησης της αμυλόζης με τα λιπαρά οξέα η μορφολογία της επιφάνειας των συμπλόκων παρουσίαζε διατεταγμένη δομή με τη εμφάνιση ραβδώσεων και σφαιρικών εξάρσεων που πιθανότατα σχετίζεται με την αυξημένη κρυσταλλικότητά τους.
- Η μορφολογία των συμπλόκων ήταν ανεξάρτητη της πρώτης ύλης που χρησιμοποιήθηκε για τη συμπλοκοποίηση, του μήκους αλυσίδας και του βαθμού ακορεστότητας των λιπαρών οξέων καθώς και της θερμοκρασίας παρασκευής των συμπλόκων.
- Ο εγκλεισμός των λιπιδίων στην έλικα της αμυλόζης τα προστάτευσε αποτελεσματικά έναντι της οξειδωσης σε συνθήκες θέρμανσης.
- Για τη ποσοτική παραλαβή συμπλεγμένου λιπαρού οξέος απαιτείται πλήρης ενζυμική υδρόλυση των συμπλόκων με την επιλογή των κατάλληλων ενζύμων και με μεθόδους, όπως είναι η εκχύλιση με υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub>.

- Η ηλεκτροφορητική κινητικότητα της αμυλόζης και των συμπλόκων σχετίζονται με τη διαμόρφωση των μορίων στο χώρο.
- Η παρουσία της αμυλοπηκτικής επηρέασε την τιμή της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας του pregel και των συμπλόκων.
- Η αύξηση της επιφανειακής τάσης των συμπλόκων υποδηλώνει ότι τα λιπαρά οξέα εγκλείονται στο εσωτερικό της έλικας της αμυλόζης με αποτέλεσμα να μην είναι διαθέσιμα για προσρόφιση στη διεπιφάνεια υγρού/αέρα.
- Σε ένα διάλυμα συμπλόκων αμυλόζης-λιπαρών οξέων υπάρχει πάντα μία περίσσεια λιπαρών οξέων ακόμα και σε περιπτώσεις, όπου η έλικα της αμυλόζης δεν είναι πλήρως κορεσμένη με τα λιπαρά οξέα με αποτέλεσμα να δημιουργείται μια δυναμική ισορροπία μεταξύ των ελεύθερων λιπαρών οξέων και των συμπλεγμένων λιπαρών οξέων.
- Δεν υπάρχει διασύνδεση των συμπλόκων με την πρωτεΐνη σε ένα σύστημα αμύλου-λιπιδίου-πρωτεΐνης
- Η διεργασία της ξήρανσής με εκνέφωση οδηγεί στη δημιουργία μικροσωματιδίων και ο βασικός παράγοντας ο οποίος επηρεάζει το μέγεθος των σωματιδίων των αφυδατωμένων συμπλόκων είναι η υγρασία.
- Ο βαθμός κρυσταλλικότητάς και το μέγεθος των αφυδατωμένων, με την τεχνική της αφυδάτωσης με εκνέφωση, συμπλόκων ήταν χαμηλότερος σε σύγκριση με το βαθμό κρυσταλλικότητάς των συμπλόκων που αφέθηκαν να ξηρανθούν με φυσική ξήρανσή.

## 5.2. Προτεινόμενα Θέματα για Μελλοντική Διερεύνηση

- Συσχέτιση της πιθανής μεταβολής της δομής των συμπλόκων με την παραμονή τους σε υψηλές θερμοκρασίες με τη χρήση της τεχνικής της περίθλασης ακτίνων X.
- Ρεολογική μελέτη των συμπλόκων αμυλόζης και των συμπλόκων pregel και Hylon VII σε σχετικά μεγάλες συγκεντρώσεις (10%) με λιπαρά οξέα διαφορετικού μήκους αλυσίδας σε pH 12 & 7, με σκοπό να μελετηθεί η επίδραση του pH και της διαφορετικής ανθρακικής αλυσίδας των λιπαρών οξέων στα συστήματα αμυλόζης και αμύλου-λιπαρών οξέων.
- Μελέτη της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας και της διάμετρου της αμυλόζης και των συμπλόκων σε διάφορες συγκεντρώσεις αμυλόζης με σκοπό να διερευνηθεί πως

μεταβάλλεται ο υδροδυναμικός όγκος όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της αμυλόζης και των συμπλόκων και όσο αλλάζει η κανονικότητα του διαλύτη και να διερευνηθεί ο ρόλος που παίζει ο διαλύτης στη διαμόρφωση της αμυλόζης και των συμπλόκων και να διαπιστωθεί εάν η ίδια συμπεριφορά εμφανίζεται στην περίπτωση των αμύλων (Hylon VII, pregel) και των συμπλόκων.

- Παρασκευή συμπλόκων αμυλόζης-μονογλυκεριδίων με τη μορφή λιποσωματίων και σύγκριση των δομικών χαρακτηριστικών και των θερμικών ιδιοτήτων των συμπλόκων με τα αντίστοιχα σύμπλοκα που παρασκευάστηκαν με τη μέθοδο που ακολουθήθηκε στην παρούσα εργασία.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Autio, K. (1996) Functional aspects of cell wall polysaccharides. In: Carbohydrates in food. Eliasson, A. C. (ed.), Marcel Dekker, Inc. New York 401-476
- AOAC (1990). Official Methods of Analysis, 15th edn. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Abadio F. D. B., Domingues A. M., Borges S. V., & Oliveira V. M. (2004) Physical properties of powdered pineapple (*Ananas comosus*) juice-effect of malt dextrin concentration and atomization speed. *Journal of Food Engineering*, 64, 285–287.
- Assies J., Loka A., Bocktinga C. L., Weverlingb G. J., Lieversec R., Visserd I., Abelinge N. G. G. M., Durane, M., & Schenea, A. H. (2004) Fatty acids and homocysteine levels in patients with recurrent depression: an explorative pilot study. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* (70), pp. 349 - 356.
- Bang, H. O., Dyeberg J., & Hjerne N. (1976). The composition of food consumed by Greenland Eskimos, *Acta medica Scandinavica*, 200, 69-73.
- Banks, W., & Greenwood, C. T. (1971). Amylose: a non-helical biopolymer in aqueous solution. *Polymer*, 12, 141-145.
- Banks, W., & Greenwood, C. T. (1975). *The Structure and biosynthesis of starch granules, Starch and its components*. Edinburgh, Scotland: Edinburgh Univ. Press.
- Barrow, C. J., Nolan, C., & Jin, Y. (2007). Stabilization of highly unsaturated fatty acids and delivery into foods. *Lipid Technology*, 19(5), 108–11.2.
- Bates F. L., French D., & Rundle R. E. (1943). Amylose and Amylopectin Content of Starches Determined by their Iodine Complex Formation. *Journal of the American Chemical Society*, 65(2), 142-148.
- Belitz, H. D., Grosch, W., & Scieberle, P. (2007). *Food chemistry*. Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo: Springer Verlag Berlin.
- Bhatnagar, S., & Hanna, M. A. (1994). Amylose lipid complex formation during single-screw extrusion of various corn starches. *Cereal Chemistry*, 71, 582-587.
- Biais, B., Le Bail, P., Robert, P., Pontoire, B., & Buléon, A. (2006). Structural and stoichiometric studies of complexes between aroma compounds and amylose. Polymorphic transitions and quantification in amorphous and crystalline areas. *Carbohydrate Polymers*, 66, 306-315.

- Biliaderis, C. G., Grant, D. R., & Vose, J. R. (1979). Molecular weight distribution of legume starches by gel chromatography. *Cereal Chemistry*, 56, 475–480.
- Biliaderis, C. G., Maurice, T. J. & Vose, J. R. (1980). Starch gelatinization phenomena studied by differential scanning calorimetry. *Journal of Food Science*, 45, 1669–1680.
- Biliaderis, C. G., Page, C. M., Slade, L., & Sirett, R. R. (1985). Thermal behavior of amylose-lipid complexes. *Carbohydrate Polymers*, 5, 367-389.
- Biliaderis, C. G., Page, C. M., & Maurice, T. J., (1986a). Nonequilibrium melting of amylose- V complexes. *Carbohydrate Polymers*, 6, 269-288
- Biliaderis, C. G., Page, C. M., & Maurice, T. J. (1986b). On the multiple melting transitions of starch/monoglyceride systems. *Food Chemistry*, 22, 279-295.
- Biliaderis, C. G., & Galloway, G., (1989). Crystallization behavior of amylose-V complexes Structure property relationships. *Carbohydrate Research* 189, 31-48.
- Biliaderis, C. G., & Seneviratne, H. D. (1990). On the supermolecular structure and metastability of glycerol monostearate amylose complex. *Carbohydrate Polymers* 13, 185-206.
- Biliaderis, C. G., & Tonogai, J. R. (1991). Influence of lipids on the thermal and mechanical properties of concentrated starch gels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 39, 833-840.
- Buléon, A., Duprat, F., Booy, F. P., & Chanzy, H. (1984). Single-crystals of amylose with a low degree of polymerization. *Carbohydrate Polymers*, 4, 161-173.
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., & Ball, S. (1998). Mini review. Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 23, 85-112.
- Buléon, A., & Colonna, P. (2007). Physicochemical behaviour of starch in food applications. In P. Belton (Ed.), *The chemical physics of food* (pp. 20-67). Oxford: Blackwell Publishing.
- Bulpin, P. V., Cutler, A.N., Lips, A. (1986). In G. O. Phillips, D. J. Wedlock, P. A. Williams (Eds), *Gums and stabilisers for the food industry*, (1986) 221–232
- Bulpin, P. V., Cutler, A. N. & Lips, A. (1987). Cooperative binding of sodium myristate to amylose. *Macromolecules*. 20(1), 44-49.
- Carlson, T. L. G., Larsson, K., Dinhnghuyen, N. & Krog, N. (1979). Study of the amylosemonoglyceride complex by Raman-spectroscopy. *Starch/Stärke*, 31, 222-224
- Brundle, R. C., Evans, C. A., & Wilson, S. (1992). *Encyclopedia of materials characterization-surfaces interfaces, thin films*. Boston:Butterworth-Heinemann



- Chayanoot, S., Ausa, C., Jaruwan, N. N., & Chakrit, T. (2005). Effect of solvent on fatty acid profile of stearin separated from crude palm oil. In: PSU UNS international conference on engineering and environment, 1-4p.
- Charley, H., & Weaver, C. (1998) Foods: A scientific approach. Prentice-Hall, Inc. New Jersey, 139-155
- Cheetham, N. W. H., & Tao L. (1998) Amylose conformational transitions in binary DMSO/water mixture. *Carbohydrate Polymers*, 35, 287–295.
- Cheetham, N. W. H, & Tao, L. (1997). The effects of amylose content on the molecular size of amylose and the distribution of amylopectin chain length in maize starches. *Carbohydrate Polymers*, 33, 251-261.
- Cho, S. Y., K. Miyashita, T. Miyazawa, K. Fujimoto, & T. Kaneda. (1987). Autoxidation of Ethyl Eicosapentaenoate and Docosahexaenoate, *Ibid.* 64, 876–879.
- Choudhury N. H., & Juliano B. O. (1980). Lipids in developing and mature rice grain. *Phytochemistry*, 19, 1063-1069.
- Collado L. S., & Corke H. (2003). Starch properties and functionalities. In G Kaletunc & K. J reslauer (Eds.), *Characterization of cereals and flours* (pp. 473-506). New York, NY: Marcel Dekker
- Colonna, P., Buléon, A., LeMaguer, M., & Mercier, C. (1982). Pisum sativum and Vicia faba carbohydrates: Part IV–Granular structure of wrinkled pea starch. *Carbohydrate Polymers*, 2, 43–59.
- Conde-Petit, B., Escher, F., & Nuessli, J. (2006). Structural features of starch-flavor complexation in food model systems. *Trends in Food Science & Technology*, 17(5), 227–235.
- Cui, S. W. (2005). *Food carbohydrates: Chemistry, physical properties, and applications*. Boca Raton, FL: Taylor & Francis
- Dacaranhe, C. D., & Terao, J. (2001). Effect of phosphatidic acid and phosphatidylserine on lipid oxidation in beef homogenate during storage and in emulsified sardine oil. *Journal of Food Science*, 66, 422-428.
- Dahlqvist, A. (1962). Specificity of the human intestinal disaccharidases and implications for hereditary disaccharide intolerance. *Journal of Clinic Investigation*, 41, 463.
- Davydova, N. I., Leontev, S. P., Genin, Y. V, Sasov, A. Y., & Bogracheva, T. Y. (1995). Some physico-chemical properties of smooth pea starches. *Carbohydrate Polymers*, 27, 109–115.
- Debet, M. R., & Gidley, M. J. (2006). Three classes of starch granule swelling: Influence of surface proteins and lipids. *Carbohydrate Polymers*, 64, 452-465.

- Eliasson, A. C., Carlson, T. L. G., Larsson, K., & Mieziš, Y. (1981a). Some effects of starch lipids on the thermal and rheological properties of wheat starch. *Starch/Stärke*, 33, 130-134.
- Eliasson, A. C., Larsson, K., & Mieziš, Y. (1981b). On the possibility of modifying the gelatinization properties of starch by lipid surface coating. *Starch/Stärke* 33, 231-235.
- Eliasson, A. C. & Krog, N. (1985). Physical properties of amylose monoglyceride complexes. *Journal of Cereal Science*, 3, 239-248.
- Eliasson, A. C., Finstad, H., & Ljunger, G. (1988). A study of starch-lipid interaction form some native and modified maize starches. *Starch/Stärke*, 40, 95-100.
- Eliasson, A. C. (1994). Interactions between starch and lipids studied by DSC. *Thermochimica Acta*, 246, 343-356.
- Eliasson, A. C., & Krog, N.(1985). Physical properties of amylose monoglyceride complexes. *Journal of Cereal Science*, 3, 239-248.
- Eliasson, A. C., & Wahlgren, M. (2004) Starch-lipid interactions and their relevance in food products In “Starch in Food Structure, function and applications”, Woodhead Publishing, Boca Raton, pp 441-460.
- Evans, I. D. (1986). An investigation of starch/surfactant interactions using viscometry and differential scanning calorimetry. *Starch/Starke*, 38, 227.
- Everett, W. W., & Foster, J. F. (1959). The subfractionation of amylose and characterization of the subfractions by light scattering. *Journal of the American Chemical Society*, 81, 3459–3464.
- Fanta, G. F., Shogren, R. L., & Salch, J. H. (1999). Steam jet cooking of high-amylose starch–fatty acid mixtures. An investigation of complex formation. *Carbohydrate Polymers*, 38, 1–6.
- Franco, C. M. L., Wong, K. S., Yoo, S. H., & Jane, J. L. (2002). Structural and functional characteristics of selected soft wheat starches. *Cereal Chemistry*, 79, 243–248.
- French, D. (1972). Fine structure of starch and its relationship to the organisation of starch granules. *Denpun Kagaku (Journal of the Japanese Society of Starch Science)*, 19, 8–25.
- Fujino, Y. (1978). Rice lipids. *Cereal Chemistry*, 55, 559-57
- Galli, C., & Simopoulos, A. P. (1989). Dietary  $\omega$ 3 and  $\omega$ 6 Fatty Acids. Biological Effects and Nutritional Essentiality, In C. Galli, & A.P Simopoulos, (Ed.), New York: Plenum Press.
- Galliard, T., & Bowler, P. (1987). Morphology and composition of starch. In T. Galliard (Ed.), *Starch: Properties and potential* (pp. 55-78). Oxford: Society of Chemical Industry.
- Galloway, G. I., Biliaderis, C. G., & Stanley, D. W. (1989). Properties and structure of amylose-glyceryl monostearate complexes formed in solution or on extrusion of wheat-flour. *Journal of Food Science*, 54, 950-957.

- Gelders, G. G., Vanderstukken, T. C., Goesaert, H. & Delcour, J. A. (2004). Amylose-lipid complexation: a new fractionation method. *Carbohydrate Polymers*, 56, 447-458.
- Gelders, G. G., Duyck, J. P., Goesaert H., & Delcour, J. A. (2005a). Enzyme and acid resistance of amylose-lipid complexes differing in amylose chain length, lipid and complexation temperature. *Carbohydrate Polymers*, 60, 379-389.
- Gelders, G. G., Goesaert, H., & Delcour, J. A. (2005b). Potato phosphorylase catalyzed synthesis of amylose-lipid complexes. *Biomacromolecules*, 6, 2622- 2629.
- Gelders, G. G., Goesaert, H., & Delcour, J. A. (2006). Amylose-lipid complexes as controlled lipid release agents during starch gelatinization and pasting. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, 1493-1499.
- Chang, F., He, X., & Huang, Q. (2013). Effect of lauric acid on the V-amylose complex distribution and properties of swelled normal cornstarch granules. *Journal of Cereal Science*, 58, 89-95.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007) Applications of spraydrying in microencapsulation of food ingredients: an overview. *Food Research International*, 40, 1107–1121.
- Gracza, R. (1965). Starch: Chemistry and Technology. In R. L. Whistler and E. F. Paschall, (Ed), *Minor constituents of starch*. (pp. 105-131). Academic Press: New York
- Ghiasi, K., Varriano-Marston, E., & Hosene, R. C (1982). Gelatinization of wheat starch. II. Starch-surfactant interaction. *Cereal Chemistry*, 59, 86-88.
- Godet, M. C., Buléon, A., Tran, V., & Colonna, P. (1993). Structural features of fatty acid-amylose complexes. *Carbohydrate Polymers*, 21, 91-95.
- Godet, M. C., Bizot, H., & Buléon, A. (1995a). Crystallization of amylose fatty acid complexes prepared with different amylose chain lengths. *Carbohydrate Polymers*, 27, 47-52.
- Godet, M. C., Tran, V., Colonna, P., Buléon, A., & Pezolet, M. (1995b). Inclusion exclusion of fatty acids in amylose complexes as a function of the fatty acid chain length. *International Journal of Biological Macromolecules*, 17, 405-408.
- Godet, M. C., Bouchet, B., Colonna, P., Gallant, D. J., & Buléon, A. (1996). Crystalline amylose fatty acid complexes: morphology and crystal thickness. *Journal of Food Science*, 61, 1196-1201.
- Goula A.M. & Adamopoulos K.G. (2005). “Spray drying of tomato pulp in dehumidified air. II. The effect on powder properties”. *Journal of Food Engineering*, 66, 35-42
- Greenwood, C. T. (1964). Viscosity-molecular weight relations. In R. L. Whistler 30 (Eds), *Methods in carbohydrate chemistry* (Vol. 4) (pp. 179–188). New York: 31 Academic press

- Gudmundsson, M., & Eliasson, A. C. (1990). Retrogradation of amylopectin and the effects of amylose and added surfactants/emulsifiers. *Carbohydrate Polymers*, 13, 295-315.
- Harris, W. S., Kris-Etherton, P. M., & Harris, K. A. (2008). Intakes of long-chain omega-3 fatty acid associated with reduced risk for death from coronary heart disease in healthy adults. *Current Atherosclerosis Reports*, 10, 503-509.
- Hasjim, J., Srichuwong, S., Scott, M. P., & Jane, J. L. (2009). Kernel composition, starch structure, and enzyme digestibility of opaque-2 maize and quality protein maize. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 2049-2055.
- Haworth, W.N., Peat, S., Sagrott, P. E. (1946) A new method for the separation of the amylose and amylopectin components of starch. *Nature* 157: 19
- Heinemann, C., Zinsli, M., Renggli, A., Escher, F., & Conde-Petit, W. (2005). Influence of amylose-flavor complexation on build-up and breakdown of starch structures in aqueous food model systems. *Food Science and Technology*, 38, 885-894.
- Hizukuri, S. (1985). Relationship between the distribution of the chain length of amylopectin and the crystalline structure of starch granules. *Carbohydrate Research*, 141, 295–305.
- Hizukuri, S. (1986). Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectin and its significance. *Carbohydrate Research*, 147, 342–347.
- Holm, J., Björck, I., Ostrowska, S., Eliasson, A. C., Asp, N. G., Larsson, K., & Lundquist, I. (1983). Digestibility of amylose-lipid complexes invitro and invivo. *Starch/Stärke*, 35, 294-297.
- Hoover, R., & Hadziyev, D. (1981). Characterization of potato starch and its monoglyceride complexes. *Starch/Stärke*, 33, 290-300.
- Hoover R., & Sosulski F. W. (1985). Studies on the functional characteristics and digestibility of starches from *Phaseolus vulgaris* biotypes. *Starch/Stärke*, 37, 181–191.
- Hoover R., & Sosulski, F. W. (1991). Composition, structure, functionality and chemical modification of legume starches. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 69, 79–92.
- Hulshof K. F., Van Erp-Baart M. A., Anttolainen M, Becker W., Church S.M., Couet C, et al. (1999). Intake of fatty acids in western Europe with emphasis on trans fatty acids: the transfair Study. *The European Journal of Clinical Nutrition*, 53(2):143-57.
- Hu F. B., Stampfer M. J., Manson, J. E., Ascherio, A., Colditz, G. A., Speizer, F. E., et al. (1999). Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70(6),1001-8.

- Imberty, A., Chanzy, H., Perez, S., Buléon, A., & Tran, V. J. (1988). The double helical nature of the crystalline part of A-starch. *Journal of Molecular Biology*, 201, 365–378.
- Imberty, A., Buléon A., Tran, V., & Perez, S. (1991). Recent advances in knowledge of starch structure. *Starch/Stärke*, 43, 375–384.
- Immel, S., & Lichtenthaler, F. W. (2000). The hydrophobic topographies of amylose and its blue iodine complex. *Starch/Stärke*, 52, 1-8.
- Jane, J. L., & Robyt, J. F. (1984). Structure studies of amylose-V complexes and retrograded amylose by action of  $\alpha$ -amylases, and a new method for preparing amyloextrins. *Carbohydrate Research*, 132, 105-118.
- Jane, J. L. (2004). Starch: Structure and properties. In Z. E. Sikorski (Ed.) *Chemical and functional properties of food saccharides* (pp. 77-96). Boca Raton, London, New York, Washington, D.C.: CRC Press.
- Jenkins, P. J., & Donald, A. M. (1998). Gelatinisation of starch – a combined WAXS/SAXS/ DSC and SANS study. *Carbohydrate research*, 308, 133-147.
- Jinapong, N., Suphantharika, M., & Jannong, P. (2008). Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 84, 194-205
- Jouquand C., Ducruet V. & Le Bail P. (2006). Formation of amylose complexes with C6-aroma compounds in starch dispersions and its impact on retention. *Food Chemistry*, 96, 461–470.
- Kaneda, Y., Kitahara, K., Suganuma, T. & Nagahama, T. (1996). Introduction of fatty acids into low-lipid starches and their Nägeli amyloextrins. *Cereal Chemistry* 73, 244-248.
- Kanicky, J. R., & Shah, D. O. (2002). Effect of degree, type, and position of unsaturation on the pKa of long-chain fatty acids. *Journal of Colloid and Interface Science*, 256, 201–207.
- Kampa, M., Niffi, A. P., Notas, G., & Castanas, E. (2007). Polyphenols and cancer cell growth. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, 159, 79-113.
- Kapoor, R., & Huang Y. S. (2006). Gamma linolenic acid: an anti-inflammatory *omega*-6 fatty acid. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 7, 531–534.
- Karkalas, J., Ma, S., Morrison, W. R., & Pethrick, R. A. (1995). Some factors determining the thermal-properties of amylose inclusion complexes with fatty-acids. *Carbohydrate Research*, 268, 233-247.
- Karkalas, J. (1985). An improved enzymatic method for the determination of native and modified starch. *Journal of Science. Food Agriculture*, 36, 1019-1027.

- Karkalas, J., & Raphaelides, S. (1986). Quantitative aspects of amylase-lipid interactions. *Carbohydrate Research*, 157, 215-234.
- Keetels, C. J. A. M., Van Viliet, T., & Walstra, P. (1996). Gelation and retrogradation of concentrated starch systems: 1. Gelation. *Food Hydrocolloids*, 10, 343–353.
- Kellenberger, S (1951): Inheritance of starch content and amylose content of the starch in peas (*Pisum sat.*) *Agronomy Journal*, 43, 337 – 340.
- Kent, N. L., & Evers, A. D. (1994). Technology of cereals (4th ed., pp. 233–258). Oxford, UK: Pergamon
- Killion, P. J., & Foster, J. F. Isolation of high molecular weight amylose by DMSO dispersion. *J. Polymer. Sci.* 46: 65 (1960).
- Knight, J. W. (1965). The chemistry of wheat starch and gluten, Leonard Hill, London, 149 pp.
- Kooistra, E (1962). On the differences between smooth and three types of wrinkled peas. *Euphytica*, 11, 357–373
- Kowblansky, M. (1985). Calorimetric investigation of inclusion complexes of amylase with long-chain aliphatic compounds containing different functional groups. *Macromolecules*, 18, 1776-1779.
- Kris-Etherton, P. M., Harris, W. S., & Appel, L. L. (2002). Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation*, 106, 2747-2757.
- Krog, N., & Nybo-Jensen, B. (1970). Interaction of monoglycerides in different physical states with amylose and their anti-firming effects in bread. *Journal of Food Technology*, 5, 77.
- Krog, N. (1971). Amylose complexing effect of food grade emulsifiers. *Starch/Stärke*, 23, 206-209.
- Kwasniewska K. I., Nebesny, E., & Kaczmarek, R. J. (2008). Characterization of amylose-lipid complexes derived from different wheat varieties and their susceptibility to enzymatic hydrolysis. *Food Science and Technology International*, 14, 29-37.
- Lagendijk, J., & Pennings, H. J. (1970). Relation between complex formation of starch with monoglycerides and the firmness of bread. *Cereal Science Today*, 15, 354-365.
- Lalush, I., Bar, H., Zakaria, I., Eichler, S., & Shimoni, E. (2005). Utilization of amylose-lipid complexes as molecular nanocapsules for conjugated linoleic acid. *Biomacromolecules*, 6, 121-130.
- Larson, K. (1980). Inhibition of starch gelatinization by amylose-lipid complex formation. *Starch/Stärke*, 32, 125–129.

- Laovachirasuwan P, Peerapattana J, Srijesdaruk V, et al. (2010). The physicochemical properties of a spray dried glutinous rice starch biopolymer. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 78, 30-35.
- Lauro, M., Poutanen, K., & Forssell, P. (2000). Effect of partial gelatinization and lipid addition on  $\alpha$ -amylolysis of barley starch granules. *Cereal Chemistry*, 77, 595-601.
- Lay Ma U., Floros D. J., & Ziegler R. G. (2011). Formation of inclusion complexes of starch with fatty acid esters of bioactive compounds. *Carbohydrate Polymers*, 83, 1869-1878.
- Le Bail, P., Buléon, A., Shiftan, D., & Marchessault, R. H. (2000). Mobility of lipid in complexes of amylose-fatty acids by deuterium and C-13 solid state NMR. *Carbohydrate Polymers*, 43, 317-326.
- Le Bail, P., Rondeau, C., & Buléon, A. (2005) Structural investigation of amylose complexes with small ligands: helical conformation, crystalline structure and thermostability. *International Journal of Biological Macromolecules*, 35 1-7.
- Lesmes, U., Barchechath, J., & Shimoni, E. (2008). Continuous dual feed homogenization for the production of starch inclusion complexes for controlled release of nutrients. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(4), 507–515.
- Lesmes, U., Cohen, S. H., Shener, Y. & Shimoni, E. (2009). Effects of long chain fatty acid unsaturation on the structure and controlled release properties of amylase complexes. *Food Hydrocolloids*, 23, 667-675.
- Li, J. H., Vasanthan, T., Rossnagel, B. G., & Hoover, R. (2001). Starch from hull-less barley. I. Granule morphology, composition and amylopectin structure. *Food Chemistry*, 74, 395–405.
- Li, J. H., Vasanthan, T., Hoover, R., & Rossnagel, B.G. (2003). Starch from hull-less barley: ultrastructure and distribution of granule bound proteins. *Cereal Chemistry*, 80, 524–532.
- Lineback, D. R. (1984). The starch granule: organisation and properties. *Baker's digest*, 58, 16–21.
- Lineback, D. R. (1986). Current concepts of starch structure and its impact on properties. *Denpun Kagaku*, 33, 80–88.
- Lineback, D. R., & Rasper, V. F. (1988). Wheat Chemistry and Technology. In Y. Pomeranz (Ed), Wheat carbohydrates (pp 277-372) Vol 1. American Association of Cereal Chemists: St. Paul, MN.
- Lim, S. T., Kasemsuwan, T., & Jane, J. (1994). Characterization of phosphorous in starch by  $^{32}\text{P}$ -nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Cereal Chemistry*, 71, 488–493.

- Liu, Q. (2005). Understanding starches and their roles in foods. In S. W. Cui (Ed.), *Food carbohydrates: Chemistry, physical properties, and applications* (pp. 327–329). CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC
- Manners, D. J. (1985). Some aspects of the structure of starch. *Cereal Food World*, 30, 461-467.
- Manley, R. S. J. (1964). Chain folding in amylose crystals. *Journal of Polymer Science, Part A 2*, 4503-4515
- Melvin, M. A. (1979). The effect of extractable lipid on the viscosity characteristics of corn and wheat starches. *Journal of Science in Food and Agriculture*, 30, 731-738.
- Mercier, C., Charbonniere, N., Grebaut, J., & de la Gueriviere, J. F. (1980). Formation of amylose complexes by twin-screw extrusion cooking of maniac starch. *Cereal Chemistry*, 57, 4-9.
- Meyer, K. G, Gibbond, G. C. (1951). The present status of starch chemistry In FF Nord, ed, *Advances in Enzymology*. Wiley-Interscience, New York, pp 341-351
- Mira, I., Persson, K., & Villwock, V. K. (2007). On the effect of surface active agents and their structure on the temperature-induced changes of normal and waxy wheat starch in aqueous suspension. Part I. Pasting and calorimetric studies. *Carbohydrate Polymers*, 68, 665-678.
- Miyashita, K., & T. Takagi. (1986). Study on the Oxidative Rate and Prooxidant Activity of Free Fatty Acids, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 63, 1380–1384.
- Morrison, W. R., & Smith, L. M. (1964). Preparation of Fatty Acid Methyl Esters and Dimethylacetals from lipids with Boron Fluoride-Methanol. *Journal of lipid Research*, 5, 600-608
- Morrison, W. R., & Laignelet, B. (1983). An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches. *Journal of Cereal Science*, 1, 9-20.
- Morrison, W. R. & Karkalas, J. (1990). Starch. In: Dey, P.M., (Ed.), *Methods in Plant Biochemistry*, vol. 2. Academic Press, London, pp. 323–352.
- Morrison W.R. (1998). Lipids in cereal starches. A review. *Journal of Cereal Science*, 8, 1
- Mottram, D. S. (1998). Flavour formation in meat and meat products: A review. *Food Chemistry* 62, 415–424.
- Mosen, K., Bäckström, K, Thalberg, K, Schaefer T, Kristensen H. G., Axelsson A. (2004). Particle formation and capture during spray drying of inhalable particles. *Pharmaceutical Development and Technology*, 9, 409-417, 2004
- Mua, J. P., & Jackson, D. S. (1997). Fine structure of corn amylose and amylopectin fractions with various molecular weights. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3840–3847



- Murray, S. M., Patil, A. R., Fahey, G. C., Merchen, N. R., Wolf, B. W., Lai, C. S., & Garleb, K. A. (1998). Apparent digestibility of a debranched amylopectin-lipid complex and resistant starch incorporated into enteral formulas fed to ileal-cannulated dogs. *Journal of Nutrition*, 128, 2032-2035.
- Nakanishi, H., Brewer, K. A., & Exton, J. H. (1993). Activation of the  $\alpha$  isozyme of protein kinase C by phosphatidylinositol 3, 4, 5-trisphosphate. *Journal of Biological Chemistry*, 268, 13-16.
- Nakazawa, Y., & Wang, Y. J. (2004). Effect of annealing on starch-palmitic acid interaction. *Carbohydrate Polymers*, 57, 327-335.
- Nebesny, E., Rosicka, J., & Tkaczyk, M. (2004). Influence of conditions of maize starch enzymatic hydrolysis on physicochemical properties of glucose syrups. *Starch/Stärke*, 56, 132-137.
- Ng, K.-Y., Duvick, S. A., & White, P. J. (1997). Thermal properties of starch from selected maize (*Zea mays* L.) mutants during development. *Cereal Chemistry*, 74, 288-292
- Nielsen J. P. & Gleason, P.C. (1945). *Industrial Engineering Chemistry and Analytical Edition*, 17, 131.
- Paredes-Lopez, O., Bello-Perez, L. A., & Lopez, M. G. (1994). Amylopectin: Structural, gelatinisation and retrogradation studies. *Food Chemistry*, 50, 411-417.
- Polaczek, E., Starzyk, F., Malenki, K., & Tomasik, P. (2010a). Inclusion complexes of starch with hydrocarbons. *Carbohydrate Polymers*, 43, 291-297.
- Praznik, W., Huber, A., Watzinger, S., & Beck H. F. (1994). Molecular characteristics of high amylose starches. *Starch/Stärke*, 46, 88-94.
- Putseys, J. A., Lamberts, L., & Delcour, J. (2010a). Amylose-inclusion complexes: Formation, identity and physico-chemical properties. *Journal of Cereal Science*, 51, 238-247.
- Putseys, J. A., Derde, L. J., Lamberts, L., Östman, E., Björck, I. M., & Delcour, J. A. (2010b). Functionality of short chain amylose-lipid complexes in starch-water systems and their impact on in vitro starch degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 1939-1945.
- Radosta, S., Haberer, M., & Vorwerg, W. (2001). Molecular characteristics of amylose and starch in dimethyl sulfoxide. *Biomacromolecules*, 2, 970-978.
- Raphaelides, S. N. (1986). The nature of amylose-lipid interactions and their effects on the rheological properties of starch. Ph.D. Thesis, University of Strathclyde. United Kingdom.
- Raphaelides, S. N., & Karkalas, J. (1988). Thermal-dissociation of amylose fatty-acid complexes. *Carbohydrate Research*, 172, 65-82.

- Raphaelides, S. N. (1992). Flow behaviour of starch-fatty acid systems in solution. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 25,95-101
- Raphaelides, S. N. (1992). Viscoelastic behaviour of amylose-fatty acid gels. *Journal of Texture Studies*, 23, 297-313.
- Raphaelides, S. N., & Georgiadis, N. (2007). Effect of fatty acids on the rheological behaviour of pea starch dispersions during heating. *Food Hydrocolloids*, 21, 1188–1200.
- Raphaelides, S. N., & Georgiadis, N. (2008). Effect of fatty acids on the rheological behaviour of maize starch dispersions during heating. *Carbohydrate Polymers*, 41, 75-88.
- Raphaelides, S. N., & Papavergou, E. J. (1991). An investigation of the quantitative relationship of amylose monoglyceride interactions. *Food Science and Technology*, 24, 391-396.
- Raphaelides, S. N., & Georgiadis, N. (2006). Effect of fatty acids on the rheological behaviour of maize starch dispersions during heating. *Carbohydrate Polymers*, 65, 81-92.
- Rappenecker, G., & Zugenmaier, P. (1981). Detailed refinement of the crystal structure of Vh-amylose. *Carbohydrate Research*, 89, 11-19.
- Ratnayke, W. S., Hoover, R., Shahidi, F., Perera, C., & Jane J. (2001). Composition, structure and physicochemical properties of starches from four field pea (*Pisum sativum* L.) cultivars. *Food Chemistry*, 71, 189–202
- Ratnayke, W. S., Hoover, R.; Warkentin, T. (2002). Pea starch:composition, structure and properties - A review. *Starch/Stärke*, Weinheim, 54, (6), 217-234
- Reineccius, G. A. (1988). Spray-drying of food flavors. In G. A. Reineccius & S. J. Risch (Eds.), *Flavor encapsulation* (pp. 55–66). Washington, DC: American Chemical Society
- Reichert, R. D., & Youngs, C. G. (1978). Nature of the residual protein associated with starch fractions from air classified pea. *Cereal Chemistry*, 55, 469–480.
- Richardson, G.; Langton, M.; Bark, A. & Hermansson, A. M. (2003). Wheat starch gelatinization - the effects of sucrose, emulsifier and the physical state of the emulsifier. *Starch/Stärke*, 55, 150-161.
- Riisom, T., Krog, N., & Eriksen, J. (1984). Amylose complexing capacities of cis- and trans-unsaturated monoglycerides in relation to their functionality in bread. *Journal of Cereal Science*, 2, 105–118.
- Ristic V., & Ristic G. (2003). Role and importance of dietary polyunsaturated fatty acids in the prevention and therapy of atherosclerosis. *Medicinski pregled*, 56 (1-2), pp. 50- 53.

- Rizkalla, S.W., Bellisle, F., Slama, G., (2002). Health benefits of low glycemic index foods, such as pulses, in diabetic patients and healthy individuals. *British Journal of Nutrition*, 88, S255-S-262
- Rosinski, S., Grigorescu, G., Lewinska, D., Ritzen, L. G., Viernstein, H., Teunou, E., Poncelet, D., Zhang, Z., Fan, X., Serpy, D., Marisony, I., & Hunkeler, D. (2002). Characterization of microcapsules: recommended methods based on round-robin testing. *Journal of Microencapsulation*, 19 (5), 641-659.
- Rondeau-Mouro C., Le Bail P., & Buleon A. (2004). Structural investigation of amylose complexes with small ligands: inter- or intra-helical associations. *International Journal of Biological Macromolecules*, 34, 309–315.
- Rundle, R. E., & French, A. D. (1943). The configuration of starch in the starch-iodine complex. III. X-ray diffraction studies on the starch-iodine complex. *Journal of the American Chemical Society*, 65, 1707-1710.
- Rutschmann, M. A., Heiniger, J., Pliska, V. & Solms, J. (1989). Formation of inclusion complexes of starch with different organic compounds. 1. Method of evaluation of binding profiles with menthone as an example. *Food Science and Technology*, 22, 240-244.
- Rutschmann, M. A., & Solms, J. (1990). Formation of inclusion complexes of starch with different organic compounds. 2. Study of ligand binding in binary model systems with decanal, 1-naphthol, monostearate and monopalmitate. *Food Science and Technology*, 23, 70-79.
- Sarko, A., & Biloski, A. (1980). Packing analysis of carbohydrates and polysaccharides. 10. Crystal-structure of the KOH-amylose complex. *Carbohydrate Research* 79, 11-21.
- Salem, J. R., Simopoulos A. P., Galli C., Lagarde M., & Knapp H.R. (eds) (1996). Fatty Acids and Lipids from Cell Biology to Human Disease. *Lipids*, 31, 1-326
- Schoch, J. (1942). Fractionation of starch by selective precipitation with butanol. *Journal of the American Chemical Society*, 64, 2957-2961.
- Schoch, T. J., & Maywald, E. C. (1967). Starch Chemistry and Technology, In R.L. Whistler, E.G. Paschall, J.N. BeMiller, and H.J. Roberts (Ed.), *Industrial Microscopy of Starches Vol. 2*, (pp 637-685). New York: Academic Press.
- Schneider, A. (1951). Untersuchungen fiber die Eignung von Erbsensorten fiir Zwecke der Nasskonservierung. *Der Zfichter* 21,275-281
- Schram, L. B., Nielsen, C. J., Porsgaard, T., Nielsen, N. S., Holm, R., & Mu, H. (2007). Food matrices affect the bioavailability of (n-3) polyunsaturated fatty acids in a single meal study in humans. *Food Research International*, 40, 1062-1068.

- Seib, P. A. (1994). Wheat starch: Isolation, structure and properties. *Oyo Toshitsu Kagaku (Journal of Applied Glycoscience)*, 41:49-69.
- Seetharaman, K., Tziotis, A., Borrás, F., White, P. J., Ferrer, M., & Robutti, J. (2001). Thermal and functional characterization of starch from argentinean corn. *Cereal Chemistry*, 78, 379-386
- Seneviratne, H. D., & Biliaderis, C. G. (1991). Action of alpha-amylases on amylose–lipid complex superstructures. *Journal of Cereal Science*, 13, 129–143.
- Sevenou, O., Hill, S. E., Farhat, I. A., & Mitchell, J. R. (2002). Organisation of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy. *International Journal of Biological Macromolecules*, 31, 79–85.
- Shah, A., Zhang, G., Hamaker, B., & Campanella, O. (2011). Rheological properties of a soluble self-assembled complex from starch, protein and free fatty acids. *Journal of Food Engineering*, 105, 444-452.
- Shogren, R. L., Fanta, G. F., & Felker, F. C. (2006). X-ray diffraction study of crystal transformations in spherulitic amylose/lipid complexes from jet-cooked starch. *Carbohydrate Polymers* 64, 444-451.
- Singh, N., Singh, J., Kaur, L., Sodhi, N. S., & Gill, B. S. (2003). “Review: Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources,” *Food Chemistry*, 81, 219–231.
- Silverio, J., Svensson, E., Eliasson, A. C., & Olofsson, G. (1996). Isothermal microcalorimetric studies on starch retrogradation. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 47, 1179-1200.
- Siswoyo, T. A., & Morita, N. (2003). Thermal properties of partially hydrolyzed starchglycerophosphatidylcholine complexes with various acyl chains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3162-3167.
- Slade, L., & Levine, H. (1987). Recent advances in starch retrogradation. Pages 387-430 in: *Industrial Polysaccharides*. S. S. Stivala, V. Crescenzi, and I. C. M. Dea, eds. Gordon and Breach Science Publishers: New York.
- Stribeck, N. (2007). X-ray scattering of soft matter. In *Determination of WAXS crystallinity* (pp. 102-104). Berlin: Springer.
- Stute, R., & Konieczny-Janda, G. (1983). DSC investigations of starches. 2. Investigations on starch-lipid complexes. *Starch/Stärke*, 35, 340-347.

- Takase, S., Goda, T., & Watanabe, M. (1994). Monostearoylglycerol-starch complex: its digestibility and effects on glycemic and lipogenic responses. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 40, 23-36.
- Tang, M. C., & Copeland, L. (2007). Analysis of complexes between lipids and wheat starch. *Carbohydrate Polymers* 67, 80-85.
- Tester, R. F., & Morrison, W. R. (1990). Swelling and gelatinization of cereal starches. 1. Effects of amylopectin, amylose, and lipids. *Cereal Chemistry*, 67, 551-557.
- Tester, R. F., & Sommerville, M. D. (2000). Swelling and enzymatic hydrolysis of starch in low water systems. *Journal of Cereal Science*, 33, 193-203.
- Tester, R. F. & Karkalas, J. (2002). Starch. In: Steinbüchel, A. (Series Ed.) Vandamme, E.J., De Baets, S., Steinbüchel, A. (vol. Eds.), Biopolymers, vol. 6. Polysaccharides. II. Polysaccharides from Eukaryotes, Wiley-VCH, Weinheim, pp. 381-438
- Tester, R. F., Karkalas, J., & Qi, X. (2004). Starch-composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39, 151-165.
- Tozuka, Y., Takeshita, A., Nagae, A., Wongmekiat, A., Moribe, K., Oguchi, T., & Yamamoto, K. (2006). Specific inclusion mode of guest compounds in the amylose complex analyzed by solid state NMR spectroscopy. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 54(8), 221-232.
- Traube J. (1884). *Ber. Dtsch. Chem Ges (Chemische Berichte)*, 17, 2294-2316
- Tufvesson, F., Wahlgren, M., & Eliasson, A. C. (2003a). Formation of amyloselipid complexes and effects of temperature treatment. Part 1. Monoglycerides. *Starch/Stärke*, 55, 61-71.
- Tufvesson, F., Wahlgren, M., & Eliasson, A. C. (2003b). Formation of amyloselipid complexes and effects of temperature treatment. Part 2. Fatty acids. *Starch/Stärke*, 55, 138-149.
- Tulyathan, V. C., K. Ratanathampan, K. Pewlong, C., & Navankasattusas, S. (2006). Determination of starch gelatinization temperatures by means of polarized light intensity detection. *Journal of Scientific Research Chulalongkorn University*, 31(1), 13-24
- Tyler, R. T., Youngs, C. G., & Sosulski, F. W. (1984). Air classification of legumes. Cut size effects. *Canadian Institute of Food Science and Technology*, 17, 71-75.
- Valletta, R. M., Germino, F. J., Lang, R. E., Moshy, R. J. (1964). Amylose 'V' complexes: low molecular weight primary alcohols. *Journal of Polymer Science: Part A 2*, 1085e1094.
- Veregin, R. P., & Fyfe, C. A., Marchessault, R. H., & Taylor, M. G. (1986). Characterisation of the crystalline A and B starch polymorphs and investigation of starch crystallisation by high-resolution <sup>13</sup>C CP/MAS NMR. *Macromolecules*, 19, 1030-1034.

- Veregin, R. P., Fyfe, C. A., & Marchessault, R. H. (1987). Investigation of the crystalline 'V' amylose complexes by high-resolution  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR spectroscopy. *Macromolecules*, 20, 3007–3012.
- Vose, J. R. (1977). Functional characteristics of an intermediate amylose starch from smooth-seeded field peas compared with corn and wheat starches. *Cereal Chemistry*, 54, 1141–1151.
- Whittam, M. A., Orford, P. D., Ring, S. G., Clark, S. A., Parker, M. L., Cairns, P., & Miles, M. J. (1989). Aqueous dissolution of crystalline and amorphous amylose alcohol complexes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 11, 339-344.
- Winter, W. T., & Sarko, A. (1974). Crystal and molecular structure of V-anhydrous amylose. *Biopolymers*, 13, 1447-1460.
- Weiss, J., Takhistov, P., & McClements, D. J. (2006). Functional Materials in Food Nanotechnology. *Journal of Food Science*, 71 (9), 107-116.
- Wu, H. C. H. & Sarko, A. (1978). The double-helical molecular structure of crystalline A-amylose. *Carbohydrate Research*, 61, 27–40.
- Yamada, T., Kato, T., Tamaki, S., Teranishi, K. & Hisamatsu, M., (1998). Introduction of fatty acids to starch granules by ultra-high-pressure treatment. *Starch/Stärke*, 50, 484-486.
- Yamashita, Y., & Hirai, N. (1966). Single crystals of amylose V complexes. II. Crystals with  $7_1$  helical configuration. *Journal of Polymer Science: Part A 2*, 4, 161-171
- Yamashita, Y. (1965). Single crystals of amylose V complexes. *Journal of Polymer Science Part A: General Papers*, 3, 3251-3260.
- Yamashita, Y., & Monobe, K. (1971). Single crystals of amylose V complexes. III. Crystals with  $8_1$  helical configuration. *Journal of Polymer Science: Part A 9*, 1471-1481.
- Uchino, T., Tozuka, Y., Oguchi, T., & Yamamoto, K. (2002). Inclusion Compound Formation of Amylose by Sealed-Heating with Salicylic Acid Analogues. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 43(1-2), 31-36.
- Zabar, S., Lesmes, U., Katz, I., Shimoni, E., & Bianco-Peled, H. (2009). Studying different dimensions of amylose-long chain fatty acid complexes: molecular, nano and micro level characteristics. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 1918–1925.
- Zabar, S., Lesmes, U., Katz, I., Shimoni, E., & Bianco-Peled, H. (2010). Structural characterization of amylose-long chain fatty acid complexes produced via the acidification method. *Food Hydrocolloids*, 24(4), 347-357.
- Zbicinski, I., Delag, A., Strumillo, C., & Adamiec, J. (2002). Advanced experimental analysis of drying kinetics in spray drying. *Chemical Engineering Journal*, 86, 207–216.

- Zhang, G., Maladen, M. D., & Hamaker, B. R. (2003). Detection of a novel three component complex consisting of starch, protein, and free fatty acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(9), 2801–2805
- Zhang, G., Maladen, M. D., Campanella, O., & Hamaker, B. R. (2010). Free Fatty Acids Electronically Bridge the Self-Assembly of a Three-Component Nanocomplex Consisting of Amylose, Protein, and Free Fatty Acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 9164-9170.
- Zhang, G., & Hamaker, B. (2004). Starch–free fatty acid complexation in the presence of whey protein. *Carbohydrate Polymers*, 55, 419–424.
- Zobel, H. F., French, A. D., & Hinkle, M. E. (1967). X-ray diffraction of oriented amylose fibers. II. Structure of V-amylose. *Biopolymers*, 5, 837-845.
- Zobel, H. F. & Stephen, A. M. (1995). Starch: structure, analysis and application. In: Stephen, A.M., (Ed.), *Food Polysaccharides and their Application* (pp. 19–66). Marcel Dekker, New York
- Waigh, T. A., Jenkins, P. J., & Donald, A. M. (1996). Quantification of water in carbohydrate lamellae using SANS. *Faraday Discussions*, 103, 325-337.
- Xu, Z.-M., & Raphaelides, S. N. (1998). Flow behavior of concentrated starch dispersions using a tube rheometer of novel design. *Journal of Texture Studies*, 29, 1–13

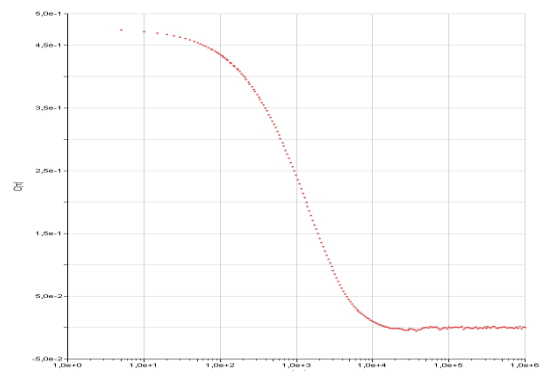
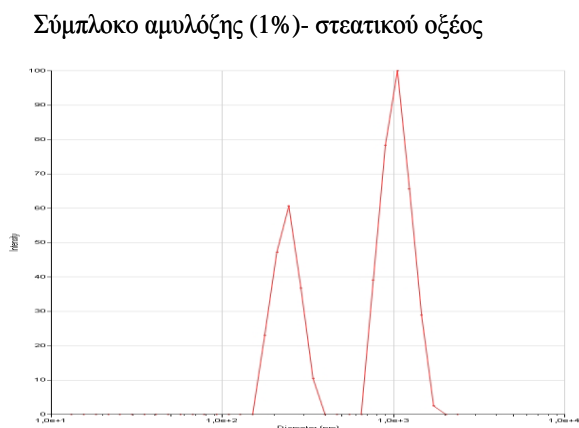
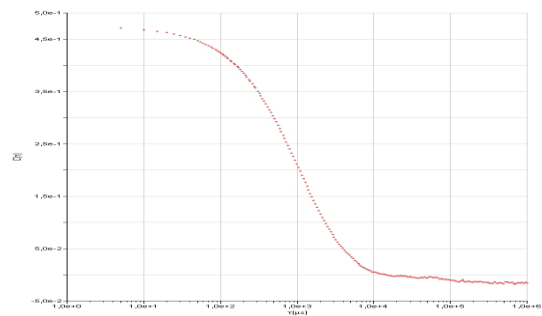
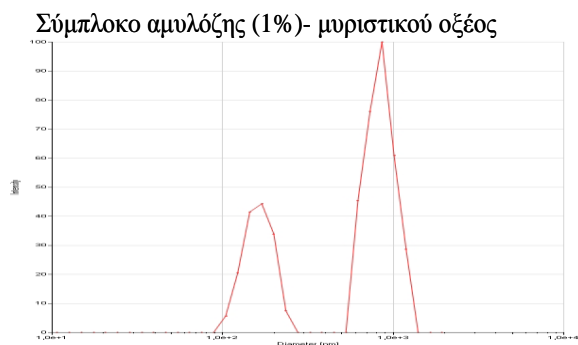
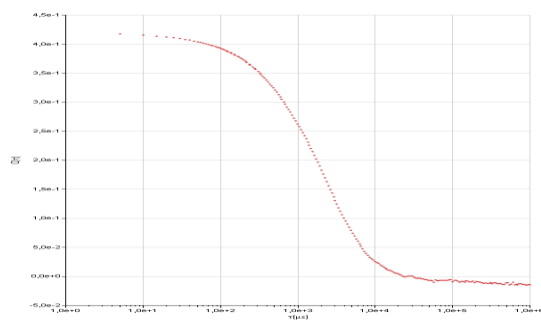
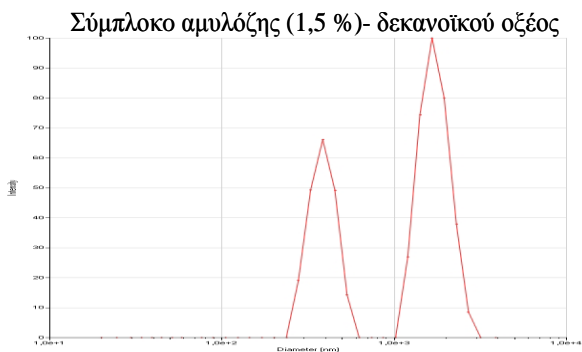




# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

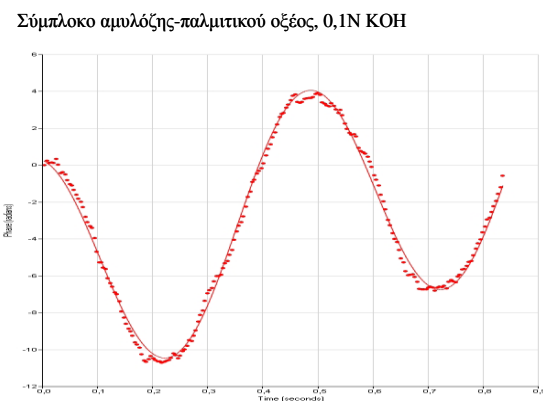
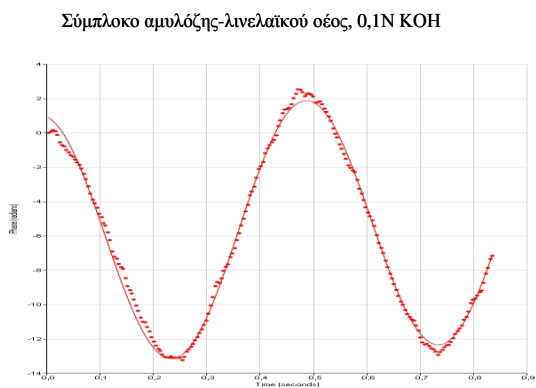
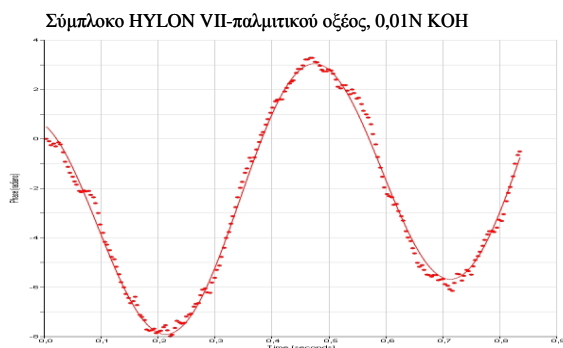
## A. ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΥΤΙΚΑ ΠΡΩΤΟΓΕΝΗ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

### A1 Φάσματα δυναμικής σκέδασης του φωτός (DLS) και σχετικών πρωτογενών δεδομένων



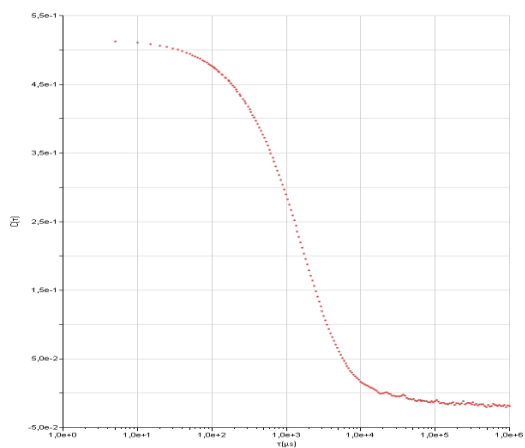
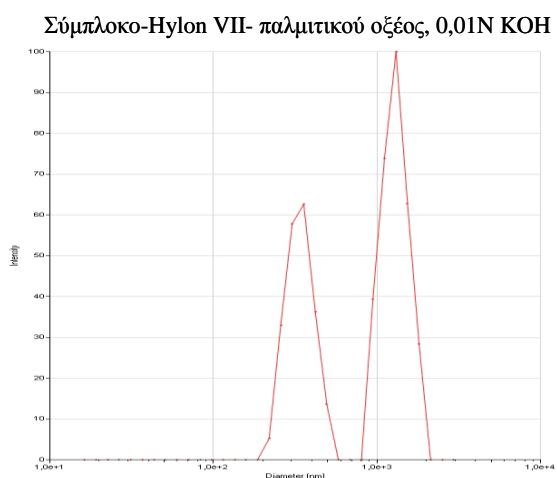
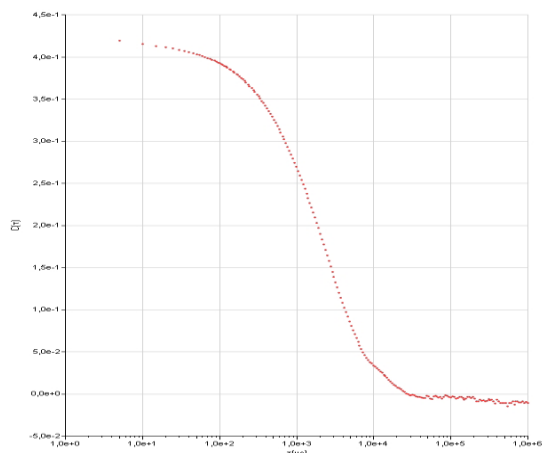
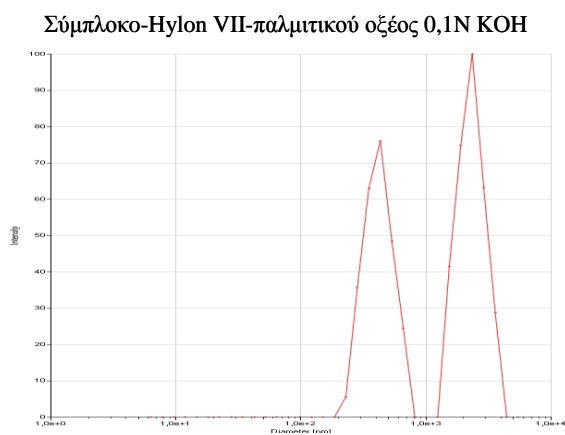
## A. ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΥΤΙΚΑ ΠΡΩΤΟΓΕΝΗ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

### A1 Φάσματα δυναμικής σκέδασης του φωτός (DLS) και σχετικών πρωτογενών δεδομένων



## Α. ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΥΤΙΚΑ ΠΡΩΤΟΓΕΝΗ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

### Α2 Ταλαντώσεις ηλεκτρικού πεδίου/κινητικότητα σωματιδίων



Σημείωση: Με συνεχή γραμμή δίνονται οι ταλαντώσεις του ηλεκτρικού πεδίου, με σημεία τα πειραματικά δεδομένα της κινητικότητας των σωματιδίων.



## ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΜΕ ΚΡΙΤΕΣ

- **Marinopoulou A.**, Papastergiadis, E., Raphaelides, S. N., & Kontominas M. G. (2016). Morphological characteristics, oxidative stability and enzymic hydrolysis of amylose-fatty acid complexes. *Carbohydrate Polymers*, 141, 106-115.
- **Marinopoulou A.**, Papastergiadis E., Raphaelides S. N. & Kontominas M. G. (2016). Structural characterization and thermal properties of amylose-fatty acid complexes prepared at different temperatures. *Food hydrocolloids*, 58, 224-234.