



ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Προσρόφηση Ασβεστίου σε
Λιποσφαιρίδια Γαλακτωμάτων
Καλυμμένα με Καζεϊνικό Νάτριο**

Λέλης Αντώνιος

A.M 2543

2010

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα (ΑΤΕΙ), Σχολή
ΣΤΕΤΡΟ-Δ, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, Θεσσαλονίκη.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή μου κ.Χ. Ριτζούλη για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγησή του στην πτυχιακή εργασία μου. Θερμές ευχαριστίες στον κ.Γ. Καλατζάκη για την πολύτιμη βοήθεια για τον Προσδιορισμός του ασβεστίου με ατομική απορρόφηση.

Περίληψη

Η κατανομή των ιόντων ασβεστίου στη διεπιφάνεια γαλακτωμάτων λαδιού σε νερό σταθεροποιημένων με καζεϊνικό νάτριο μελετήθηκε με την έκθεση των εν λόγω γαλακτωμάτων σε διαλύματα χλωριούχου ασβεστίου, φυγοκέντρωση, παραλαβή και ποσοτικό προσδιορισμό του μη-προσροφημένου ασβεστίου με τη χρήση φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης. Κατά την καλύτερη πληροφόρησή μας, αυτή είναι η πρώτη συστηματική μελέτη της προσρόφησης ασβεστίου σε στρώματα καζεϊνικών για πραγματικά γαλακτώματα.

Τα αποτελέσματα μπορούν να προσαρμοσθούν στην ισόθερμη του Langmuir, όχι όμως αυτή του Freundlich. Η προσαρμογή την ισόθερμη του Langmuir συνηγορεί υπέρ της άποψης ότι υπεύθυνες για την αλληλεπίδραση καζεϊνικού και ασβεστίου είναι μεμονωμένες φορτισμένες θέσεις, με πιθανότερη τη φωσφοσερίνη ή/και τις μονάδες υδροξυαπατίτη/κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου των καζεϊνών.

Περιεχόμενα

1. Θεωρητικό μέρος	Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.
1.1. Γαλακτώματα	1
1.1.1. Γαλακτωματοποιητές	3
1.2. Ο ρόλος των πρωτεϊνών στα γαλακτώματα	3
1.2.1. Θερμική αποσταθεροποίηση γαλακτωμάτων	4
1.2.2. Προσρόφηση των πρωτεϊνών σε διεπιφάνειες ελαίου-νερού	5
1.2.3. Ο ρόλος των προσροφημένων πρωτεϊνών στη σταθεροποίηση του γαλακτώματος	7
1.2.4. Ανταγωνιστική προσρόφηση τασενεργών και πρωτεϊνών σε Διεπιφάνειες	8
1.3. Προσρόφηση	9
1.3.1. Μηχανισμοί προσρόφησης	10
1.3.2. Ισόθερμες Langmuir, Freundlich	11
2. Υλικά- Μέθοδοι	13
2.1. Υλικά	13
2.2. Συσκευές-Όργανα	13
2.3. Παρασκευή γαλακτωμάτων – πειράματα προσρόφησης	14
2.4. Προσδιορισμός του ασβεστίου με ατομική απορρόφηση	15
2.5. Αποτελέσματα– Συζήτηση	18
3. Συμπεράσματα	23
4. Παράρτημα	24
5. Βιβλιογραφία	26

1. Θεωρητικό μέρος

1.1. Γαλακτώματα

Γαλακτώματα είναι τα μικροετερογενή συστήματα, τα οποία αποτελούνται από τουλάχιστον ένα μη αναμείξιμο υγρό διασπαρμένο σε ένα άλλο υπό μορφή σταγόνων, των οποίων οι διάμετροι είναι συνήθως μεταξύ 0,1 και 100 μm . Τα συστήματα αυτά παρουσιάζουν μία ελάχιστη σταθερότητα η οποία μπορεί να ενισχυθεί με την προσθήκη κατάλληλων ουσιών που ονομάζονται γαλακτωματοποιητές. Η παρασκευή και η χρήση γαλακτωμάτων συνυπάρχει σχεδόν σε όλες τις πλευρές της ζωής μας, από την τροφή μέχρι τα φαρμακευτικά σκευάσματα ή τα καλλυντικά.

Τα γαλακτώματα, όπως τα ορίσαμε παραπάνω, αναφέρονται ως μακρογαλακτώματα για να τα διακρίνουμε από τα μικρογαλακτώματα. Στα μικρογαλακτώματα οι διάμετροι των διασπαρμένων μικροφάσεων είναι μεταξύ 0,005 και 0,1 μm . Λόγω αυτού του μικρού μεγέθους των διασπαρμένων σταγονιδίων τα μικρογαλακτώματα εμφανίζονται διαφανή. Η σταθεροποίησή τους γίνεται με μία σχετικά μεγάλη ποσότητα κατάλληλων επιφανειοδραστικών. Τα μικρογαλακτώματα είναι θερμοδυναμικά σταθερά συστήματα, καθώς σχηματίζονται αυθόρμητα και εμφανίζουν μία μακροχρόνια σταθερότητα κατά την διάτμηση. Λόγω αυτής της σταθερότητας τα μικρογαλακτώματα είναι μία περιοχή έντονης ερευνητικής δραστηριότητας με πολύ σημαντικές εφαρμογές όπως τα σκευάσματα καθαρισμού και καλλυντικών, η λίπανση, η τριτοταγής εξόρυξη πετρελαίου κ.α. (Παναγιώτου, 1998)

Εκτός από τον σχηματισμό των απλών γαλακτωμάτων, είναι δυνατός και ο σχηματισμός γαλακτωμάτων πολλαπλής φάσης του είδους o/w/o ή w/o/w, όπου συνυπάρχουν οι δύο

κατηγορίες γαλακτώματος ελαίου σε νερό (o/w) και νερού σε έλαιο (w/o).

Οι όροι που σχετίζονται με τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων είναι η ρήξη (breaking), η συνένωση (coalescence), η κρέμωση (creaming) και η θρόμβωση (flocculation) του γαλακτώματος (Florence and Whitehill, 1981).

- **Ρήξη:** ρήξη ενός γαλακτώματος είναι ο σαφής διαχωρισμός του σε δύο ογκώδεις φάσεις.
- **Συνένωση:** είναι η διαδικασία της συγχώνευσης δύο σταγόνων σε μία μεγαλύτερη σε όγκο αλλά μικρότερη σε επιφάνεια.
- **Θρόμβωση:** αναφέρεται στη σύμφυση ή συγκόλληση σταγόνων με σχηματισμό χαλαρών δομών τύπου τσαμπιού σταφυλιού. Σε πολλές περιπτώσεις η θρόμβωση είναι μία αντιστρεπτή διεργασία.
- **Κρέμωση:** παρατηρείται με το χρόνο σχεδόν σε όλα τα γαλακτώματα, στα οποία υπάρχει μία διαφορά πυκνοτήτων στις δύο φάσεις και συχνά είναι μία αντιστρεπτή διεργασία.

Σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις τουλάχιστον η μία υγρή φάση σε ένα γαλακτώμα είναι το νερό. Συνηθίζεται τα γαλακτώματα να αναφέρονται είτε ως γαλακτώματα ελαίου σε νερό O/W (oil-in-water) ή νερού σε έλαιο W/O (water-in-oil), όπου η πρώτη αναφερόμενη φάση είναι η φάση διασποράς και η δεύτερη η συνεχής φάση. (Παναγιώτου, 1998)

1.1.1. Γαλακτωματοποιητές

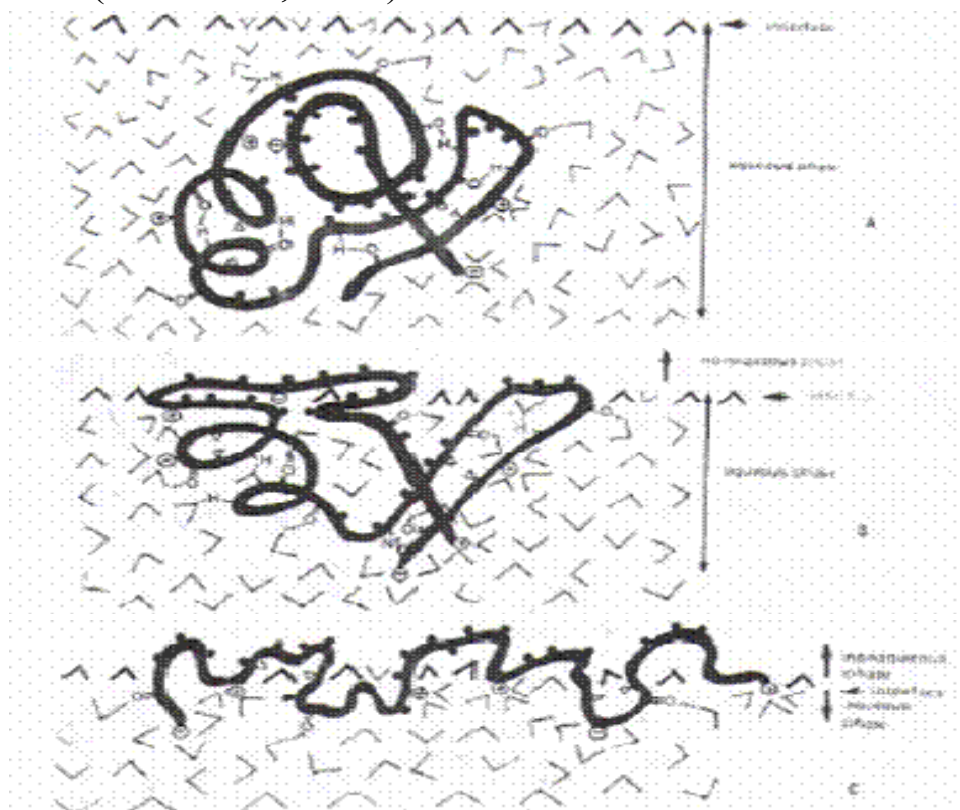
Οι γαλακτωματοποιητές είναι ουσίες με ένα υδρόφιλο και ένα λιπόφιλο πόλο. Χάρη στη φύση τους αυτή σταθεροποιούν γαλακτωματούχα τρόφιμα, όπως η μαργαρίνη, η μαγιονέζα και οι σάλτσες για σαλάτα. Η λεκιθίνη και τα μονό-και διγλυκερίδια είναι φυσικοί γαλακτωματοποιητές και γνωρίζουν ευρεία χρήση στη βιομηχανία τροφίμων. Άλλοι γαλακτωματοποιητές είναι ορισμένα άλατα λιπαρών οξέων, λιπαροί εστέρες της σορβιτάνης, ζαχαροεστέρες κ.ά. στην ομάδα αυτή ανήκουν και τα τασίδια που διαλύουν αφρούς.

Οι γαλακτωματοποιητές διακρίνονται, σε αυτούς που διευκολύνουν το σχηματισμό του γαλακτώματος και συμβάλουν στη σταθερότητά του, σε αυτούς που τροποποιούν τη δομή και τις ρεολογικές ιδιότητες των τροφίμων μέσω αλληλεπιδράσεων με πολυσακχαρίτες ή με πρωτεΐνες, και σε αυτούς που αλλάζουν τη μορφολογία των λιπιδικών κρυστάλλων μετά από αλληλεπίδραση με τα τριγλυκερίδια. (Dickinson and McClements, 1995)

1.2. Ο ρόλος των πρωτεϊνών στα γαλακτώματα

Οι πρωτεΐνες είναι απαραίτητα συστατικά για κάθε ζωντανό οργανισμό και χρησιμεύουν στο σχηματισμό και την αναγέννηση των ιστών ή δρουν ως βιοκαταλύτες (ένζυμα, ορμόνες). Εκτός από την πολύ μεγάλη διατροφική τους αξία χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα γιατί προσδίδουν σε αυτά επιθυμητές φυσικοχημικές ιδιότητες. Το σύνολο αυτό των φυσικοχημικών ιδιοτήτων που μπορεί να παρουσιάζει ένα σύστημα, εξαιτίας της παρουσίας των πρωτεϊνών, αναφέρεται ως λειτουργικότητα των πρωτεϊνών. Σε αυτές ανήκουν η διαλυτότητα, το ιζώδες, η ικανότητα συγκράτησης νερού και

σχηματισμού πηκτών και η ικανότητα των πρωτεϊνικών μορίων να προσροφώνται σε διεπιφάνειες, σχηματίζοντας ένα ιξωδοελαστικό υμένιο, γεγονός που οδηγεί στη δημιουργία σταθερών γαλακτωμάτων. Στη λειτουργικότητα των πρωτεϊνών οφείλεται η χαρακτηριστική υφή και οι ρεολογικές ιδιότητες που παρουσιάζει ένας μεγάλος αριθμός προϊόντων όπως η μαγιονέζα, τα εμβάσματα σαλάτας (salad dressings), οι κρέμες κ.α. (Dickinson, 1992)



Εικόνα1. Σχηματική απεικόνιση της διαμόρφωσης της επιφάνειας μιας πρωτεΐνης στη διεπιφάνεια του γαλακτώματος

1.2.1. Θερμική αποσταθεροποίηση γαλακτωμάτων

Ο ρόλος των πρωτεϊνών σε ένα γαλάκτωμα μετά τον σχηματισμό του, είναι κυρίως η παρεμπόδιση των φαινομένων αποσταθεροποίησης. Η επίδραση των πρωτεϊνών στη σταθερότητα των γαλακτωμάτων εξαρτάται από πολλούς

παράγοντες, όπως είναι η τιμή pH, η παρουσία τασενεργών ή αλάτων και η θερμοκρασία. Η επίδραση της θερμοκρασίας στη συμπεριφορά του γαλακτώματος είναι ιδιαίτερα σημαντική, εφόσον ένα γαλάκτωμα μπορεί να υποστεί θερμική επεξεργασία σε πολλές πρακτικές εφαρμογές, όπως το μαγείρεμα, η παστερίωση ή η αποστείρωση. Η θερμοκρασία στην οποία επέρχονται μεταβολές σε ένα γαλάκτωμα, εξαρτάται από τη θερμοκρασία στην οποία μετουσιώνεται η πρωτεΐνη που το σταθεροποιεί. (Srinivasan *et al.*, 2003, McSweeney *et al.*, 2004)

1.2.2. Προσρόφηση των πρωτεϊνών σε διεπιφάνειες ελαίου-νερού

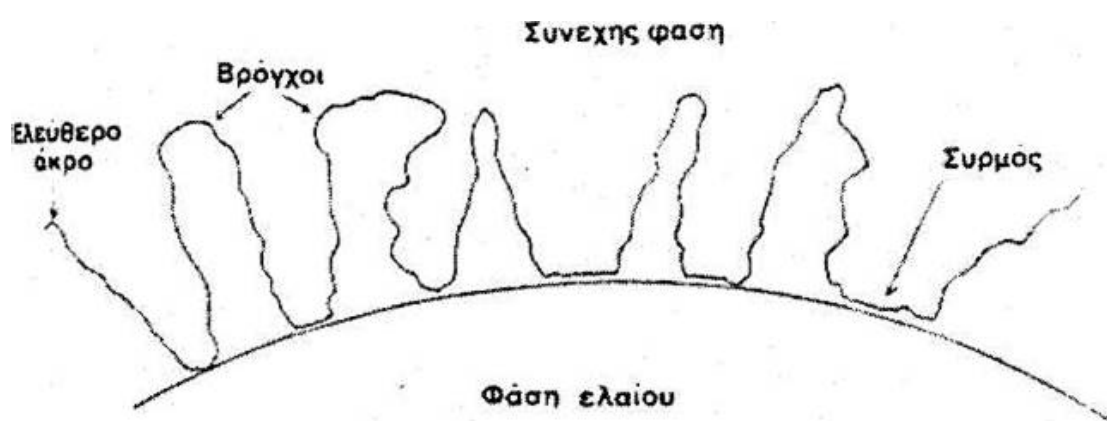
Κατά τη δημιουργία ενός γαλακτώματος, οι πρωτεΐνες λειτουργούν ως γαλακτωματοποιητές, προσροφώνται στην επιφάνεια των σταγονιδίων του ελαίου με τα υδρόφοβα τμήματά τους. Καθώς τα πρωτεϊνικά μόρια προσροφώνται, ξεδιπλώνονται και αναδιατάσσονται σε μία κατάσταση ελάχιστης ελεύθερης ενέργειας με αποτέλεσμα την ελάττωση της διεπιφανειακής τάσης (Dickinson, 1992).

Ως **επιφανειακή τάση** ορίζεται το σύνολο των δυνάμεων που ασκούνται στην επιφάνεια ενός υγρού λόγω ασύμμετρης έλξης των επιφανειακών μορίων με συνέπεια την ελάττωση της επιφάνειας του υγρού. **Ο συντελεστής επιφανειακής τάσης** (γ) ορίζεται το έργο που απαιτείται για την αύξηση του εμβαδού της επιφάνειας ενός υγρού κατά μία μονάδα.

Η σταθεροποίηση του γαλακτώματος συνδέεται με τη δημιουργία μίας στοιβάδας προσροφημένων μορίων

πρωτεΐνης στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού. Ένα τυπικό υμένιο σε ένα γαλάκτωμα, δεν περιέχει συνήθως μία μόνο συγκεκριμένη πρωτεΐνη, αλλά ένα μίγμα πρωτεϊνικών μορίων. Επίσης είναι δυνατόν να περιέχει χαμηλού μοριακού βάρους τασενεργά, όπως πολικά λιπίδια, τα οποία προέρχονται από το έλαιο και πιθανόν άλλους γαλακτωματοποιητές. Τασενεργές ουσίες ονομάζονται μόνον αυτές που προκαλούν ελάττωση της επιφανειακής τάσης των καθαρών υγρών, όταν διαλύονται σ' αυτά. Όλα τα απορρυπαντικά είναι τέτοιες τασενεργές ουσίες (Damodaran *et al.*, 1989).

Οι πρωτεΐνες καλύπτουν μία διεπιφάνεια στο μέγιστο δυνατό βαθμό, λόγω του μεγάλου μεγέθους και της ακανόνιστης δομής τους ακόμη και όταν η συγκέντρωσή τους στο διάλυμα είναι σχετικά χαμηλή. Σύμφωνα με την επικρατέστερη θεωρία για τη δομή των πρωτεϊνών στη διεπιφάνεια μόνο ένα μέρος των τμημάτων του πρωτεϊνικού μορίου βρίσκεται σε άμεση επαφή με τη διεπιφάνεια. Τα υπόλοιπα τμήματα του μορίου εκτείνονται προς τη φάση του διαλύματος δημιουργώντας μία περιοχή κοντά στη διεπιφάνεια με πολλαπλάσιο πάχος σε σχέση με το πάχος της πρωτεϊνικής αλυσίδας.



Εικόνα 2. Δομή προσροφημένων μορίων πρωτεϊνών στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού (Dickinson, 1992).

Σύμφωνα με το παραπάνω μοντέλο υπάρχουν τρεις τρόποι διάταξης των τμημάτων μίας πρωτεΐνης: α) οι "συρμοί" (trains) που αποτελούν τα τμήματα που έρχονται σε άμεση επαφή με τη διεπιφάνεια, β) οι "βρόγχοι" (loops) και γ) οι "ουρές" ή ελεύθερα άκρα (tails) που εκτείνονται προς την υδατική φάση. Παράδειγμα που επιβεβαιώνει την παραπάνω θεωρία αποτελεί η β-καζεΐνη, ένα σχετικά ευέλικτο πρωτεϊνικό μόριο. Όταν η διεπιφανειακή πίεση είναι χαμηλή το 1/3 περίπου των μορίων της καζεΐνης απαντούν στην επιφάνεια με τη μορφή συρμών ενώ τα υπόλοιπα τμήματα ως βρόγχοι και "ουρές" που εκτείνονται είτε προς την υδατική είτε προς τη λιπαρή φάση, ανάλογα με το πόσο υδρόφοβο ή υδρόφιλο είναι το τμήμα. Πάντως, είναι αδύνατο να υπάρχει βρόγχος που να βρίσκεται στην υδατική φάση χωρίς να περιέχει και κάποια υδρόφοβα τμήματα, όπως φυσικά και το αντίθετο (Dickinson, 1992).

1.2.3. Ο ρόλος των προσροφημένων πρωτεϊνών στη σταθεροποίηση του γαλακτώματος

Η προσρόφηση των πρωτεϊνών στην επιφάνεια των σταγονιδίων συνδέεται με τη δυνατότητά τους να παρεμποδίζουν τη συσσωμάτωση και τη συγχώνευση των σταγονιδίων. Η δράση τους αποδίδεται κυρίως στην ενίσχυση των ηλεκτροστατικών και πολυμερικών απώσεων που υφίστανται ανάμεσα στα σταγονίδια αν και είναι πιθανό η σταθεροποίηση αυτή να οφείλεται και σε δυνάμεις ενυδάτωσης. Τα μόρια των πρωτεϊνών που σχηματίζουν μία ιξωδοελαστική στοιβάδα με δομή πηκτής στη διεπιφάνεια, η οποία αποδίδεται σε εκτεταμένες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των προσροφημένων πρωτεϊνικών μορίων, συμβάλουν αποτελεσματικότερα στη

σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων , σε σχέση με τις πρωτεΐνες που έχουν περισσότερο χαλαρές και ευκίνητες δομές. Η σταθερότερη αυτή ιξωδοελαστική στοιβάδα, εμποδίζει τη διάρρηξη της επιφάνειας των σταγονιδίων και κατά επέκταση τη συγχώνευση. Ένας γενικός κανόνας που ισχύει είναι ότι η συγχώνευση των σταγονιδίων των γαλακτωμάτων μπορεί να αποφευχθεί όταν υπάρχουν περισσότερες αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης στη διεπιφάνεια. (Dickinson and Stainsby, 1982).

1.2.4. Ανταγωνιστική προσρόφηση τασενεργών και πρωτεϊνών σε Διεπιφάνειες

Στα συστήματα τροφίμων όπως τα γαλακτώματα, μία πρωτεΐνη συχνά ανταγωνίζεται για την κατάληψη χώρου στη διεπιφάνεια με άλλα επιφανειοδραστικά συστατικά του συστήματος, όπως άλλες πρωτεΐνες ή χαμηλού μοριακού βάρους γαλακτωματοποιητές. Σε γενικές γραμμές, η προσρόφηση μίας πρωτεΐνης στη διεπιφάνεια ελαίου/νερού ευνοείται, από θερμοδυναμική άποψη, όσο μεγαλύτερη είναι η ικανότητά της να ελαττώνει την διεπιφανειακή τάση. Για το λόγο αυτό η προσρόφηση πρωτεϊνών με ευέλικτη δομή, όπως η β-καζεΐνη, ευνοείται έναντι αυτής των σφαιροπρωτεϊνών. Τα μόρια των σφαιροπρωτεϊνών όμως, όταν προσροφώνται πρώτα στη διεπιφάνεια, εκτοπίζονται πολύ δύσκολα από άλλες πρωτεΐνες, ιδιαίτερα όταν έχει παρέλθει αρκετό διάστημα ώστε να ολοκληρωθεί πλήρως η προσρόφηση τους. Με την πάροδο του χρόνου είναι δυνατή η δημιουργία δικτυωτής δομής ανάμεσα στα προσροφημένα μόρια των πρωτεϊνών στη διεπιφάνεια, στην οποία μπορεί να συμβάλλουν και δισουλφιδικοί δεσμοί, όπως ακριβώς συμβαίνει κατά τη δημιουργία μίας πηκτής (McClements *et al.*, 1993).

Όταν η συγκέντρωση του τασενεργού σε ένα γαλάκτωμα ξεπεράσει μία ορισμένη κρίσιμη συγκέντρωση σχηματίζονται και μικκύλια. Η συγκέντρωση αυτή είναι γνωστή ως κρίσιμη συγκέντρωση σχηματισμού μικκυλίου, CMC (critical micelle concentration).

1.3. Προσρόφηση

Η προσρόφηση είναι μια διεργασία κατά την οποία μία ουσία αυξάνει τη συγκέντρωσή της σε μία διεπιφάνεια μεταξύ δύο φάσεων. Οι συνδυασμοί αυτών των φάσεων μπορεί να είναι: υγρού – υγρού, υγρού – στερεού, αερίου – υγρού ή αερίου –στερεού. Η χημική ουσία που συγκεντρώνεται ή προσροφάτε στη διεπιφάνεια ονομάζεται προσρόφημα και η φάση στην επιφάνεια της οποίας γίνεται η προσρόφηση ονομάζεται προσροφητής.

Όταν ένα αραιό διάλυμα μιας τασιενεργού ουσίας έρθει σε επαφή με μία μεγάλη προσροφητική στερεά επιφάνεια, τότε θα λάβει χώρα μία εκτεταμένη προσρόφηση και σαν επακόλουθο μία μείωση της συγκέντρωσης του διαλύματος. Για να υπάρξει μεγάλη προσροφητική επιφάνεια το στερεό προσροφητικό θα πρέπει να καταταμηθεί σε πολύ μικρά σωματίδια ή να είναι πολύ πορώδες. Για να υπολογίσουμε το ποσό της ουσίας που έχει προσροφηθεί ανά γραμμάριο προσροφητικού, χρειάζεται να ξέρουμε τη μεταβολή της σύστασης του διαλύματος και το συνολικό βάρος του διαλύματος και του προσροφητικού. Αν ξέρουμε και την συνολική επιφάνεια του προσροφητικού τότε μπορούμε να εκφράσουμε την προσρόφηση σαν βάρος προσροφημένης ουσίας ανά μονάδα επιφάνειας προσροφητικού. Οι καμπύλες αυτής της προσρόφησης για διάφορες συγκεντρώσεις του διαλύματος σε ισορροπία και για μια θερμοκρασία ονομάζονται ισόθερμες προσρόφησης. Στην

περίπτωση της προσρόφησης από διαλύματα η ισόθερμη Langmuir χρησιμοποιείται ευρύτατα (Παναγιώτου, 1998).

1.3.1. Μηχανισμοί προσρόφησης

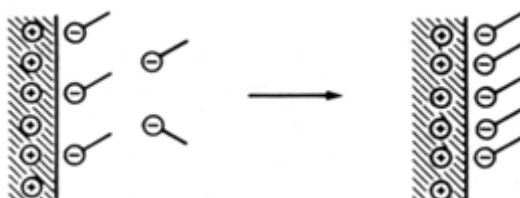
Οι μηχανισμοί προσρόφησης ιοντικών και μη ιοντικών τασιενεργών είναι δυνατόν να ταξινομηθούν ως ακολούθως:

1. Ιοντοεναλλαγή. Αυτός ο μηχανισμός περιλαμβάνει την αντικατάσταση των περιβαλλόντων ιόντων (counterions) των προσροφημένων από το διάλυμα με όμοια φορτισμένα ιόντα τασιενεργών.



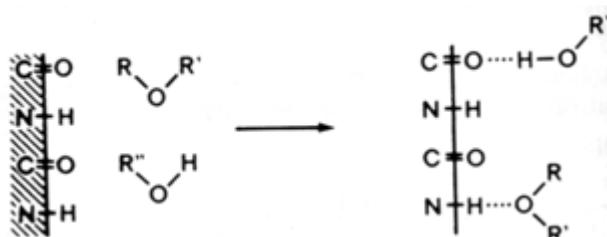
Εικόνα 3. Μηχανισμός ιοντοεναλλαγής

2. Ζεύξη ιόντων. Η προσρόφηση των ιόντων τασιενεργού μπορεί να λάβει χώρα από το διάλυμα σε αντίθετα φορτισμένα ενεργά κέντρα.



Εικόνα 4. Μηχανισμός ζεύξη ιόντων

3. Δεσμός υδρογόνου. Η προσρόφηση λαμβάνει χώρα μέσω δεσμού υδρογόνου ανάμεσα στο υπόστρωμα και το προσροφητικό μέσο.



Εικόνα 5. Μηχανισμός δεσμού υδρογόνου

4. Προσρόφηση μέσω της πόλωσης των π ηλεκτρονίων. Προσρόφηση σε στερεά υποστρώματα που είναι αποτέλεσμα των ελκτικών αλληλεπιδράσεων ανάμεσα στον αρωματικό πυρήνα του προσροφητικού μέσου και στα θετικά φορτισμένα κέντρα του υποστρώματος.

5. Προσρόφηση μέσω δυνάμεων διασποράς van der Waals. Η προσρόφηση μέσω αυτού του μηχανισμού γενικά αυξάνεται με την αύξηση του μοριακού βάρους της προσροφούμενης ουσίας. Αυτός ο μηχανισμός μπορεί να δράσει ως συμπληρωματικός μηχανισμός στους άλλους τύπους της προσρόφησης.



Εικόνα 6. Μηχανισμός προσρόφησης μέσω δυνάμεων διασποράς

6. Προσρόφηση μέσω εναλλασσόμενης υδρόφοβης δέσμευσης. Αυτός ο μηχανισμός λαμβάνει χώρα όταν οι ελκτικές αλληλεπιδράσεις του τασιενεργού γίνονται αρκετά μεγάλες ώστε να επιτρέψουν την προσρόφηση μέσω συσσωμάτωσης των αλυσίδων. Μέσω αυτού του μηχανισμού σε υψηλή κάλυψη της επιφάνειας προσρόφηση από την υγρή φάση μπορεί να λάβει χώρα πάνω στα ήδη προσροφημένα μόρια τασιενεργού.

1.3.2. Ισόθερμες Langmuir, Freundlich

Η κατανομή των προσροφητών σε υγρή και στερεά φάση μπορεί να περιγραφεί σε γενικές γραμμές από τον Langmuir και Freundlich ισόθερμων προσρόφησης. Το μοντέλο ισόθερμος Langmuir προκύπτει με βάση την παραδοχή της προσρόφησης μονοστρωματική σε διαρθρωτικά ομοιογενή επιφάνεια, όπου δεν υπάρχουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μορίων προσροφημένο σε γειτονικές περιοχές, και εκφράζεται ως:

$$q = Q_{\max} bC_e / 1 + bC_e$$

όπου, Q_{max} αναφέρεται στη μέγιστη ικανότητα προσρόφησης και b είναι μια σταθερή σχέση με την ενέργεια της προσρόφησης. C_e αντιπροσωπεύει τη συγκέντρωση της λύσης του ελαίου κατά την ισορροπία. Η ισόθερμος Freundlich μοντέλο είναι μια εμπειρική εξίσωση, η οποία εκπροσωπεί την πολυστρωματική προσρόφηση σε ετερογενείς επιφάνειες όπου υπάρχουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ των προσροφημένων μορίων και εκφράζεται ως:

$$q = K_F C_e^{1/n}$$

Όπου K_F σχετίζεται με την ικανότητα απορρόφησης και το n είναι ένας εκθέτης που ποικίλει ανάλογα με το βαθμό ετερογένειας. Θεωρείται ότι στο μοντέλο Langmuir παράγεται υψηλότερος συντελεστής παλινδρόμησης, R^2 , και χαμηλότερες τιμές των σφαλμάτων (MPSD) από τα προϊόντα της ισόθερμος Freundlich. (Shariff, 2010)

2. Υλικά- Μέθοδοι

2.1. Υλικά

Χρησιμοποιήθηκαν τα εξής αντιδραστήρια:

- Πρότυπο διάλυμα ασβεστίου (Ca) συγκέντρωσης $1,000 \pm 0,002$ g/L [$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$] σε HNO_3 0,5N] για ατομική απορρόφηση, της εταιρίας Panreac Quimica SA (Barcelona, Spain).
- Πυκνό νιτρικό οξύ (HNO_3) 69% HIPERPUR, υψηλής καθαρότητας, της εταιρίας Panreac Quimica SA (Barcelona, Spain).
- Χλωριούχο λανθάνιο ($\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) της εταιρίας Panreac Quimica SA (Barcelona, Spain).
- Καζεϊνικό νάτριο της εταιρίας ΜΕΒΓΑΛ ΑΕ
- κ-Δεκαεξάνιο της εταιρίας Sigma Chemicals

2.2.Συσκευές-Όργανα

Η μέτρηση του μεγέθους των σωματιδίων πραγματοποιήθηκε με συσκευή μέτρησης της σκέδασης του φωτός Malvern Mastersizer 2000 (Malvern, Worcestershire, UK). Η ομογενοποίηση έγινε σε εργαστηριακό ομογενοποιητή υπερήχων Dr Hieschler UP-100H (Dr Hieschler, Teltow, Germany) Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των δειγμάτων σε Ca χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης M Series-Solaar AA System του οίκου Thermo Electron Corporation (Thermo Scientific, Cambridge,

UK) με σύστημα φλόγας. Η συσκευή ατομικής απορρόφησης συνδεόταν με ηλεκτρονικό υπολογιστή, εφοδιασμένο με κατάλληλο λογισμικό (Solaar Series Software, 2003) για τις ρυθμίσεις του οργάνου και την καταγραφή των αποτελεσμάτων.

Για την παραγωγή νερού υψηλής καθαρότητας και αγωγιμότητας 0,055 $\mu\text{S}/\text{cm}$ χρησιμοποιήθηκε συσκευή υπερκάθαρου νερού SG Ultra Clear TWF UV του οίκου SG Wasseraufbereitung und Regenerierstation GmbH (Barsbüttel, Germany).

2.3.Παρασκευή γαλακτωμάτων – πειράματα προσρόφησης

Παρασκευάστηκε ρυθμιστικό διάλυμα Tris 25 mM με 25 mM νατραζίδιο ως συντηρητικό. Το pH του διαλύματος ρυθμίστηκε στο 7.0. Το διάλυμα αυτό χρησιμοποιήθηκε ως υδατική φάση στα γαλακτώματα και ως μέσο διάλυσης του χλωριούχου ασβεστίου. Για την παρασκευή των γαλακτωμάτων κατάλληλες ποσότητες καζεϊνικού νατρίου διαλυτοποιήθηκαν στο ρυθμιστικό διάλυμα και κατόπιν αναμίχθηκαν σε μαγνητικό αναδευτήρα με κ-δεκαεξάνιο (μοντέλο λιπαρής φάσης), ώστε να προκύψει ένα προ-γαλάκτωμα με κλάσμα όγκου διεσπαρμένης φάσης $\varphi = 0.4$ και 4% καζεϊνικό νάτριο ως προς την υδατική φάση. Στη συνέχεια το προ-γαλάκτωμα ομογενοποιήθηκε σε εργαστηριακό ομογενοποιητή υπερήχων Dr Hieschler UP-100H, μέχρις ότου επετεύχθη η επιθυμητή κατανομή μεγέθους σταγονιδίων (βλ. Σχήμα 1).

Κατόπιν μέρη του το πυκνού γαλακτώματος ($\varphi = 0.4$) αναμίχθηκαν με διαλύματα CaCl_2 κατάλληλης συγκέντρωσης, ώστε να προκύψουν γαλακτώματα με τελικό κλάσμα όγκου λιπαρής φάσης $\varphi = 0.2$ και περιεκτικότητα σε ιόντα ασβεστίου από 0 ως 20 mM. Τα γαλακτώματα αυτά σφραγίσθηκαν και

παρέμειναν υπό ήπια ανάδευση επί 1 h προκειμένου να προσροφηθεί το ασβέστιο στη διεπιφάνεια των σταγονιδίων (η οποία στο pH αυτό είναι καλυμμένη με αρνητικά φορτισμένο καζεϊνικό νάτριο).

Στη συνέχεια τα γαλακτώματα φυγοκεντρήθηκαν στις 6000 min^{-1} επί 1 h προκειμένου να διαχωρισθούν τα σταγονίδια του κ-δεκαεξανίου με το προσροφημένο ασβέστιο («κρέμα») από την υδατική φάση («ορός»). Δείγματα ελήφθησαν από την υδατική φάση και αναλυθήκαν ως προς τη συγκέντρωσή τους σε ασβέστιο με την τεχνική της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης.

2.4. Προσδιορισμός του ασβεστίου με ατομική απορρόφηση

Όγκος 500 μL από το κάθε δείγμα αραιώθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 20 mL μέχρις όγκου με υδατικό διάλυμα 0,1% w/v σε La σε 0,2% v/v HNO_3 . Το παραπάνω διάλυμα παρασκευάστηκε ως εξής:

Εντός ογκομετρικής φιάλης των 1000 mL μεταφέρθηκαν 100 mL υπερκάθαρου νερού και έπειτα προστέθηκαν διαδοχικά 2 mL διαλύματος HNO_3 69% και 10 mL υδατικού διαλύματος $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 26,7% w/v (διάλυση 13,3609g $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ σε 50 mL υπερκάθαρου νερού). Η φιάλη συμπληρώθηκε μέχρις όγκου με υπερκάθαρο νερό. 450 mL από το παραπάνω διάλυμα αραιώθηκαν με υπερκάθαρο νερό μέχρις όγκου σε ογκομετρική φιάλη των 500 mL ως λευκό διάλυμα, αλλά και ως αραιωτικό για τα διαλύματα του ασβεστίου.

Από πυκνό διάλυμα ασβεστίου (Ca) 1g/L παρασκευάστηκαν με διαδοχικές αραιώσεις με το παραπάνω

διάλυμα αραιώσεως πρότυπα διαλύματα Ca συγκεντρώσεων 1, 5, 10, 20 και 25 mg/L.

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης ασβεστίου στα δείγματα χρησιμοποιήθηκε η λειτουργία της φλόγας του φασματοφωτομέτρου ατομικής απορρόφησης.

Τοποθετήθηκε στην ειδική θέση λάμπα κοίλης καθόδου (hollow cathode lamp) του ασβεστίου και στη συνέχεια επιλέχθηκε μέσω του υπολογιστή η κατάλληλη μέθοδος, η σειρά της ανάλυσης και οι υπόλοιπες παράμετροι για τον προσδιορισμό του στοιχείου. Μετρήθηκε κατά σειρά η απορρόφηση του δείγματος Blank, οι απορροφήσεις των τεσσάρων προτύπων διαλυμάτων ασβεστίου και τέλος οι απορροφήσεις των αραιωμένων δειγμάτων.

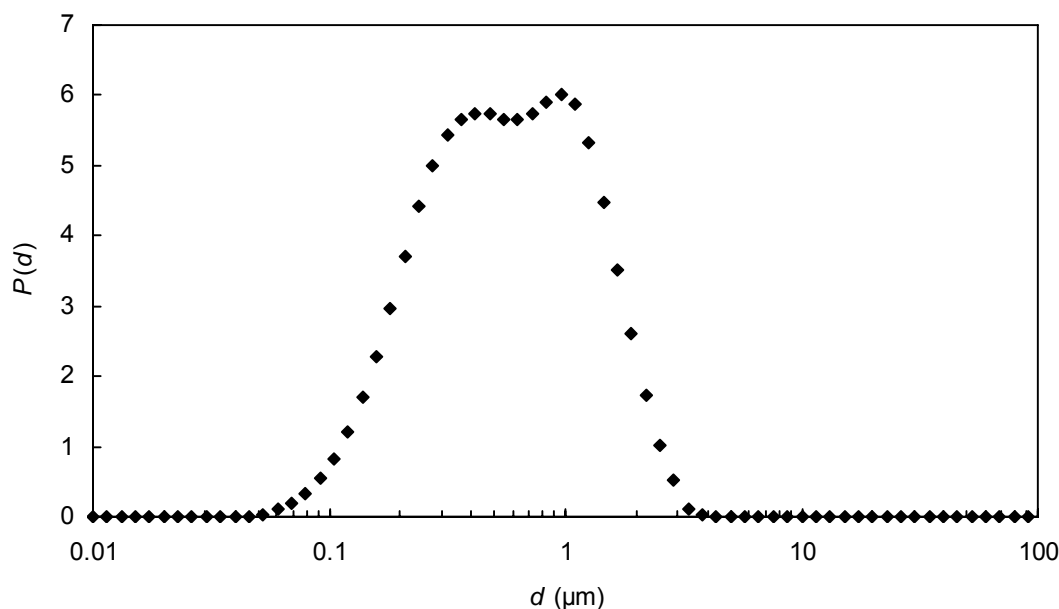
Ποσότητα από το προς μέτρηση κάθε φορά δείγμα (blank, πρότυπο διάλυμα Ca ή αραιωμένο δείγμα) μέσω ειδικού λεπτού σωλήνα οδηγείται σε εκνεφωτή, αποκτά τη μορφή νέφους και τελικά οδηγείται σε καυστήρα (βρίσκεται εντός πεδίου ακτινοβολίας από τη λυχνία του ασβεστίου), όπου, με τη βοήθεια φλόγας που παράγεται από την καύση ακετυλενίου παρουσία αέρα, ατομοποιείται. Τα παραγόμενα άτομα ασβεστίου απορροφούν την ενέργεια που προέρχεται από τη λυχνία του ασβεστίου. Η μείωση της ενέργειας αυτής είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των ατόμων ασβεστίου που βρίσκονται στην βασική κατάσταση. Η απορρόφηση καταγράφεται στον υπολογιστή και μέσω της πρότυπης καμπύλης αναφοράς ασβεστίου, η οποία προέκυψε από τα προαναφερθέντα πρότυπα διαλύματα ασβεστίου, μετατρέπεται αυτόματα σε συγκέντρωση ασβεστίου (mg/L).

Οι συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό του Ca δίνονται παρακάτω:

Αριθμός επαναλήψεων μέτρησης απορρόφησης:	3
Χρόνος μέτρησης (sec)	4.0
Μήκος κύματος (nm):	422.7
Ποσοστό (%) ρεύματος λάμπας Ca:	100
Χαμηλή σχισμή (band pass) (nm):	0.5
Τύπος σήματος (signal):	Συνεχές (continuous)
Διόρθωση σήματος υποβάθρου:	----
Τύπος φλόγας:	Αέρας-ακετυλένιο
Ροή καυσίμου (L/min):	1.4
Ύψος καυστήρα (mm)	14.0

2.5.Αποτελέσματα– Συζήτηση

Στο Σχήμα 1 παρίσταται η κατανομή του μεγέθους των σταγονιδίων ενός τυπικού γαλακτώματος, όπως αυτή προέκυψε από μετρήσεις σκέδασης φωτός.



Σχήμα 1: Τυπικό διάγραμμα κατανομής μεγεθών των σταγονιδίων για τα γαλακτώματα του χρησιμοποιήθηκαν.

Η παραπάνω κατανομή μεγεθών αντιστοιχεί σε ελεύθερη διεπιφάνεια $\sim 18 \text{ m}^2 \text{ mL}^{-1}$ διεσπαρμένης φάσης (εδώ κ-δεκαεξανίου ως μοντέλου λιπαρής φάσης). Για γαλακτώματα με κλάσμα όγκου της διεσπαρμένης φάσης $\varphi = 0.2$, θα αντιστοιχούν προφανώς $0.2 \times 18 \times 10^3 = 3.6 \times 10^3 \text{ m}^2 \text{ L}^{-1}$ συνολικού γαλακτώματος, δηλαδή $3.6 \text{ m}^2 \text{ mL}^{-1}$ γαλακτώματος (οι υπολογισμοί γίνονται σε mL γιατί αυτές οι μονάδες χρησιμοποιούνται στη συνέχεια).

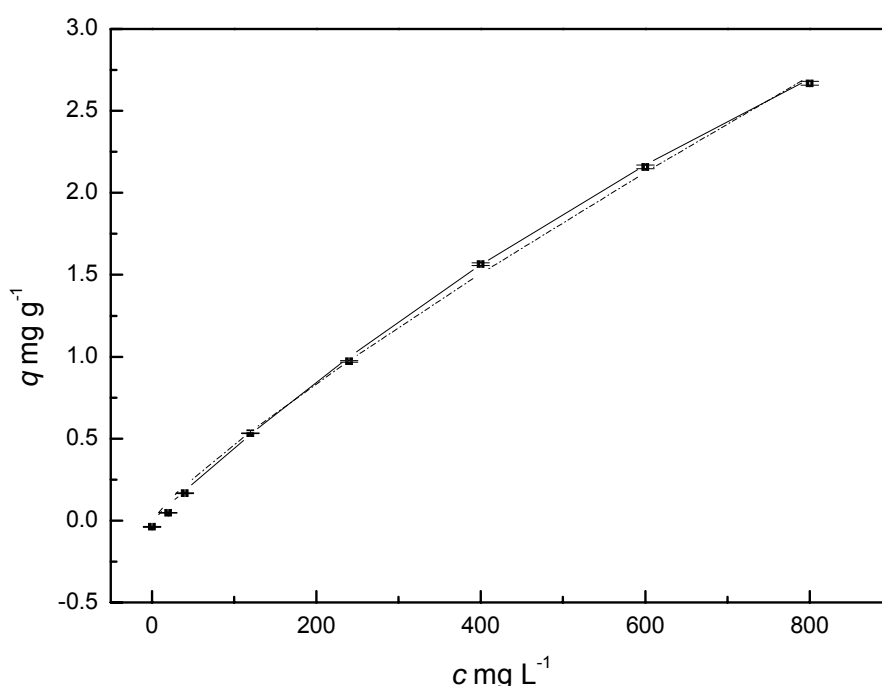
Σε αυτά τα γαλακτώματα προστέθηκαν ποσότητες ιόντων ασβεστίου με τη μορφή του CaCl_2 , ώστε (απουσία προσρόφησης), στην υδατική φάση να βρίσκονται 0, 0.5, 1.375,

3.0, 6.0, 10.0, 15.0, και 20.0 mM Ca^{2+} . Αφού τα γαλακτώματα παρέμειναν επί μία ώρα σε συνεχή ανάδευση προκειμένου να ολοκληρωθεί η προσρόφηση του ασβεστίου στη διεπιφάνεια της κολλοειδούς διασποράς, φυγοκεντρήθηκαν και παρελήφθη ο διαυγής ορός. Τα δεδομένα της συγκέντρωσης του ασβεστίου που συλλέχθηκαν με τη χρήση της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης στον ορό παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα με έντονη γραφή («τελικό»). Εκτός αυτών παρουσιάζονται οι αρχικές συγκεντρώσεις του ασβεστίου και η διαφορά της αρχικής από τη μετρημένη. Η διαφορά αυτή αποδίδεται στο ασβέστιο που έχει προσροφηθεί στη διεπιφάνεια των σταγονιδίων.

Ca^{2+} mM (αρχικό)	Ca^{2+} mg L^{-1} (αρχικό)	Ca^{2+} mg L^{-1} (τελικό) (<i>c</i>)	Ca^{2+} mg L^{-1} (προσροφημένο)	Ca^{2+} mg g^{-1} (προσροφημένο) (<i>q</i>)
0	0	5.3433	-5.3433	-0.038166429
0.5	20	13.4587	6.5413	0.046723571
1.375	55	31.6253	23.3747	0.166962143
3	120	45.4833	74.5167	0.532262143
6	240	103.9913	136.0087	0.971490714
10	400	180.932	219.068	1.564771429
15	600	297.9033	302.0967	2.157833571
20	800	426.43	373.57	2.668357143

Πίνακας 2: Συγκέντρωση του ασβεστίου στα επιμέρους στάδια του πειράματος. Οι τιμές c και q βρίσκονται στην τρίτη και πέμπτη στήλη αντίστοιχα.

Με βάση τα παραπάνω δεδομένα καταστρώθηκε διάγραμμα που συσχετίζει την τελική συγκέντρωση c του ασβεστίου στην υδατική φάση σε σχέση με την έμμεσα υπολογισμένη επιφανειακή κάλυψη q (Σχήμα 2). Σε αυτό επιχειρήθηκε προσαρμογή (fitting) με τα κοινότερα μοντέλα επιφανειακής προσρόφησης.



Σχήμα 2: Προσαρμογή (fitting) των πειραματικών δεδομένων προσρόφησης ασβεστίου σε διεπιφανειακά προσροφημένο καζεϊνικό νάτριο ($pH= 7.0$). Η θεωρητική πρόβλεψη για την ισόθερμη Langmuir παρουσιάζεται με συνεχή γραμμή, ενώ η αντίστοιχη πρόβλεψη για την ισόθερμη Freundlich παρουσιάζεται

με διακεκομμένη γραμμή. Τα πειραματικά δεδομένα παρουσιάζονται ως μεμονωμένα σημεία με γραμμές σφάλματος.

Η προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην την ισόθερμη προσρόφησης κατά Langmuir είναι σε πολύ καλή συμφωνία ($R^2 = 0.99939$). Η παράμετρος της μέγιστης επιφανειακής συγκέντρωσης Q υπολογίσθηκε στα $\sim 9.9 \pm 0.9$ mg g⁻¹, ενώ η παράμετρος b υπολογίσθηκε στα $\sim 0.47 \pm 0.06$ L mg⁻¹. Υπενθυμίζεται ότι η ισόθερμη Langmuir δίνεται από τη σχέση:

$$q = Q \frac{bc}{1+bc}$$

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον αποκτά η παρατήρηση ότι στην περιοχή μεταξύ 5 και 15 mM, μία περιοχή συγκεντρώσεων αρκετά οικεία στα τρόφιμα, ιδιαίτερα στα γαλακτοκομικά προϊόντα και στις εφαρμογές των καζεϊνικών ως δεσμευτικών νερού, η κατανομή του ασβεστίου μεταξύ της συνεχούς φάσης και της διεπιφάνειας κυμαίνεται στην τάξη του 1:1, λ.χ. στα 15 mM ασβεστίου, δηλαδή η μισή περίπου ποσότητα του ασβεστίου βρίσκεται στη διεπιφάνεια.

Η εφαρμογή της εξίσωσης του Freundlich έδωσε λιγότερο ικανοποιητική προσαρμογή στα πειραματικά δεδομένα ($R^2 =$), όπως φαίνεται στο Σχήμα 2 (διακεκομμένη γραμμή). Ο παράγοντας k , ο οποίος συνδέει την επιφανειακή συγκέντρωση με τη συγκέντρωση στη συνεχή φάση, είναι ίσος με 0.0093 ± 0.0017 L g⁻¹, ενώ ο αδιάστατος εκθέτης n είναι ίσος με $\sim 1.18 \pm 0.04$. Υπενθυμίζεται ότι η ισόθερμη Freundlich δίνεται από τη σχέση:

$$q = kc^n$$

Το γεγονός ότι ένα απλό μοντέλο όπως αυτό του Langmuir είναι σε θέση να προβλέψει τη διεπιφανειακή προσρόφηση σε σαφώς καθορισμένες θέσεις, με ανύπαρκτες πρακτικά αλληλεπιδράσεις μεταξύ των προσροφημένων ιόντων. Αυτά συνηγορούν υπέρ της άποψης ότι υπεύθυνα για την αλληλεπίδραση καζεϊνικού και ασβεστίου είναι μεμονωμένες φορτισμένες θέσεις, με πιθανότερη τη φωσφοσερίνη ή/και τις μονάδες υδροξυαπατίτη/κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου των καζεϊνών.

3.Συμπεράσματα

Κατά την καλύτερη πληροφόρησή μας, αυτή είναι η πρώτη συστηματική μελέτη της προσρόφησης ασβεστίου σε στρώματα καζεϊνικών για πραγματικά γαλακτώματα. Η προσρόφηση του ασβεστίου σε διεπιφανειακά στρώματα καζεϊνικού νατρίου υπακούει στην ισόθερμη σχέση προσρόφησης του Langmuir. Λιγότερο ικανοποιητικά αποτελέσματα προκύπτουν από την εξίσωση του Freundlich. Τα παραπάνω συνηγορούν στο ότι η προσρόφηση του ασβεστίου σε διεπιφανειακά στρώματα καζεϊνικού νατρίου γίνεται με ελάχιστες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ιόντων του ασβεστίου και σε σαφώς καθορισμένες θέσεις.

4.Παράρτημα

Προσδιορισμός ασβεστίου με φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης

Τα αποτελέσματα των αναλύσεων λήφθηκαν με τη βοήθεια της ακόλουθης πρότυπης καμπύλης αναφοράς ασβεστίου:

$$y = 0,01387x + 0,0023, R^2=0,9996$$

η οποία προέκυψε από πρότυπα διαλύματα

Συγκέντρωση Ca (mg/L)	Απορρόφηση
0,0000	0,000
1,0000	0,015
5,0000	0,075
10,0000	0,143
20,0000	0,278
25,0000	0,349

συγκεντρώσεων 1, 5, 10, 20 και 25 mg Ca/L:

Οι απορροφήσεις και οι συγκεντρώσεις των διαλυμάτων τέφρας δίνονται στο επισυναπτόμενο αρχείο:

Ca mM	Ca mg / L	Ca mg / L final	Ca mg/L adsorbed	Ca mg / g adsorbed		error
0	0	5,3433	-5,3433	0,038166429	-	0,003079
0,5	20	13,4587	6,5413	0,046723571	0,2134	0,001524
1,375	55	31,6253	23,3747	0,166962143	0,192	0,001371
3	120	45,4833	74,5167	0,532262143	0,3702	0,002644
6	240	103,9913	136,0087	0,971490714	0,6869	0,004906
10	400	180,932	219,068	1,564771429	1,0512	0,007509
15	600	297,9033	302,0967	2,157833571	1,6315	0,011654
20	800	426,43	373,57	2,668357143	1,5714	0,011224

c mg / L	q mg / g adsorbed	error	Langmuir	Freundlich
0	-0,038166429	0,003078571	0	0
20	0,046723571	0,001524286	0,091868377	0,118623
40	0,166962143	0,001371429	0,1820415	0,213584
120	0,532262143	0,002644286	0,52668652	0,54246
240	0,971490714	0,004906429	0,999984975	0,976716
400	1,564771429	0,007508571	1,561143771	1,50657
600	2,157833571	0,011653571	2,170014197	2,125147
800	2,668357143	0,011224286	2,69569593	2,712624

R²=0.99939 R²=0.99791

5. Βιβλιογραφία

Ξένη βιβλιογραφία

- Damodaran, S. (1989). Interrelationship of molecular and functional properties of food proteins American Chemical Society, U.S.A., 3, 21-51.
- Dickinson, E. (1992). *Introduction to Food Colloids*. Oxford University Press, Oxford.
- Dickinson, E. and McClements, D. J. (1995). *Advances in Food Colloids*. Blackie Academic & Professional, Glasgow.
- Dickinson, E. and Stainsby, G. (1992). *Colloids in Food*. Applied Science Publishers, Barking-Essex, London
- Florence, A.T and Whitehill, D. (1981). *J. Colloid Interface Sci.*, 79, 243.
- McClements, D.J., Monahan, F. J. and Kinsella, J. E. 1993. Disulfide bond formation affects the stability of whey protein stabilized emulsion. *Journal Food Science*.58, 1036.
- McSweeney, S. L., Mulvihill, D. M., O'Callaghan, D. M. (2004). The influence of pH on the heat-induced aggregation of model milk protein ingredient systems

and model infant formula emulsion stabilized by milk protein ingredients. *Food Hydrocolloids*, 18, 109-125.

- Shariff, I., Shaobin, W., Ha Ming Ang (2010). Removal of emulsified oil from oily wastewater using agricultural waste barley straw. *Biochemical Engineering Journal*. 49,78-83.
- Srinivasan, M. Singh, H. and Munro, P. A. (2003). Influence of retorting, before or after emulsification, on the properties of calcium caseinate oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*. 80, 61-69.

Ελληνική βιβλιογραφία

- Μουμτζής, Ι.Α. (1994). Πειραματική Φυσική-Χημεία.
- Παναγιώτου, Κ. (1998). Διεπιφανειακά φαινόμενα και κολλοειδή συστήματα.