

ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΥΠΟΒΑΘΜΙΣΗΣ ΕΓΚΛΕΙΣΜΕΝΟΥ Β-ΚΑΡΟΤΕΝΙΟΥ ΣΕ ΙΝΕΣ ΑΠΟ ΜΙΓΜΑΤΑ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΟΡΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ ΠΟΥΛΛΟΥΛΑΝΗΣ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΗΛΕΚΤΡΟΣΤΑΤΙΚΗΣ ΙΝΟΠΟΙΗΣΗΣ (ELECTROSPINNING)

Χ. Δρόσου¹, Μ. Κροκίδα¹, Κ. Μπυλιαδέρης²

¹Σχολή Χημικών Μηχανικών, ΕΜΠ, Αθήνα, Ελλάδα

²Τμήμα Γεωπονίας, Σχολή Γεωπονίας, Δασολογίας και Φυσικού Περιβάλλοντος, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

(*cdrosou@chemeng.ntua.gr)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η ενθυλάκωση του β-καροτενίου σε ίνες πουλλουλάνης καθώς και σε μίγματα πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουλάνης μέσω της μεθόδου ομοαξονικής ηλεκτροστατικής ινοποίησης με σκοπό την ενίσχυση του χρόνου ζωής του και της σταθερότητάς του κατά τη διάρκεια μιας μεγάλης χρονικής περιόδου. Αρχικά, μελετήθηκε η επίδραση των παραμέτρων λειτουργίας της ηλεκτροστατικής ινοποίησης όπως η ροή του διαλύματος (2,0 – 2,4 mL/h), η ροή του β-καροτενίου (0,1 – 0,2 mL/h), η εφαρμοζόμενη τάση (19-23 kV) και η απόσταση μεταξύ του τριχοειδούς στομίου και του συλλογέα (17-19 cm) στην απόδοση εγκλεισμού μέσω του πειραματικού σχεδιασμού κεντρικού σημείου (Central Composite Design (CCD)). Η απόδοση εγκλεισμού κυμαινόταν από 71,16 ± 1,55 έως 97,12 ± 0,51 (%) και με βάση τα αποτελέσματα, η πιο σημαντική παράμετρος στην επίδραση της απόδοσης εγκλεισμού ήταν η ροή του β-καροτενίου καθώς αύξηση της ροής οδήγησε σε μείωση της απόδοσης. Η διάμετρος, η μορφολογία, οι αλλαγές στη μοριακή διάταξη των ινών προσδιορίστηκαν μέσω του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM) και της φασματοσκοπίας σάρωσης μειωμένης ολικής ανάκλασης (ATR-FTIR). Η διάμετρος των ινών ήταν της τάξης των 400 nm και η παρουσία του β-καροτενίου στις ίνες επιβεβαιώθηκε μέσω της φασματοσκοπίας ATR-FTIR. Επιπλέον, μελετήθηκαν οι ισόθερμες ρόφησης των ινών με εγκλεισμένο β-καροτένιο σε δυο θερμοκρασίες αποθήκευσης (25, 45°C) και προσδιορίστηκε η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (T_g). Η αύξηση του ποσοστού υγρασίας στις ίνες μείωσε το T_g . Τέλος, μελετήθηκε η κινητική υποβάθμισης του β-καροτενίου σε διάφορες συνθήκες υγρασίας και θερμοκρασίας καθώς και κατά την έκθεσή του σε UV-VIS ακτινοβολία. Η υποβάθμιση του β-καροτενίου ακολούθησε κινητική πρώτης τάξης και ο εγκλεισμός του στα φυσικά πολυμερή αύξησε τη σταθερότητά του και το χρόνο ζωής του. Συγκριτικά, οι ίνες από μίγματα πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουλάνης αποδείχθηκαν πιο αποτελεσματικές στην προστασία του β-καροτενίου σε σχέση με τις ίνες πουλλουλάνης κατά την έκθεσή του σε UV-VIS ακτινοβολία ενώ οι ίνες πουλλουλάνης οδήγησαν σε ελαφρώς αυξημένη διάρκεια ζωής του β-καροτενίου κατά την αποθήκευσή του σε διάφορες συνθήκες υγρασίας.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το β-καροτένιο αποτελεί ένα από τους κυριότερους τύπους καροτενοειδών και είναι μια έντονα κόκκινο πορτοκαλί χρωστική ουσία άφθονη σε διάφορα φυτά και φρούτα. Το β-καροτένιο, λόγω της έντονης βιολογικής του δράσης, χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τροφίμων ως πρόδρομος της βιταμίνης Α ή ως φυσική χρωστική. Ωστόσο, αποτελεί μια εξαιρετικά ασταθή ένωση η οποία υποβαθμίζεται εύκολα κατά την έκθεσή της σε φως, με την παρουσία οξυγόνου και από την θερμοκρασία^[1]. Έτσι, έχουν αναπτυχθεί διάφορες τεχνικές με σκοπό την αύξηση της σταθερότητάς του. Η ενθυλάκωση αποτελεί μια από τις σημαντικότερες τεχνικές για τη βελτίωση της σταθερότητάς του με σκοπό τη χρήση του στη βιομηχανία τροφίμων και σε συναφείς βιομηχανίες^[2]. Μια καινοτόμος μέθοδος ενθυλάκωσης αποτελεί η ηλεκτροστατική ινοποίηση η οποία χρησιμοποιείται για την παραγωγή μικρο και νανο ινών από διαλύματα τόσο συνθετικών όσο και φυσικών πολυμερών μέσω της εφαρμογής ενός ισχυρού ηλεκτρικού πεδίου μεταξύ ενός γειωμένου ή αντίθετα φορτισμένου στόχου και ενός διαλύματος πολυμερούς το οποίο αντλείται διαμέσου ενός μικρού τριχοειδούς στομίου^[3]. Η ηλεκτροστατική ινοποίηση έχει προσελκύσει

έντονο ενδιαφέρον καθώς οι ίνες που αναπτύσσονται παρουσιάζουν μοναδικές ιδιότητες, όπως υψηλό πορώδες, μεγάλη επιφάνεια ανά μονάδα μάζας, υψηλή διαπερατότητα αερίου, με τις περισσότερες από αυτές τις ιδιότητες να είναι αρκετά σημαντικές όταν οι ίνες χρησιμοποιούνται ως φορείς για την παράδοση των βιοδραστικών ενώσεων^[4]. Το πιο ενδιαφέρον πλεονέκτημα της μεθόδου αποτελεί η επίτευξη υψηλών αποδόσεων εγκλεισμού χωρίς την εφαρμογή θερμικής επεξεργασίας. Η απουσία θερμότητας αποτελεί βασικό πλεονέκτημα έναντι των υπολοίπων τεχνικών εγκλεισμού καθώς συμβάλλει στη διατήρηση της δομής και της αποτελεσματικότητας των βιοδραστικών ουσιών. Ως αποτέλεσμα, τα τελευταία χρόνια, η ηλεκτροστατική ινοποίηση έχει βρει εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων, φαρμάκων για την ενθυλάκωση βιοδραστικών ενώσεων, για την ακινητοποίηση ενζύμων, ως επικάλυψη σε τρόφιμα, ως επίστρωση σε ενεργή συσκευασία τροφίμων, κ.λπ.^[5].

Στην παρούσα εργασία, ο εγκλεισμός του β-καροτένιου θα πραγματοποιηθεί σε βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή όπως η πουλλουλάνη και η πρωτεΐνη ορού γάλακτος μέσω της ομοαξονικής ηλεκτροστατικής ινοποίησης για πιθανές εφαρμογές σε προϊόντα τροφίμων. Η πρωτεΐνη ορού γάλακτος χρησιμοποιείται ευρέως ως μήτρα για τον εγκλεισμό δραστικών ουσιών σε προϊόντα τροφίμων λόγω των λειτουργικών και θρεπτικών ιδιοτήτων της. Η παραγωγή νανοινών από πρωτεΐνες όμως παρουσιάζει δυσκολίες λόγω της σφαιρικής τους φύσης, του χαμηλού ιξώδους των υδατικών διαλυμάτων τους και της πιθανής έλλειψης σχηματισμού διαμοριακών δεσμών. Για το λόγο αυτό, με βάση τα αποτελέσματα προηγούμενης μελέτης, θα χρησιμοποιηθούν μίγματα πρωτεΐνη ορού γάλακτος και πουλλουλάνης για τη διευκόλυνση του σχηματισμού ινών μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης^[3]. Η επίδραση των παραμέτρων λειτουργίας της ηλεκτροστατικής ινοποίησης θα μελετηθεί με σκοπό την ανάπτυξη δομών με υψηλή απόδοση εγκλεισμού και οι ιδιότητες των δομών θα εξεταστούν. Επιπλέον, θα μελετηθεί η σταθερότητα του β-καροτένιου κατά την έκθεσή του σε UV-VIS ακτινοβολία και κατά την αποθήκευσή του σε διάφορες συνθήκες υγρασίας με σκοπό να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα της ηλεκτροστατικής ινοποίησης ως μέθοδο εγκλεισμού.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Υλικά

Σκόνη πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουλάνη IP 20 προμηθεύτηκαν από την εταιρεία Davisco Foods International Inc. (ΗΠΑ) και Hayashibara Biochemical Lab. Inc. (Ιαπωνία), αντίστοιχα. Το β-καροτένιο (Type I, synthetic, $\geq 93\%$ (UV), powder) αγοράστηκε από την εταιρεία Sigma Chemical Company (ΗΠΑ).

Παρασκευή και χαρακτηρισμός πολυμερικών διαλυμάτων

Με σκοπό την ανάπτυξη των ινών για την ενθυλάκωση του β-καροτένιου, παρασκευάστηκαν υδατικά διαλύματα πουλλουλάνης (pullulan) και μίγματος πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουλάνης (WPI:pu1) σε αναλογία 30:70 w/w, η οποία επιλέχθηκε με βάση τα αποτελέσματα προηγούμενης μελέτης^[3]. Η συνολική συγκέντρωση των πολυμερών στο διάλυμα διατηρήθηκε σταθερή, 20% w/v. Κάθε διάλυμα αναμίχθηκε σε μαγνητικό αναδευτήρα (M 6.1, Ingenieurbüro CAT, M. Zipperer GmbH, Ballrechten-Dottingen, Germany) για τουλάχιστον 4 h και 500 min⁻¹ σε θερμοκρασία δωματίου ώστε να εξασφαλιστεί η πλήρη διαλυτοποίηση των πολυμερών στο διάλυμα. Το β-καροτένιο διαλύθηκε σε καλαμποκέλαιο σε συγκέντρωση 0.25 mg/mL.

Οι ιδιότητες των διαλυμάτων που μετρήθηκαν ήταν το ιξώδες, η επιφανειακή τάση και η αγωγιμότητα. Το ιξώδες προσδιορίστηκε σε ιξωδόμετρο RHEOTEST RC1 (Medingen GmbH, Radeburg, Germany) όπου η διατμητική τάση (σ) μετρήθηκε ως συνάρτηση του ρυθμού διάτμησης ($\dot{\gamma}$) (0 έως 300 s⁻¹). Το ιξώδες των διαλυμάτων υπολογίστηκε στα 100 s⁻¹. Η επιφανειακή τάση των διαλυμάτων μετρήθηκε σε τενσιόμετρο EasyDyne K20 tensiometer (Krüss GmbH, Hamburg, Germany) με τη μέθοδο Du Nooy ring. Τέλος, η αγωγιμότητα των διαλυμάτων προσδιορίστηκε με το αγωγιμόμετρο Mi 180 Bench (Milwaukee Instruments, Inc., USA).

Εγκλεισμός β- καροτένιου σε ίνες πουλλουλάνης καθώς και σε μίγματα πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουλάνης μέσω της ομοαξονικής ηλεκτροστατικής ινοποίησης

Ο εγκλεισμός του β- καροτένιου σε ίνες πραγματοποιήθηκε στη συσκευή ηλεκτροστατικής ινοποίησης FluidNatek (BioInicia S.L., Spain), αποτελούμενη από παροχή υψηλής τάσης 0-30 kV μέσω της μεθόδου ομοαξονικής ηλεκτροστατικής ινοποίησης (coaxial electrospinning). Στην ομοαξονική μεθοδολογία, δύο ομόκεντρες βελόνες από ανοξείδωτο ατσάλι χρησιμοποιήθηκαν, εκ των οποίων η εσωτερική χρησιμοποιήθηκε για το υλικό του πυρήνα (διάλυμα β- καροτένιου) και η εξωτερική για το διάλυμα της μήτρας (διάλυμα πουλλουλάνης και μίγματος πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουλάνης) με αποτέλεσμα το πρόβλημα της μη αναμιξιμότητας να λύνεται. Οι βελόνες συνδέθηκαν μέσω σωληνίσκων PTFE σε πλαστικές σύριγγες χωρητικότητας 10 mL που περιείχαν το διάλυμα του πολυμερούς και του β- καροτένιου ξεχωριστά. Οι σύριγγες τοποθετήθηκαν οριζόντια πάνω σε 2 ψηφιακά ελεγχόμενες αντλίες, ενώ οι ομόκεντρες βελόνες προσανατολίστηκαν οριζόντια προς τον συλλογέα. Οι βελόνες συνδέθηκαν στο θετικό πόλο της συσκευής υψηλής τάσης. Οι ίνες συλλέχθηκαν πάνω σε αλουμινοχαρτο, το οποίο τοποθετήθηκε πάνω σε μία χάλκινη πλάκα (συλλογέας). Έπειτα από προκαταρκτικά πειράματα, ο συλλογέας ρυθμίστηκε σε απόσταση 17- 19 cm από την άκρη του τριχοειδούς σωλήνα, η εφαρμοζόμενη τάση στα 19- 23 kV, η ροή του διαλύματος κυμάνθηκε από 2,0 έως 2,4 mL/h και η ροή του β-καροτένιου από 0,1 έως 0,2 mL/h. Η επίδραση των παραπάνω παραμέτρων στην απόδοση εγκλεισμού β-καροτένιου στις ίνες μελετήθηκε μέσω του πειραματικού σχεδιασμού κεντρικού σημείου (Central Composite Design (CCD)).

Απόδοση εγκλεισμού: Η απόδοση εγκλεισμού του β- καροτένιου υπολογίστηκε ως προς το περιεχόμενο του β- καροτένιου στις ίνες με χρήση της παρακάτω σχέσης:

$$\%EE = \frac{\text{Ποσότητα } \beta\text{-καροτένιου στις ίνες}}{\text{Θεωρητική ποσότητα } \beta\text{-καροτένιου}} \quad (1)$$

Χαρακτηρισμός των ινών

Η διάμετρος, η μορφολογία, οι αλλαγές στη μοριακή διάταξη των ινών προσδιορίστηκαν μέσω του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM) και της φασματοσκοπίας σάρωσης μειωμένης ολικής ανάκλασης (ATR-FTIR). Τα πειράματα της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης πραγματοποιήθηκαν στη συσκευή SEM (Quanta 200, FEI, USA) σε επιταχυνόμενη τάση 12,5 kV αφού πρώτα τα δείγματα επιχρυσώθηκαν με μίγμα χρυσού και παλλαδίου υπό κενό. Οι αλλαγές στη μοριακή διάταξη μελετήθηκαν μέσω της συσκευής φασματοσκοπίας σάρωσης (FT/IR-4200, JASCO International Co., Ltd. Japan) η οποία περιλάμβανε τη μονάδα μειωμένης ολικής ανάκλασης (ATR PRO-410-S, JASCO International Co., Ltd. Japan). Τα δείγματα υποβλήθηκαν σε σάρωση σε μήκη κύματος μεταξύ 4000 και 700 cm^{-1} . Η κάθε μέτρηση αποτελούνταν από 32 σαρώσεις σε ανάλυση 4 cm^{-1} . Επιπλέον, μελετήθηκαν οι ισόθερμες ρόφησης των ινών με εγκλεισμένο β-καροτένιο έπειτα από διατήρησή τους σε ξηραντήρες με κορεσμένα διαλύματα άλατος ώστε να επιτευχθούν διάφορες σχετικές υγρασίες (aw: 0,11-0,95). Τα δεδομένα υγρασίας των δειγμάτων και σχετικής υγρασίας χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή των ισόθερμων ρόφησης και τα δεδομένα προσαρμόστηκαν στον μοντέλο Guggenheim-Anderson- DeBoer (GAB). Η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (T_g) προσδιορίστηκε έπειτα από εξισορρόπηση των ινών στους θαλάμους καθορισμένης υγρασίας μέσω της συσκευής διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (Pyris DSC-6 Perkin Elmer Ltd., Norwalk, USA). Τα δείγματα θερμάνθηκαν με σταθερό ρυθμό 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ υπό συνεχή ροή αερίου N_2 .

Μελέτη κινητικής υποβάθμισης β- καροτένιου κατά την έκθεσή του σε UV-VIS ακτινοβολία και κατά την αποθήκευσή του σε διάφορες συνθήκες υγρασίας

Με σκοπό τη μελέτη της κινητικής υποβάθμισης του β- καροτένιου κατά την έκθεσή του σε UV-VIS ακτινοβολία, οι ίνες με εγκλεισμένο β- καροτένιο καθώς και ελεύθερο β- καροτένιο τοποθετήθηκαν σε έναν θάλαμο με πυκνότητα ισχύος 1000 W m^{-2} (8 OSRAM-ultravitalux λάμπες, 300 W) για 600 min ώστε να επιταχυνθεί η οξειδωση του β- καροτένιου.

Επιπλέον, για τη μελέτη της κινητικής υποβάθμισης του β-καροτενίου κατά την αποθήκευσή του σε διάφορες συνθήκες υγρασίας, οι ίνες με εγκλεισμένο β-καροτένιο καθώς και ελεύθερο β-καροτένιο τοποθετήθηκαν σε θαλάμους με διάφορες σχετικές υγρασίες (a_w : 0,11-0,95) για 6 εβδομάδες και ανά διαστήματα λαμβάνονταν δείγματα με σκοπό την μελέτη της υποβάθμισης του συναρτήσει του χρόνου.

Το β-καροτένιο εκχυλίστηκε από τις ίνες και η οξειδωσή του ποσοτικοποιήθηκε μέσω φασματοφωτομετρίας UV-VIS στο μέγιστο απορρόφησής του (458 nm).

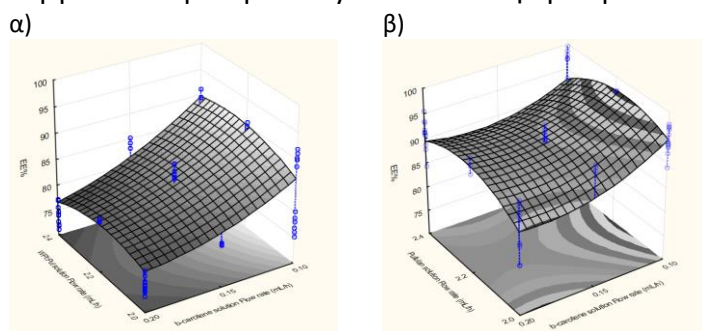
Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε μέσω του πακέτο λογισμικού STATISTICA (version 10, StatSoft® Inc., USA). Οι διαφορές μεταξύ των μέσων αξιολογήθηκαν χρησιμοποιώντας την δοκιμή Tukey ($\alpha = 0.05$).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Απόδοση εγκλεισμού β-καροτενίου σε ίνες πουλλουλάνης καθώς και σε μίγματα πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουλάνης συναρτήσει των συνθηκών λειτουργίας της ομοαξονικής ηλεκτροστατικής ινοποίησης

Η ηλεκτροστατική ινοποίηση προσφέρει τη δυνατότητα ανάπτυξης νανοδομών με υψηλές αποδόσεις εγκλεισμού έως της τάξης του 95%. Η ανάπτυξη δομών με υψηλή απόδοση εγκλεισμού έχει εξαιρετική σημασία όταν οι βιοδραστικές ενώσεις είναι επιρρεπείς στην οξειδωση καθώς έτσι ελαχιστοποιείται η έκθεσή τους στο οξυγόνο και αυξάνεται η σταθερότητά τους. Η απόδοση εγκλεισμού στην ηλεκτροστατική ινοποίηση εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από ένα σύνολο παραμέτρων που περιλαμβάνουν τις ιδιότητες του διαλύματος του πολυμερούς και τις συνθήκες λειτουργίας. Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκε ο εγκλεισμός του β-καροτενίου σε ίνες πουλλουλάνης και μίγματος πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουλάνης και εξετάστηκε η επίδραση των συνθηκών λειτουργίας, όπως ροή διαλύματος, τάση και απόσταση συλλογέα, στην απόδοση εγκλεισμού του β-καροτενίου. Η απόδοση εγκλεισμού χρησιμοποιώντας ως μήτρα την πουλλουλάνη κυμάνθηκε από $71,16 \pm 1,55$ έως $90,27 \pm 1,60$ (%) ενώ χρησιμοποιώντας ως μήτρα το μίγμα πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουλάνης από $80,30 \pm 0,10$ έως $97,12 \pm 0,51$ (%). Επομένως, η πουλλουλάνη οδήγησε στην ανάπτυξη δομών με υψηλότερη απόδοση εγκλεισμού συγκριτικά με το μίγμα πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουλάνης γεγονός που οφείλεται στις ιδιότητες των διαλυμάτων. Συγκεκριμένα, τα διαλύματα πουλλουλάνης παρουσίασαν μεγαλύτερο ιξώδες ($3,67 \pm 0,04$ Pa s) και μικρότερη αγωγιμότητα ($0,35 \pm 0,02$ mS/cm) συγκριτικά με το μίγμα πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουλάνης ($0,59 \pm 0,01$ Pa s και $0,60 \pm 0,02$ mS/cm) με αποτέλεσμα την δημιουργία σταθερότερου Taylor cone και φορτισμένου αεριοθούμενου (jet).



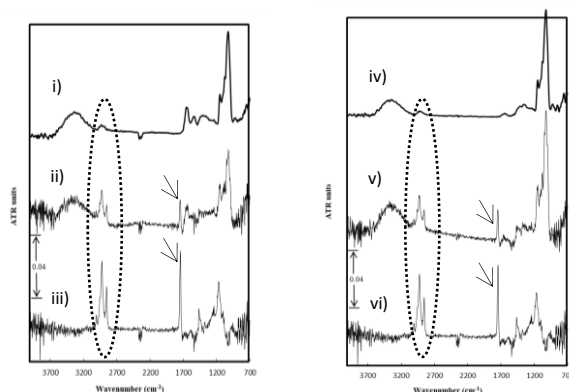
Σχήμα 1. Απόδοση εγκλεισμού β-καροτενίου συναρτήσει της ροής του διαλύματος πολυμερούς και β-καροτενίου σε ίνες α) μίγματος πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουλάνης και β) πουλλουλάνης.

Επιπλέον, με βάση τα αποτελέσματα της μελέτης της επίδρασης των παραμέτρων λειτουργίας στην απόδοση εγκλεισμού, η πιο σημαντική παράμετρος αποτελεί η ροή του β-καροτενίου καθώς αύξηση της ροής οδήγησε σε μείωση της απόδοσης, όπως απεικονίζεται στο Σχήμα 2, τόσο στις ίνες πουλλουλάνης όσο και στις ίνες μίγματος πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουλάνης.

Εφαρμογή της τεχνικής ATR-FTIR για επιβεβαίωση του εγκλεισμού

Η εφαρμογή της τεχνικής ATR-FTIR, παρέχοντας πληροφορίες σχετικά με τους χημικούς δεσμούς,

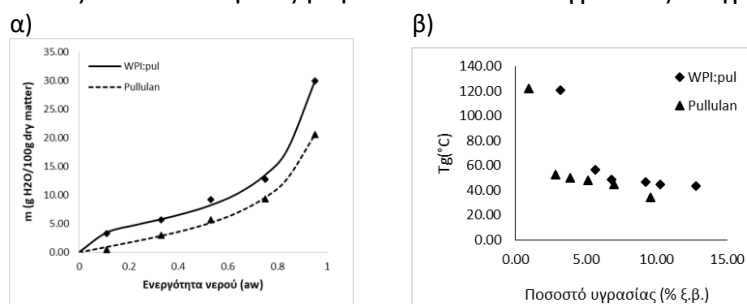
επιτρέπει τον έλεγχο της παρουσίας της προς εγκλεισμό ουσίας στο σύστημα καθώς την επιβεβαίωση του εγκλεισμού. Στο Σχήμα 2 παρουσιάζονται τα φάσματα της φασματοσκοπίας σάρωσης για τις ίνες πουλλουάνης και μίγματος πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουάνης χωρίς και με την παρουσία εγκλεισμένου β-καροτενίου και του διαλύματος β-καροτενίου. Στα φάσματα των ινών χωρίς την παρουσία του β-καροτενίου παρατηρούνται κορυφές στους κυματάρθμους 1642 και 1527 cm^{-1} καθώς και στους 858 cm^{-1} και 920 cm^{-1} , οι οποίοι είναι χαρακτηριστικοί για την πρωτεΐνη και την πουλλουάνη, αντίστοιχα. Στο φάσμα του διαλύματος β-καροτενίου, οι κορυφές στα 2923 και 2851 cm^{-1} υποδηλώνουν την συμμετρική και αντισυμμετρική δόνηση τάσης της μεθυλενικής ομάδας ($-\text{CH}_2-$), αντίστοιχα, ενώ η κορυφή στα 1744 cm^{-1} παρουσιάζει την ύπαρξη ομάδων καρβονυλίου. Συγκρίνοντας τα φάσματα των ινών παρουσία και μη του β-καροτενίου, επιβεβαιώνεται η ύπαρξή του στις ίνες λόγω της παρουσίας των χαρακτηριστικών κορυφών του β-καροτενίου στα φάσματα των ινών.



Σχήμα 2. Φασματοσκοπίας σάρωσης i) ινών μίγματος πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουάνης, ii) ινών μίγματος πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουάνης με εγκλεισμένο β-καροτένιο, iii) διαλύματος β-καροτενίου iv), ινών πουλλουάνης v), ινών πουλλουάνης με εγκλεισμένο β-καροτένιο και vi) διαλύματος β-καροτενίου.

Προσδιορισμός ισόθερμων ρόφησης και θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης των ινών

Οι ισόθερμες ρόφησης περιγράφουν τη σχέση μεταξύ της ενεργότητας του νερού (a_w) και της υγρασίας ισορροπίας ενός τροφίμου. Η μελέτη των ισόθερμων ρόφησης του εγκλεισμένου β-καροτενίου σε ίνες πουλλουάνης και μίγματος πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουάνης, όπως παρατηρείται και στο Σχήμα 3, α), οδήγησε στο συμπέρασμα ότι οι ίνες παρουσία της πρωτεΐνης ορού γάλακτος σημείωσαν υψηλότερα ποσοστά υγρασίας για όλες τις τιμές σχετικής υγρασίας. Επιπλέον, σύμφωνα με το Σχήμα 3, β), η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης κυμάνθηκε από 35°C έως 120°C και η αύξηση του ποσοστού υγρασίας οδήγησε σε μείωση του T_g .

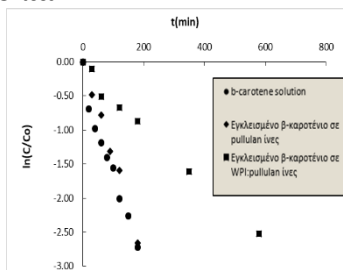


Σχήμα 3. α) Ισόθερμες ρόφησης για το β-καροτένιο εγκλεισμένο σε ίνες μίγματος πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουάνης (Θερμοκρασία αποθήκευσης 25°C, a_w : 0.11 -0.95), β) Θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης συναρτήσεως του ποσοστού υγρασίας των ινών.

Μελέτη της κινητικής υποβάθμισης β-καροτενίου κατά την έκθεσή του σε UV-VIS ακτινοβολία και κατά την αποθήκευσή του σε διάφορες συνθήκες υγρασίας

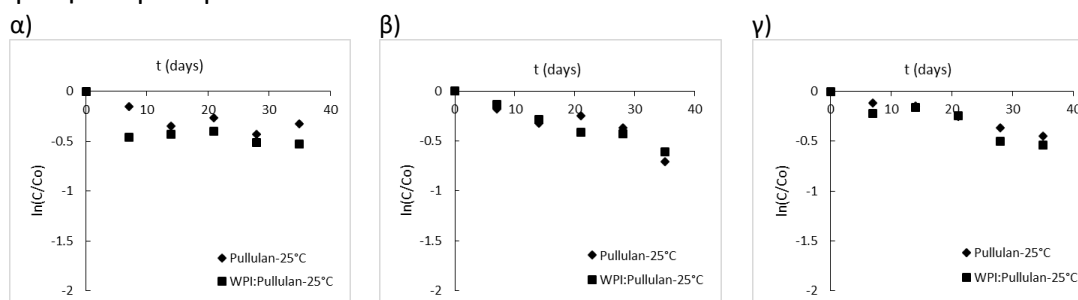
Η σταθερότητα του β-καροτενίου εγκλεισμένο σε ίνες συγκρίθηκε με τη σταθερότητα του καθαρού, μη εγκλεισμένου β-καροτενίου κατά την έκθεσή του σε UV-VIS ακτινοβολία. Με βάση το Σχήμα 4, η υποβάθμιση του β-καροτενίου ακολούθησε κινητική πρώτης τάξης και συγκριτικά, οι

ίνες από μίγματα πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουάνης αποδείχθηκαν πιο αποτελεσματικές στην προστασία του β- καροτένιου σε σχέση με τις ίνες πουλλουάνης κατά την έκθεσή του σε UV-VIS ακτινοβολία. Συγκεκριμένα, οι χρόνοι ημίσειας ζωής για το ελεύθερο β- καροτένιο και το εγκλεισμένο σε ίνες πουλλουάνης και μίγματος πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουάνης ήταν 43.3, 48.5, 154.0 min, αντίστοιχα, γεγονός που αποδεικνύει ότι οι ίνες πουλλουάνης δεν παρέχουν προστασία από την UV-VIS ακτινοβολία.



Σχήμα 4. Κινητική υποβάθμισης β- καροτένιου κατά την έκθεση σε UV-Vis ακτινοβολία.

Στο Σχήμα 5 παρουσιάζεται η κινητική υποβάθμισης του β- καροτένιου κατά την αποθήκευσή του σε διάφορες συνθήκες υγρασίας. Οι ίνες πουλλουάνης οδήγησαν σε ελαφρώς αυξημένη διάρκεια ζωής του β- καροτένιου κατά την αποθήκευσή του σε διάφορες συνθήκες υγρασίας γεγονός που οφείλεται στην αυξημένη απόδοση εγκλεισμού συγκριτικά με τις ίνες του μίγματος πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουάνης και στα μεγαλύτερα ποσοστά υγρασίας των ινών παρουσία της πρωτεΐνης. Συγκεκριμένα, η αυξημένη υγρασία στις ίνες οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωσης σε οξυγόνο και σε αύξηση της κινητικής υποβάθμισης καθώς η παρουσία οξυγόνου επιταχύνει την υποβάθμιση του β- καροτένιου.



Σχήμα 5. Κινητική υποβάθμισης β- καροτένιου κατά την αποθήκευσή του σε συνθήκες σχετικής υγρασίας α) 11%, β) 53% και γ) 95%.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ενθυλάκωση του β- καροτένιου σε ίνες πουλλουάνης καθώς και σε μίγματα πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουάνης μέσω της μεθόδου ομοαξονικής ηλεκτροστατικής ινοποίησης με σκοπό την ενίσχυση του χρόνου ζωής του και της σταθερότητάς του κατά τη διάρκεια μιας μεγάλης χρονικής περιόδου. Η υποβάθμιση του β- καροτένιου ακολούθησε κινητική πρώτης τάξης και ο εγκλεισμός του στα φυσικά πολυμερή αύξησε τη σταθερότητά του και το χρόνο ζωής του. Συγκριτικά, οι ίνες από μίγματα πρωτεΐνης ορού γάλακτος και πουλλουάνης αποδείχθηκαν πιο αποτελεσματικές στην προστασία του β- καροτένιου σε σχέση με τις ίνες πουλλουάνης κατά την έκθεσή του σε UV-VIS ακτινοβολία ενώ οι ίνες πουλλουάνης οδήγησαν σε ελαφρώς αυξημένη διάρκεια ζωής του β- καροτένιου κατά την αποθήκευσή του σε διάφορες συνθήκες υγρασίας.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Οι συγγραφείς θα ήθελαν να ευχαριστήσουν το Ίδρυμα Ευγενίδου για την οικονομική στήριξη.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Fernandez A., Torres-Giner S., Lagaron J.M. Food Hydrocoll. (2009) 23(5): 1427–1432.
- [2] Drosou C, Krokida M, Biliaderis C. Dry. Technol. (2017) 35(2):139-162.
- [3] Drosou, C., Krokida, M., & Biliaderis, C. Food Hydrocoll. (2018) 77: 726-735
- [4] Anu Bhushani, J.; Anandharamakrishnan, C. Trends Food Sci Technol. (2014) 38(1), 21–33
- [5] Bhardwaj, N.; Kundu, S.C. Biotechnol Adv. (2010) 28(3), 325–347