

**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Θέμα:

**ΣΥΝΕΙΣΦΟΡΑ ΤΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΣΤΗ
ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΜΟΝΤΕΛΩΝ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ
ΛΑΔΙΟΥ ΣΕ ΝΕΡΟ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΜΕ
ΥΔΡΟΞΥΔΡΑΤΙΤΗ**

Επιμέλεια

Εσέρογλου Άννα
Μαργέλου Ιωάννα

Εισηγητής

κ. Ριτζούλης Χρήστος

Θεσσαλονίκη, 2011

Περίληψη

Στη παρούσα εργασία μελετήθηκε η σταθεροποίηση κατά Pickering μοντέλων γαλακτωμάτων κ-δεκαεξανίου σε νερό από υδροξυαπατίτη (HAp). Μελετήθηκε επίσης η επίδραση της ταυτόχρονη προσθήκης ανιονικών τασιενεργών μικρού μοριακού βάρους (μυριστικό, στεατικό και παλμιτικό οξύ) και μη ιονικών (Span 60) στη σταθερότητα των εν λόγω γαλακτωμάτων. Στα γαλακτώματα αυτά παρατηρείται κροκίδωση που οφείλεται στην ηλεκτροστατική προσρόφηση των μορίων του τασιενεργού στα σωματίδια του υδροξυαπατίτη και υδροφοβική κροκίδωση μεταξύ των υδρόφοβων μερών των προσροφημένων τασιενεργών. Η διαδικασία αυτή σε μεγάλες συγκεντρώσεις υδροξυαπατίτη οδηγεί στη διαμόρφωση συνεχούς δομής σε όλη την έκταση του γαλακτώματος, παρεμποδίζοντας την αποκορύφωση ή την καθίζηση των κροκιδωμάτων. Μετρήσεις περίθλασης ακτίνων X (XRD) και φασματοσκοπίας υπερύθρου (FTIR) στα γαλακτώματα αυτά καταδεικνύουν την ύπαρξη ενός μικτού στρώματος υδροξυαπατίτη-τασιενεργού, ενώ διεπιφανειακές μετρήσεις καταδεικνύουν το σχηματισμό δύο διακριτών επάλληλων στρωμάτων.

Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή.....	1
2. Θεωρητικό μέρος.....	2
2.1 Γαλακτώματα.....	2
2.2 Σταθερότητα γαλακτωμάτων.....	2
2.2.1 Βαρυτικός διαχωρισμός.....	3
2.2.2 Κροκίδωση γαλακτωμάτων.....	4
2.2.3 Αποκορύφωση γαλακτωμάτων.....	4
2.2.4 Σύσσωμάτωση.....	5
2.2.5 Σταθεροποίηση γαλακτωμάτων.....	6
2.2.5.1 Σταθεροποίηση από πρωτεΐνες.....	6
2.2.5.2 Σταθεροποίηση από τασιενεργά μικρού μοριακού βάρους.....	7
2.2.5.3 Σταθεροποίηση κατά Pickering.....	9
2.3 Τεχνικές μέθοδοι.....	10
2.3.1 Αρχή της σκέδασης φωτός.....	10
2.3.2 Λυοφιλίωση.....	10
2.3.3 Ρεομετρία.....	11
2.3.4 Περίθλαση ακτίνων X (XRD).....	12
2.3.5 Φασματοσκοπία μετασχηματισμού Fourier υπερόθρου (FTIR).....	13
2.3.6 Οπτική μικροσκοπία.....	14
3. Σκοπός της πτυχιακής.....	15
4. Υλικά και μέθοδοι.....	15
4.1 Υλικά.....	15
4.1.2 Όργανα.....	15
4.1.3 Μεταχείριση δειγμάτων (Προετοιμασία δείγματος).....	16
4.1.4 Μέθοδοι.....	17
5. Αποτελέσματα – συζήτηση.....	19
6. Συμπεράσματα.....	29
7. Βιβλιογραφία.....	30

1. Εισαγωγή

Την τελευταία δεκαετία υπάρχει συνεχώς αυξανόμενο το ενδιαφέρον για την μελέτη των διεπιφανειακών ιδιοτήτων των σωματιδίων και ιδιαίτερα των νανοσωματιδίων. Τα νανοσωματίδια έχουν απασχολήσει τους επιστήμονες γιατί παρά το μικρό τους μέγεθος, που κυμαίνεται από 10 nm (10^{-8} m) έως 100 nm (10^{-4}), συνεισφέρουν σημαντικά στη σταθεροποίηση της διεπιφάνειας των γαλακτωμάτων.

Τα γαλακτώματα των τροφίμων αποτελούνται από σωματίδια μικρού μεγέθους τα οποία δεν είναι θερμοδυναμικά σταθερά, μπορούν ωστόσο να σταθεροποιηθούν κινητικά. Ένα μέσο σταθεροποίησης τους είναι η παρουσία στερεών σωματιδίων στη συνεχή φάση, εκεί μπορούν να προσροφηθούν πάνω σε επιφάνεια ελαίου-νερού ή να σχηματίσουν κρυστάλλους σταθεροποιώντας το γαλάκτωμα. Ο μηχανισμός αυτός της σταθεροποίησης των γαλακτωμάτων είναι γνωστός ως Pickering.

Σωματίδια μικρού μεγέθους όπως ο υδροξιαπατίτης προσροφώνται στην επιφάνεια του ελαίου σχηματίζοντας ένα πορώδες στρώμα που συνθέτει την φάση των γαλακτωμάτων. Ο υδροξιαπατίτης (HAp) είναι το κύριο συστατικό των σκληρών οστών όπως κόκαλα, δοντιών και σμάλτου, αλλά και του χόνδρου. Ο συνθετικός HAp έχει εξαιρετική βιοσυμβατότητα και βιοδραστικότητα, το οποίο χρησιμοποιείται ευρέως για την εμφύτευση και επίστρωση πάνω σε τεχνικά μέλη. Ενδιαφέρον έχει η επιφανειακή ενθυλάκωση του υδροξιαπατίτη ως γαλακτωματοποιητή κατά Pickering για την παρασκευή λειτουργικών γαλακτωμάτων.

Η παρούσα μελέτη, εκτός του πρακτικού ενδιαφέροντος της παρασκευής λειτουργικών γαλακτωμάτων τροφίμων με μικροενθυλακωμένο HAp, αφορά και τη βασική μελέτη της σταθερότητας και ρεολογίας γαλακτωμάτων που περιέχουν μικρό σταθεροποιητή κατά Pickering και τασιενεργά μικρού μοριακού βάρους. Στην παρούσα μελέτη οι τασιενεργές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν είναι τα ανιονικά τασιενεργά μυριστικό, στεατικό και παλμιτικό οξύ και το μη ιονικό πολυοξυαιθυλενικό τασιενεργό Span 60.

Η σταθερότητα των γαλακτωμάτων που περιέχουν τασιενεργά και HAp εξετάστηκε με τις ακόλουθες μεθόδους: σκέδαση φωτός, ρεομετρία, περίθλαση των ακτίνων X, φασματοσκοπία υπερύθρου και οπτική μικροσκοπία.

2. Θεωρητικό μέρος

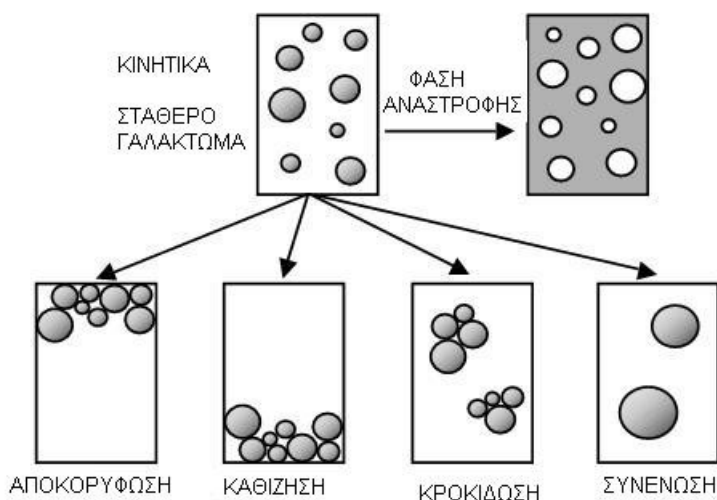
2.1 Γαλακτώματα

Τα γαλακτώματα αποτελούνται από δύο μη μιγνυόμενα υγρά (συνήθως λάδι και νερό), από τα οποία το ένα από τα δύο υγρά διασπείρεται ως μικρή σταγόνα στο άλλο. Στα περισσότερα τρόφιμα η διάμετρος της σταγόνας βρίσκεται συνήθως ανάμεσα σε 0.1 και 100μm (McClements, 2005). Τα γαλακτώματα δεν είναι σταθερά αν δεν προστεθεί μια τρίτη ουσία, διότι τα σταγονίδια της φάσεως της διασποράς τείνουν να συσσωματωθούν δια της επιφανειακής τους τάσεως και να οδηγήσουν στον αποχρωματισμό των δύο φάσεων δηλαδή στην καταστροφή του γαλακτώματος. Ο σκοπός της τρίτης ουσίας είναι ο σχηματισμός στα σταγονίδια, που βρίσκονται σε διασπορά, μια προστατευτική στιβάδα ή προστατευτικό υμένιο. Η προστιθέμενη στο σύστημα τρίτη ουσία ονομάζεται τασιενεργή ουσία (ή γαλακτοματοποιητική ουσία). Ο απλούστερος τρόπος παρασκευής των γαλακτωμάτων είναι με μηχανική ανάδευση ή ανακίνηση και για την καλύτερη σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων με την επίδραση υπερύχων (Γεράση, 2007). Υπάρχουν τρία βασικά είδη γαλακτωμάτων που είναι σημαντικά για τα τρόφιμα. Γαλάκτωμα λάδι σε νερό (o/w) όπου η σταγόνα λαδιού διασπείρεται στην υδατική φάση. Τέτοια γαλακτώματα είναι η μαγιονέζα το γάλα, η κρέμα και η σούπα. Γαλάκτωμα νερό σε λάδι (w/o) στο οποίο η σταγόνα του νερού διασπείρεται στην λιπαρή φάση. Επίσης, γαλακτώματα λάδι σε νερό σε λάδι (o/w/o) ή νερό σε λάδι σε νερό (w/o/w). Για παράδειγμα, το γαλάκτωμα w/o/w αποτελείται από σταγονίδια νερού διάσπαρτα μέσα σε μεγαλύτερα σταγονίδια του ελαίου, τα οποία είναι διασκορπισμένες στην συνεχή υδατική φάση. Η παρασκευή, η σταθεροποίηση και η χρήση γαλακτωμάτων συνυπάρχουν σε σχεδόν όλες τις πλευρές της ζωής μας, από την τροφή μας μέχρι τα φαρμακευτικά σκευάσματα ή τα καλλυντικά (McClements, 2005).

2.2 Σταθερότητα γαλακτωμάτων

Ο όρος «σταθερότητα των γαλακτωμάτων» αναφέρεται στην ικανότητα που έχουν τα γαλακτώματα να αντιστέκονται στις αλλαγές των ιδιοτήτων τους με την πάροδο του χρόνου: πιο σταθερά γαλακτώματα, πιο αργά να αλλάζουν τις ιδιότητές τους. Ένα γαλάκτωμα μπορεί να καταστεί ασταθές λόγω διαφόρων τύπων φυσικών και χημικών διαδικασιών. Στη φυσική αστάθεια επακολουθεί μια μεταβολή της κατανομής του

χώρου ή οργάνωση της δομής των μορίων, ενώ στη χημική αστάθεια επακολουθεί η μετατροπή της χημικής δομής των μορίων (Σχήμα 1). Παραδείγματα φυσικών ασταθειών είναι η αποβουτύρωση, η κροκίδωση, η συνένωση ενώ η οξείδωση και η υδρόλυση είναι κοινά παραδείγματα της χημικής αστάθειας.



Σχήμα 1: Φυσικοί μηχανισμοί οι οποίοι μπορούν να αποσταθεροποιήσουν ένα γαλάκτωμα συμπεριλαμβάνουν την αποκορύφωση, την καθίζηση, τη κροκίδωση, τη συνένωση και την αναστροφή φάσεων (Απόδοση από McClements, 2005).

Κατά την εξέταση της σταθερότητας του γαλακτώματος είναι σημαντικό να αναφερθεί η διάκριση μεταξύ της θερμοδυναμικής σταθερότητα και της κινητικής σταθερότητας. Η θερμοδυναμική μας λέει την συγκεκριμένη διαδικασία που θα προκύψει. Πιο συγκεκριμένα, η θερμοδυναμική αστάθεια του γαλακτώματος εύκολα αποδεικνύεται αν κάποιος ταραξεί ένα κλειστό δοχείο με καθαρό νερό και καθαρό λάδι, και στην συνέχεια θα παρατήρηση την αλλαγή στην εμφάνιση του συστήματος με την πάροδο του χρόνου. Ενώ η κινητική μας λέει τον ρυθμό με τον οποίο θα προχωρήσει και τη εξάρτηση της σταθερότητας με το χρόνο. Όλα τα γαλακτώματα τροφίμων είναι θερμοδυναμικά ασταθές και αν αφεθούν για αρκετό καιρό καταρρέουν. Για το λόγο αυτό σε μεγάλο βαθμό η κινητική σταθερότητα είναι υπεύθυνη για τη μεγάλη ποικιλία των ιδιοτήτων που εμφανίζονται σε διαφορετικά γαλακτώματα τροφίμων (McClements, 2005).

2.2.1 Βαρυτικός διαχωρισμός

Σε γενικές γραμμές, τα σταγονίδια σε ένα γαλάκτωμα έχουν διαφορετική πυκνότητα με εκείνη του υγρού που τους περιβάλλει, και έτσι η βαρυτική δύναμη

ενεργεί πάνω τους. Αν τα σταγονίδια έχουν μια χαμηλότερη πυκνότητα από τα γύρω υγρά, τότε έχουν μια τάση να κινούνται προς τα πάνω, το οποίο αναφέρεται ως αφρόκρεμα. Αντιθέτως, αν έχουν μεγαλύτερη πυκνότητα από τον περιβάλλοντα υγρό, τείνουν να κινούνται προς τα κάτω, το οποίο αναφέρεται ως καθίζηση. Οι πυκνότητες των πιο βρώσιμων ελαίων (σε υγρή μορφή τους) είναι χαμηλότερη από αυτή του νερού, και έτσι υπάρχει μια τάση του ελαίου να συσσωρεύονται στην κορυφή του γαλακτώματος και του νερού στο κάτω μέρος. Έτσι, τα σταγονίδια σε ένα γαλάκτωμα λαδιού σε νερό (o/w) τείνουν να γίνει κρέμα, ενώ σε ένα γαλάκτωμα νερό σε λάδι(w/o) τείνει να γίνει ίζημα. Ο βαρυτικός διαχωρισμός είναι πρόβλημα διότι είναι η αιτία να έρχεται η σταγόνα σε στενή σύνδεση για μεγάλο χρονικό διάστημα, το οποίο μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη κροκίδωση ή συνένωση και τελικά το λάδι να φεύγει από το γαλάκτωμα, το οποίο διαμορφώνει ένα στρώμα στη κορυφή του γαλακτώματος (McClements, 2005).

2.2.2 Κροκίδωση γαλακτωμάτων

Η κροκίδωση είναι ένα μηχανισμός αστάθειας των γαλακτωμάτων κατά τον οποίο δύο ή περισσότερα σταγονίδια ενώνονται για να σχηματίσουν ένα συνολικό στο οποίο τα σταγονίδια διατηρούν την ακεραιότητα του ατόμου τους. Η σταγόνα της κροκίδωσης μπορεί να είναι είτε επωφελείς είτε επιζήμια για την ποιότητα του γαλακτώματος, το οποίο εξαρτάται από την φύση του προϊόντος διατροφής. Η κροκίδωση επιτυγχάνει το ρυθμό του βαρυτικού διαχωρισμού σε αραιά γαλακτώματα, το οποίο είναι συνήθως ανεπιθύμητο, λόγω του ότι μειώνει τη διάρκεια ζωής του. Προκαλεί επίσης μια έντονη αύξηση του ιξώδους του γαλακτώματος και μπορεί ακόμα να οδηγήσει στο σχηματισμό πηκτώματος. Σε άλλα προϊόντα, ένα ελεγχόμενο ποσοστό κροκίδωσης μπορεί να είναι χρήσιμη διότι οδηγεί στην δημιουργία μιας πιο επιθυμητής δομής. (McClements, 2005)

2.2.3 Αποκορύφωση γαλακτωμάτων

Τα σταγονίδια ενός γαλακτώματος έχουν διαφορετική πυκνότητα από αυτή της συνεχούς φάσης. Αν τα σταγονίδια έχουν μικρότερη πυκνότητα από την υδατική φάση, έχουν την τάση να κινούνται ανοδικά χωρίς να παρατηρείται κάποια μεταβολή στο μέγεθός τους. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται αποκορύφωση του γαλακτώματος (creaming). Αντίθετα η καθίζηση είναι η καθοδική πορεία των σταγονιδίων λόγω μεγαλύτερης πυκνότητας από τη συνεχή φάση. Κατά την αποκορύφωση, με την πάροδο του χρόνου διακρίνονται δύο ξεχωριστές στιβάδες, μία υδατική και μια

εμπλουτισμένη σε σταγονίδια ελαίου (κρέμα). Οι δυνάμεις που αναπτύσσονται στη κρέμα συμβάλουν στο σχηματισμό ενός δικτυώματος το οποίο συμπιέζεται μέχρι να γίνει αρκετά συμπαγές σε βαθμό που να μην είναι εφικτή η περαιτέρω συμπίεση και τελικά να σταματήσει και η διαδικασία της αποκορύφωσης. Το φαινόμενο αυτό είναι αντιστρεπτό, δηλαδή με απλή ανακίνηση επιτυγχάνεται ομοιόμορφη κατανομή των σταγονιδίων σε όλη την έκταση του γαλακτώματος.

Σημαντικό ρόλο στην αποκορύφωση ενός γαλακτώματος διαδραματίζουν τόσο το μέγεθος όσο και ο βαθμός συσσωμάτωσης των σταγονιδίων του ελαίου. Σταγονίδια μεγάλου μεγέθους κινούνται ταχύτερα με αποτέλεσμα να συμπαρασύρουν τα μικρότερα σταγονίδια αυξάνοντας έτσι την ταχύτητα της αποκορύφωσης. Η σταθερότητα αυτών των γαλακτωμάτων μπορεί να αυξηθεί με μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων. (Δρακού, 2006).

2.2.4 Συσσωμάτωση

Συσσωμάτωση είναι η διαδικασία κατά την οποία δύο ή περισσότερα σταγονίδια συνενώνονται αλλά κάθε σταγονίδιο στο συσσωμάτωμα διατηρεί το αρχικό σχήμα και μέγεθός του. Με αλλαγή των συνθηκών pH ή της ιονικής ισχύος είναι δυνατό να εξουδετερωθούν τα φορτία που είναι υπεύθυνα για την ηλεκτροστατική άπωση των σταγονιδίων με συνέπεια τη συσσωμάτωση και τελικά την αποσταθεροποίηση του γαλακτώματος (Dementriades et al. 1997). Η παρουσία ενός πολυσθενούς ιόντος στην συνεχή φάση ενός γαλακτώματος παίζει σημαντικό ρόλο στη συσσωμάτωση των σταγονιδίων για δύο λόγους. Πρώτον, επηρεάζει σημαντικά τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των σταγονιδίων και παράλληλα είναι ικανό να σχηματίσει γέφυρες ηλεκτροστατικής φύσεως μεταξύ δύο σταγονιδίων όμοια φορτισμένων (Agboola & Dalgleish, 1995). Εκτός από τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, πολλοί γαλακτώματοποιητές εμποδίζουν τη συσσωμάτωση των σταγονιδίων μέσω πολυμερικών απώσεων που αναπτύσσονται μεταξύ του. Τα γαλακτώματα αυτού του είδους είναι λιγότερα ευαίσθητα σε μεταβολές του pH και την ιονικής ισχύος αλλά επηρεάζονται σημαντικά από τη θερμοκρασία (Aveyard et al. 1990).

Η παρουσία μη προσροφημένων κολλοειδών σωματιδίων, όπως μικκύλια τασιενεργών ουσιών στη συνεχή φάση ενός γαλακτώματος, προκαλεί ενίσχυση των ελκτικών δυνάμεων μεταξύ των σταγονιδίων λόγω οσμωτικών φαινομένων. Υπάρχει μια μικρή περιοχή γύρω από τα σταγονίδια του ελαίου στην οποία η συγκέντρωση των μη προσροφημένων κολλοειδών είναι μηδενική σε αντίθεση με την υπόλοιπη συνεχή φάση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία διαφοράς οσμωτικής πίεσης.

Για να επέλθει ισορροπία, ο διαλύτης από την περιοχή κοντά στα σταγονίδια κινείται προς τη συνεχή φάση με σκοπό να αραιώσει το διάλυμα του κολλοειδούς, με αποτέλεσμα τα σταγονίδια να πλησιάσουν μεταξύ τους και να συσσωματωθούν. Το φαινόμενο αυτό καλείται οσμωτική συσσωμάτωση (Δρακού, 2006).

Ένας άλλος μηχανισμός συσσωμάτωσης είναι η συσσωμάτωση λόγω 'γεφύρωσης' (bridging flocculation). Ορισμένα βιοπολυμερή προκαλούν συσσωμάτωση δημιουργώντας γέφυρες μεταξύ δύο ή περισσότερων σταγονιδίων. Τα βιοπολυμερή προσροφούνται είτε στην επιφάνεια των σταγονιδίων είτε στην ήδη προσροφημένη στοιβάδα του γαλακτωματοποιητή. Οι σημαντικότερες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των βιοπολυμερών και των σταγονιδίων είναι υδρόφοβες και ηλεκτροστατικές. Ο σχηματισμός γεφυρών συμβαίνει σε δύο κυρίως περιπτώσεις: α) όταν η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή δεν επαρκεί για να καλύψει τη διεπιφάνεια μετά την ομογενοποίηση και β) όταν το βιοπολυμερές στη συνεχή φάση (π.χ ένας πολυσακχαρίτης) έχει αντίθετο ηλεκτρικό φορτίο από το φορτίο των μορίων που είναι προσροφημένα στα σταγονίδια (Δρακού, 2006).

2.2.5 Σταθεροποίηση γαλακτωμάτων

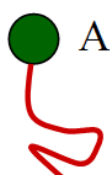
2.2.5.1 Σταθεροποίηση από πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες χρησιμοποιούνται ως γαλακτωματοποιητές χάρη στην ικανότητα που έχουν να διευκολύνουν το σχηματισμό γαλακτωμάτων και στην ενίσχυση της σταθερότητας αυτών μακροπρόθεσμα. Η απορρόφηση των πρωτεϊνών διευκολύνει τη διάσπαση των σταγονιδίων γιατί μειώνουν την διεπιφανειακή τάση και αυτό βοηθά στην πρόληψη της συνένωσης τους κατά την ομογενοποίηση, έχοντας σχηματίσει ένα προστατευτικό περίβλημα γύρω από τα σταγονίδια. Οι προσροφημένες πρωτεΐνες μπορούν να βελτιώσουν την μακροπρόθεσμη σταθερότητα σε γαλακτώματα ελαίου σε νερού (o/w) σχηματίζοντας σταγονίδια με τη δημιουργία απόθησης της κολλοειδούς αλληλεπίδρασης μεταξύ των σταγονιδίων π.χ. ηλεκτροστατικής και στερικής απόθησης. Παρ' όλα αυτά οι πρωτεΐνες μπορούν να υποστούν ουσιαστικές μοριακές ανακατατάξεις (μετουσίωση επιφάνειας) αφού έχουν προσροφηθεί στη διεπιφάνεια. Οι ανακατατάξεις αυτές μπορεί να έχουν μεγάλο αντίκτυπο στη σταθερότητα των γαλακτωμάτων (Chanasattru et al. 2007). Οι συνηθέστερες πρωτεΐνες στις εφαρμογές των τροφίμων είναι οι καζεΐνες και πρωτεΐνες ορού γάλακτος που προέρχονται από το γάλα.

Μετά την προσρόφηση των πρωτεϊνών στην επιφάνεια της σταγόνας του γαλακτώματος ελαίου σε νερού (o/w), αλλάζει σιγά-σιγά η διάπλαση τους («ξετυλίγονται»), προσαρμόζοντας την μοριακή δομή τους στην αλλαγή που προκαλείται στο περιβάλλον της διεπιφάνειας. Αυτή η αναδιοργάνωση οδηγεί σε αύξηση της δεσμευτικής ενέργειας των πρωτεϊνών στην διασύνδεση και στην έκθεση των δυνητικά υδρόφοβων στοιχείων και τη δημιουργία σουλφυδρυλικών ομάδων στο προσροφημένο στρώμα των πρωτεϊνών. Οι διαμοριακοί δεσμοί σχηματίζονται μεταξύ των προσροφημένων μορίων, κυρίως στο υδρόφοβο μέρος, αλλά για πολλές πρωτεΐνες, πιθανώς σχηματίζονται και ενδομοριακοί δισουλφιδικοί δεσμοί. Αυτό οδηγεί στο σχηματισμό ενός συνεκτικού στρώματος από προσροφημένα μόρια, με ισχυρά περιορισμένη πλευρική κινητικότητα των μορίων και την τάση του προσροφημένου στρώματος να σπάει αντί να έχει ρευστή μορφή όταν το προσροφημένο στρώμα παραμορφώνεται.

Κάποιες ενώσεις δεσμεύονται στο προσροφημένο στρώμα πρωτεΐνης (π.χ. πολυφαινόλες (τανίνες) και πολλοί πολυσακχαρίτες όπως τα αλγινικά, η πηκτίνη και η καραγεννάνη). Αυτό φάνηκε να ενισχύει την ελαστικότητα στο μικτό προσροφημένο στρώμα των πρωτεϊνών μαζί με τασιενεργά χαμηλού μοριακού βάρους και να μειώνει το ποσοστό της απορροής των αφρών και να σταθεροποιείται από ένα τέτοιο μικτό προσροφημένο στρώμα (Aken, 2004).

2.2.5.2 Σταθεροποίηση από τασιενεργά μικρού μοριακού βάρους



Σχήμα 2: Σχηματική απεικόνιση της δομής των τασιενεργών ουσιών (Πετεκίδης, 2010).

Ο όρος "τασιενεργή ουσία" χρησιμοποιείται για να αναφερθεί σε σχετικά μικρού μοριακού βάρους τασιενεργά που αποτελούνται από μια υδρόφιλη «κεφαλή» (A) η οποία έχει μεγάλη συγγένεια με το νερό, και μια λιόφιλη "ουρά" (B) η οποία έχει υψηλή συγγένεια με το έλαιο (Σχήμα 2) (McClements, 2005). Τα μόρια αυτά σε νερό σχηματίζουν μικύλια διαφόρων σχημάτων (σφαιρικά, ραβδωτά ή φυλλοειδή) ανάλογα με το σχήμα και τις αλληλεπιδράσεις τους. Μειώνοντας την επιφανειακή τάση

ανάμεσα σε δύο μη αναμίξιμα υγρά αποτρέπεται η συσσωμάτωση και σταθεροποιούνται σταγονίδια σε μίγματα μη αναμίξιμων υγρών (Πετεκίδης, 2010).

➤ Τύποι τασιενεργών

Η διάρθρωση της δομής των τασιενεργών μπορεί να γίνει με διάφορους τρόπους είτε αλλάζοντας τη δομή στο υδρόφοβο είτε στο υδρόφιλο μέρος. Η υδρόφιλη ομάδα μπορεί να είναι φορτισμένη ή ουδέτερη και η διαμόρφωση της να είναι είτε μικρή και συμπαγές είτε σχηματίζοντας αλυσίδα. Το υδρόφοβο μέρος αποτελείται από μια μονή ή διπλή απλή ή διακλαδισμένη αλυσίδα υδρογονανθράκων, αλλά μπορεί να αποτελείται από φθορανθράκων ή σιλοξάνης ή να περιέχει αρωματικές ομάδες. (Eastoe, 2005). Οι τασιενεργές ουσίες μπορούν επίσης να εκπροσωπούνται από τον τύπο RX, όπου X αντιπροσωπεύει την υδρόφιλη κεφαλή και R το λιπόφιλο ουρά. Τα χαρακτηριστικά κάθε τασιενεργούς ουσίας εξαρτώνται από τη φύση της κεφαλής της και της ουράς. Η ομάδα της κεφαλής μπορεί να ανιονική, κατιονική, zwitterionic, ή μη ιονική αν και οι περισσότερες τασιενεργές ουσίες που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων είναι κυρίως μη ιονικές (π.χ., μονογλυκερίδια [MG], tweens, πολυσορβικά άλατα, Span, ACETEM), ανιονικές (π.χ. λιπαρά οξέα, στεαρυλικά lactylate άλατα, datem, CITREM), ή zwitterionic (π.χ. λεκιθίνη). Η ουρά αποτελείται συνήθως από μία ή περισσότερες αλυσίδες υδρογονανθράκων, έχοντας 10 με 20 άτομα άνθρακα ανά αλυσίδα. Η τασιενεργές αλυσίδες μπορεί να είναι κορεσμένες ή ακόρεστες, γραμμικές ή διακλαδισμένες, αλειφατικές ή και αρωματικές, αλλά οι περισσότερες επιφανειοδραστικές ουσίες των τροφίμων έχουν μια ή δύο γραμμικές αλειφατικές αλυσίδες, που μπορεί να είναι κορεσμένες ή ακόρεστες. Κάθε τύπος τασιενεργής ουσίας έχει λειτουργικές ιδιότητες που καθορίζονται από τη μοναδική μοριακή δομή της και της φυσικοχημικές τις ιδιότητες. Ως εκ τούτου, δεν υπάρχει μια τασιενεργή ουσία που να είναι κατάλληλη για κάθε εφαρμογή στα τρόφιμα και γι 'αυτό είναι απαραίτητο να επιλεγεί η καταλληλότερη επιφανειοδραστική ουσία για κάθε προϊόν.

➤ Προσθήκη τασιενεργών στα γαλακτώματα

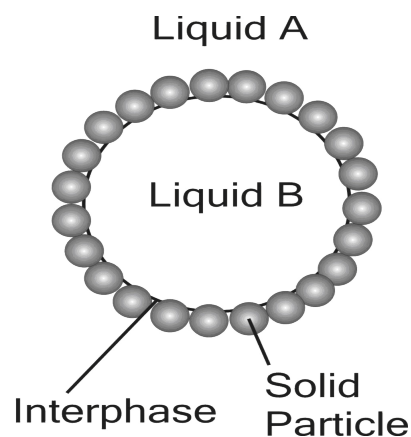
Ο κύριος ρόλος των τασιενεργών ουσιών στα γαλακτώματα των τροφίμων είναι η βελτιστοποίηση του γαλακτώματος και η σταθεροποίηση του. Παρ 'όλα αυτά, μπορούν επίσης να μεταβάλλουν τις ιδιότητες του γαλακτώματος με πολλούς τρόπους, όπως τη τροποποίηση του σχήματος τους και την ανάπτυξη τους (Eastoe, 2005).

Σε αρκετά χαμηλές συγκεντρώσεις, οι τασιενεργές ουσίες υπάρχουν ως μονομερή συστατικά των διαλυμάτων, εξαιτίας της εντροπίας που αναπτύσσεται κατά την ανάμειξη, αντισταθμίζοντας τις ελκτικές δυνάμεις που δρουν μεταξύ των

τασιενεργών μορίων. Καθώς, η συγκέντρωσή τους αυξάνεται μπορούν αυθόρμητα να μεταβούν σε μια ποικιλία από θερμοδυναμικά σταθερές δομές γνωστές ως κολλοειδής ένωση, για παράδειγμα, μικκύλια, διπλοστοιβάδες, φυσαλίδες, και το αντίστροφα μικκύλια. Η κύρια κινητήρια δύναμη για τη δημιουργία αυτών των δομών είναι η υδρόφοβη δράση η οποία προκαλεί το σύστημα να υιοθετήσει μια μοριακή δομή που ελαχιστοποιεί τις δυσμενείς επαφές με την επιφάνεια μεταξύ των μη πολικών ουρών των τασιενεργών μορίων και του νερού. Σε ακόμα υψηλότερες συγκεντρώσεις, οι τασιενεργές ουσίες μπορούν να οργανωθούν από μια ποικιλία υγρών κρυσταλλικών δομών, όπως εξαγωνική, φυλλώδη και ανεστραμμένη εξαγωνική δομή. Επιπλέον οι τασιενεργές ουσίες μπορούν να χωρισθούν σε μεγάλο αριθμό φάσεων, με διαφορετική σύνθεση και μοριακή οργάνωση. Η μοριακή οργάνωση των τασιενεργών ουσιών στα διαλύματα εξαρτάται κυρίως από τη γεωμετρία και τις αλληλεπιδράσεις των τασιενεργών μορίων, τη φύση του διαλύτη, τη σύνθεση του διαλύτη, και τη θερμοκρασία. Οι συγκεντρώσεις της τασιενεργούς ουσίας που συνήθως χρησιμοποιούνται στα γαλακτώματα τροφίμων είναι ανεπαρκείς για να οδηγήσουν στο σχηματισμό υγρής κρυσταλλικής δομής, αν και συχνά είναι αρκετά υψηλές ώστε να οδηγήσουν στο σχηματισμό κολλοειδών ενώσεων.

2.2.5.3 Σταθεροποίηση κατά Pickering

Pickering γαλακτώματα είναι γαλακτώματα σταθεροποιημένα με στερεά μόρια, έλλειψη κάθε μορίου τασιενεργής ουσίας, όπου τα στερεά μόρια προσροφώνται στην διεπιφάνεια του γαλακτώματος (o/w). Το κύριο χαρακτηριστικών συστημάτων που σταθεροποιημένων μορίων είναι ότι εάν τα μόρια έχουν τη σωστή ενέργεια επιφάνειας ή γωνία επαφής με τη διεπιφάνεια και επίσης έχουν μεγάλη περιοχή επιφάνειας, η ενέργεια της εκρόφησης ανά μόριο μπορεί να είναι της τάξης αρκετών χιλιάδων kT . Έτσι τέτοια μόρια προσροφώνται αποτελεσματικά στη διεπιφάνεια της σταγόνας όπως φαίνεται στο *Σχήμα 3* (Murray et al. 2011). Τα τελευταία χρόνια υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον στο τύπο αυτό των γαλακτωμάτων και συγκεκριμένα στη χρησιμοποίηση του hydroxyapatite (HAp, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) (Fujii et al. 2009). Για να γίνει πιο κατανοητό ο σχηματισμός αυτού του τύπου γαλακτώματος με τον υδροξυαπατίτη ακολουθεί σχηματική απεικόνιση (*Σχήμα 3*) της προσρόφησης των σωματιδίων HAp σε μια σταγόνα του γαλακτώματος



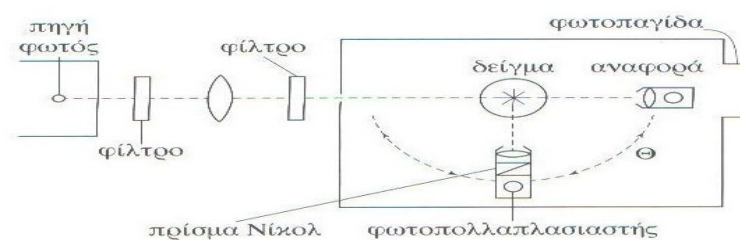
Σχήμα 3: Σχηματική μιας σταγόνας του γαλακτώματος που σταθεροποιείται από στερεά σωματίδια (Murray et al.2011).

2.3 Τεχνικές μέθοδοι

2.3.1 Αρχή της σκέδασης φωτός

Η σκέδαση του φωτός είναι θεμελιώδης για τα κolloειδή συστήματα γιατί καθορίζει το συμπαγές της εμφάνισης τους, αλλά επιτρέπει επιπλέον την ανάπτυξη μίας εξαιρετικής αναλυτικής τεχνικής χαρακτηρισμού τους (Γεράση, 2007).

Όταν δέσμη φωτός προσπέσει σε κolloειδές διάλυμα ένα μέρος της φωτεινής ακτινοβολίας διέρχεται δια του διαλύματος και το υπόλοιπο σκεδάζεται (διαχέεται) προς όλες τις κατευθύνσεις. Η όλη τεχνική της σκέδασης του φωτός συνιστάται στην μέτρηση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας από το διάλυμα σε διάφορες κατευθύνσεις σε σχέση με την προσπίπτουσα ακτινοβολία. Μια τυπική διάταξη της σκέδασης του φωτός παρουσιάζεται στο Σχήμα 4 (Παναγιώτου, 1998).



Σχήμα 4: Σχηματική παράσταση μιας διάταξης σκέδασης φωτός (Παναγιώτου, 1998)

2.3.2 Λυοφιλίωση

Η μέθοδος ξήρανσης των τροφίμων με λυοφιλίωση, συνιστάται στην κατάψυξη του υπό ξήρανση υλικό και κατόπιν στην εξάχνωση του σχηματισθέντος πάγου μέσα στο καταψυγμένο υλικό, ώστε να παραχθεί αφυδατωμένο προϊόν. Η εξάχνωση επιτελείται λόγω της δημιουργίας διαφοράς τάσεων υδρατμών μεταξύ του περιβάλλοντα το τρόφιμο χώρο και του μετώπου του πάγου μέσα στο τρόφιμο. Η

ξήρανση συντελεί σε τρία στάδια. Αρχικά, λόγω της κατάψυξης το νερό απομακρύνεται από τα ενυδατωμένα συστατικά του τροφίμου με την δημιουργία των παγοκρυστάλλων ή ευτηκτικών μιγμάτων. Κατόπιν με εξάχνωση οι κρύσταλλοι απομακρύνονται από την μάζα του τροφίμου. Τέλος αφού όλο το νερό, υπό μορφή πάγου έχει απομακρυνθεί, η παραμένουσα μικρή ποσότητα δεσμευμένου νερού απομακρύνεται με εξάτμιση που γίνεται με αύξηση της θερμοκρασίας του υλικού μέσα στον θάλαμο του λυοφιλιωτή. Στα περισσότερα συστήματα λυοφιλιωτή η κλίση της τάσης των ατμών που είναι απαραίτητη για την εξάχνωση, επιτυγχάνεται με την διατήρηση της ολικής πίεσης στο θάλαμο της ξήρανσης σε τιμές που κυμαίνονται από 0.1 έως 0.2 Torr (Ραφαηλίδης, 2007).

2.3.3 Ρεομετρία

Ρεολογία είναι η επιστήμη που είναι αφιερωμένη στη μελέτη της παραμόρφωσης και της ροής της ύλης. Πολλές από τις βασικές αρχές που συνδέονται με τη ροή ρευστών μπορούν να χρησιμοποιηθούν και για την περιγραφή της ροής αιωρημάτων, κοκκωδών προϊόντων ή κολλοειδών τροφίμων

Πέραν του σχεδιασμού του απαραίτητου εξοπλισμού η ρεολογική μελέτη των τροφίμων επιτρέπει την εκτίμηση της δομής τους, της λειτουργικότητας τους και της κατάστασης τους (π.χ. της μετουσίωσης πρωτεϊνών, ζελατινοποίησης αμύλου, σχηματισμό πήγματος κτλ). Συχνά χρησιμοποιείται για έλεγχο των πρώτων υλών ή των διεργασιών παραγωγής των προϊόντων.



Σχήμα5:Περιστροφικό ρεόμετρο

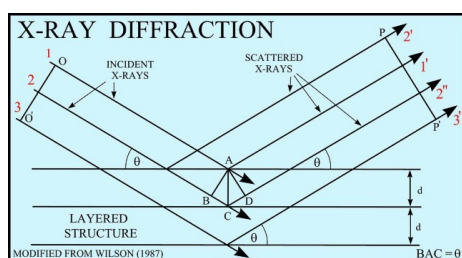
Το ρεόμετρο (Σχήμα 5) χρησιμοποιείται για να μπορέσουμε να κατηγοριοποιήσουμε τα ρευστά σε Νευτώνεια και μη-Νευτώνεια ρευστά. Η καταγραφή των δεδομένων στηρίζεται στην γεωμετρία των πλακών του οργάνου αν δηλαδή το ρευστό που χρησιμοποιήθηκε τοποθετείται ανάμεσα σε δυο κυλίνδρους, σε ένα κώνο και μια πλάκα ή σε έναν κώνο και ένα κύλινδρο. Επίσης βασικό ρόλο παίζει και η ακτίνα του κυλίνδρου καθώς και η απόσταση της επιφάνειας με το δείγμα και αυτής που ασκεί την διατμητική τάση στο ρευστό. Η διατμητική τάση που εφαρμόζεται αυξάνεται βαθμιαία καταγράφοντας 10 λογαριθμικά σημεία για κάθε εφαρμογή της τάσης που ασκείται. Η άσκηση της τάσης γίνεται με την περιστροφή του εξωτερικού κυλίνδρου και εξαρτάται από το χρόνο και τις στροφές στις οποίες είναι ρυθμισμένο το ρεόμετρο. Πάνω από την περιοχή που ασκείται η πίεση τα δεδομένα βρίσκονται σε κατάσταση ισορροπίας. Μετά την αύξηση της διατμητικής τάσης και την καταγραφή των σημείων υπάρχει σταδιακή

μείωση (Barnes, 2000). Το μεγαλύτερο ποσό της τάσης εφαρμόζεται όταν τα γαλακτώματα έχουν χαμηλή ελαιώδες φάση περίπου 20% εξαιτίας του χαμηλού ιξώδους (Wolf, 2009).

2.3.4 Περίθλαση ακτίνων X (XRD)

Η περίθλαση παρατηρείται γιατί η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία επηρεάζει τις δομές των μορίων με ποικιλία γεωμετρικών παραλλαγών της κλίμακας και του μήκους κύματος της ακτινοβολίας. Η απόσταση στους κρυστάλλους και στα μόρια είναι μεταξύ 0,15-0,4 nm η οποία αντιστοιχεί στο ηλεκτρομαγνητικό φάσμα και στο μήκος κύματος των ακτίνων X και η ενέργεια των φωτονίων είναι μεταξύ 3 και 8 keV. Έτσι φαινόμενα όπως η εποικοδομητική και καταστρεπτική παρέμβαση πρέπει να παρατηρείται όταν οι κρυσταλλικές και μοριακές δομές εκτίθενται σε ακτίνες X. (Birkholz, 2006)

Η βασική αρχή της περίθλασης πειραματικά είναι πολύ απλή. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 6 είναι μια μονοχρωματική (μόνο μήκος κύματος) δέσμη που πέφτει επάνω στο δείγμα. Η ένταση της ακτινοβολίας μετριέται ως συνάρτηση της γωνίας σκέδασης όπου είναι η γωνία θ . Η σημαντική μεταβλητή, ωστόσο, είναι το διάνυσμα της περίθλασης Q του οποίου το μέγεθος έχει σχέση με την γωνία σκέδασης και το μήκος κύματος.



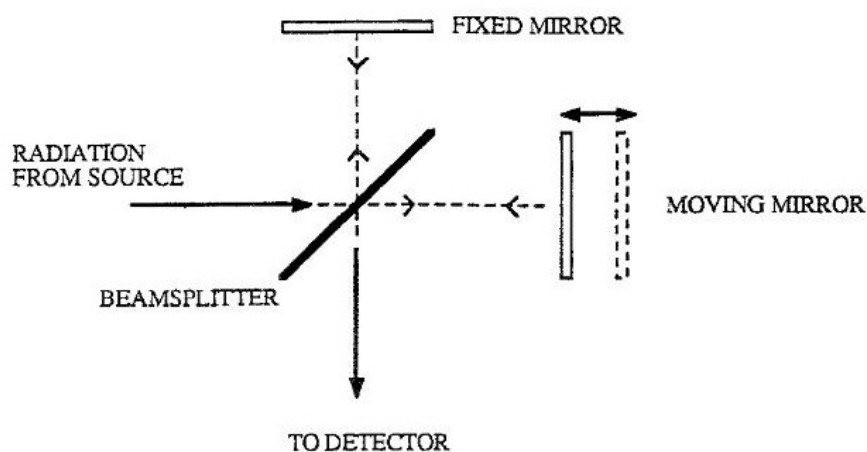
Σχήμα 6: Σχηματική απεικόνιση περίθλασης

Θα μπορούσαμε να μετρήσουμε την σκέδαση με δύο διαφορετικά μήκη κύματος και την ένταση σε σχέση με το διάνυσμα Q και παίρνοντας τα ίδια χαρακτηριστικά στις δύο καμπύλες για τιμές Q. Η απόσταση είναι αντιστρόφως ανάλογη ως προς το διάνυσμα Q (π.χ απόσταση $\sim 2\pi / Q$). Αυτό σημαίνει ότι για μεγάλης κλίμακας δομές (π.χ. 100 nm AgI₀) χρειαζόμαστε ένα μικρό Q (π.χ. $Q \sim 0,06^\circ \text{ \AA}^{-1}$). Για την επίτευξη μικρού Q χρειαζόμαστε έναν κατάλληλο συνδυασμό μεγάλου μήκους κύματος με μικρή γωνία περίθλασης. Η διάχυση του φωτός, το μήκος κύματος είναι συγκρίσιμη ή μεγαλύτερο από το μέγεθος της σκέδασης σωματιδίων χρησιμοποιείται γενικά. Το ορατό φως έχει μήκος κύματος 400-600 nm και είναι κατάλληλο για μεγέθη σωματιδίων πάνω από 0,01 μm αν και μικρότερα σωματίδια μπορεί να ανιχνευθούν.

Περιθλώνται από σωματίδια που έχουν έναν διαφορετικό δείκτη διάθλασης από εκείνη του περιβάλλοντος διαλύτη. Οι ακτίνες X (όπως το ορατό φως) αποτελούνται από ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Το χρήσιμο μήκος κύματος είναι μικρότερο από περίπου 0,2 nm, επειδή τα μεγαλύτερα μήκη κύματος τείνουν να προσροφώνται έντονα. Μικρή γωνία σκέδασης ακτίνων X είναι κατάλληλη για να αποστάσεις στο 1 nm-1μm εύρος. Ωστόσο για να μπορέσει να γίνει η περίθλαση των ακτίνων X σημαντική παράμετρος είναι η διαφορά στη μέση πυκνότητα των ηλεκτρονίων μεταξύ των σωματιδίων και του διαλύτη που δέχονται την ακτινοβολία περίθλασης. Επομένως, η μέθοδος αυτή είναι εξαιρετικά καλή για την διασπορά των υλικών με μεγάλο ατομικό αριθμό που βρίσκονται μέσα σε χαμηλό ατομικό αριθμό διαλυτών (π.χ. μέταλλα ή οξείδια στο νερό). Είναι λιγότερο καλό για διασπορές οργανικών υλικών σε υδατικούς διαλύτες, διότι η πυκνότητα ηλεκτρονίων για τα δύο υλικά είναι παρόμοια. (Richardson, 2005)

2.3.5 Φασματοσκοπία μετασχηματισμού Fourier υπέρυθρου (FTIR)

Στη φασματοσκοπία FTIR, το φάσμα μιας δέσμης υπέρυθρης ακτινοβολίας που παράγεται, λαμβάνεται αφού δημιουργηθεί και καταγράφεται σε συμβολογράφημα με τη σάρωση του Michelson συμβολομέτρου. Εν συνεχεία, το συμβολογράφημα αντιστρέφεται δια μέσου ενός συνημίτονο μετασχηματισμού Fourier στο ηλεκτρομαγνητικό φάσμα. Η αρχή του συμβολομέτρου Michelson φαίνεται στο Σχήμα 7.



Σχήμα 7: Διάγραμμα συμβολομέτρου Michelson (Davis, 2005)

Η συσκευή αποτελείται από δύο επίπεδα κάτοπτρα, ένα σταθερό και ένα ελεύθερο να κινηθεί, και ένα διαχωριστή ακτίνας. Η ακτινοβολία της υπέρυθρο πηγή προσπίπτει τον διαχωριστή ακτίνας 45°. Η χαρακτηριστική ιδιότητα του διαχωριστή

ακτίνας είναι ότι μεταδίδει και αντανακλά ίσα μέρη της ακτινοβολίας. Στο διαχωριστή ακτίνας υπάρχει παρεμβολή όπου η ακτινοβολία συνδυάζεται από τους δύο καθρέφτες. Όπως φαίνεται στο σχήμα όταν οι δύο καθρέφτες είναι σε ίση απόσταση ο διαχωριστής ακτίνας λαμβάνει χώρα μια εποικοδομητική παρεμβολή για την δέσμη που πρόκειται να ανιχνευθεί για όλα τα μήκη κύματος. Στην περίπτωση αυτή το μήκος διαδρομής των δύο ακτίνων στο συμβολόμετρο είναι ίσος και η διαφορά τους στην πορεία, ονομάζεται καθυστέρηση, η οποία είναι μηδενική. Ο σχηματισμός του διαγράμματος της απόκρισης του ανιχνευτή σε συνάρτηση με την καθυστέρηση παράγει ένα μοτίβο της έντασης του φωτός σε σχέση με την καθυστέρηση, που συνήθως αναφέρεται ως συμβολογράφημα. Το συμβολογράφημα μίας μονοχρωματικής πηγής είναι συνάρτηση ενός συνημίτονου. Η εξίσωση (1) την παραπάνω σχέση :

$$I(\delta) = B(v) \cos(2\pi v\delta) \quad (1)$$

Όπου v ο αριθμός των κυμάτων σε cm^{-1} και δ είναι η οπτική διαφορά διαδρομής ή καθυστέρησης. Ο μετασχηματισμός Fourier της παραπάνω σχέσης είναι μια κορυφή στη συχνότητα της μονοχρωματικής ακτινοβολίας. I είναι η ένταση στη δέσμη εξόδου ως συνάρτηση της καθυστέρησης (δ). Αντίθετα το συμβολογράφημα της πολυχρωματικής πηγής μπορεί να θεωρηθεί ως το άθροισμά όλων των συνημίτονων κυμάτων που παράγονται από τις μονοχρωματικές πηγές (Davis, 2005).

2.3.6 Οπτική μικροσκοπία

Ως οπτικά αναφέρονται τα μικροσκόπια που χρησιμοποιούν το τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος που είναι ορατό, δηλαδή από 380 – 760 nm. Ανάλογα με τη διάταξη των φακών και τον τρόπο παρατήρησης τα οπτικά μικροσκόπια διακρίνονται σε μικροσκόπια φωτεινού πεδίου, σκοτεινού πεδίου, αντίθεσης φάσεως. Το φως διαδίδεται με δύο κύματα, το ηλεκτρικό και το μαγνητικό, που είναι άρρηκτα συνδεδεμένα μεταξύ τους, και κάθετα το ένα στο άλλο, έχοντας την ίδια φάση και την ίδια ταχύτητα (Φασσέας, 2011).

Το μικροσκόπιο αποτελείται από ένα μεγεθυντικό σύστημα μέσω του οποίου ο παρατηρητής βλέπει το πρώτο είδωλο με ένα φακό που παράγει ένα δεύτερο πραγματικό είδωλο σε μεγέθυνση. Ένα φωτεινό πεδίο αναφέρεται στη σκοτεινή εμφάνιση ενός τεχνητά ή φυσικά χρωματισμένου δείγματος, διαφανούς ή αδιαφανούς, σε σχέση με ένα φωτεινό άσπρο υπόστρωμα. Οι ακτίνες που αντανακλώνται κάθετα προς το δείγμα δείχνουν την περιοχή φωτεινή ενώ οι ακτίνες

που ανακλώνται πλάγια δείχνουν την περιοχή σκοτεινή. Οι σκοτεινές και φωτεινές περιοχές μαζί μας δίνουν στοιχεία για το δείγμα μας. (Ζαχαριάδου, 2008)

3. Σκοπός της πτυχιακής

Σκοπός της εργασίας είναι:

- Η διερεύνηση σε βασικό επίπεδο της συμπεριφοράς των γαλακτωμάτων που περιέχουν τασιενεργά και σταθεροποιητές κατά Pickering
- Η διεπιφανειακή μικρενθυλάκωση υδροξυαπατίτη για χρήση σε λειτουργικά τρόφιμα

4. Υλικά και μέθοδοι

4.1.1 Υλικά

Υδροξυαπατίτης (HAp) αγοράστηκε από τη Sigma-Albrich (United kingdom), Span 60 (for synthesis) αγοράστηκε από τη Merck (Hohenbrunn, Germany), μυριστικό οξύ αγοράστηκε από τη Fluka (Buchs, Germany), στεατικό οξύ 99% (capillary GC) αγοράστηκε από τη Sigma-Albrich (Stenheim, Germany), κ-δεκαεξάνιο (for synthesis) αγοράστηκε από την εταιρία Merck (Hohenbrunn, Germany). Tris (υδροξυμεθύλιο- αμινομεθάνιο) και πελλέτες NaOH αγοράστηκαν από τη Merck (Darmstadt, Germany).

4.1.2 Όργανα

- Malvern Mastersizer 2000 για το προσδιορισμό μεγέθους των σταγονιδίων
- Οπτικό Μικροσκόπιο Axion Star της Zeiss
- Ομογενοποιητή υπέρηχων
- Λυοφιλωτή της Christ
- Συσκευή ιξώδους Bohlin CVOR 150 για το προσδιορισμό της ρεολογίας των γαλακτωμάτων
- Φασματοφωτόμετρο υπέρυθρου (FTIR) Nicolet 380 της Thermo για το προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των γαλακτωμάτων.
- X-ray diffraction (XRD) σε X' Pert Data Viewer της Panalytical για το προσδιορισμό της κρυσταλλικής φάσης και την σύνθεση των σωματιδίων του υδροξυαπατίτη

- CAM 200 Optical Contact Angle Meter , KSV INSTRUMENTS LTD για το προσδιορισμό της επιφανειακής τάσης.

4.1.3 Μεταχείριση δειγμάτων (Προετοιμασία δείγματος)

Παρασκευάστηκε ρυθμιστικό διάλυμα 25 Mm Tris σε pH= 10.5, όπου η ρύθμιση του pH έγινε με διάλυμα NaOH συγκέντρωσης 1N.

- Παρασκευή διαλυμάτων υδροξυαπατίτη

Σε γουδί τοποθετήθηκε μια ποσότητα υδροξυαπατίτη ώστε να μειωθεί το μέγεθος των σωματιδίων. Η ποσότητα αυτή καθώς και μια ποσότητα αρχικού δείγματος μετρήθηκαν σε μηχανήμα σκέδασης φωτός Malvern Mastersizer 2000 για τη καταμέτρηση μεγέθους των σωματιδίων. Έπειτα παρασκευάστηκαν διαλύματα υδροξυαπατίτη περιεκτικότητας 1% υδροξυαπατίτη και 1% λιπαρού οξέος καθώς και ένα διάλυμα χωρίς λιπαρό οξύ. Τα λιπαρά οξέα που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των τεσσάρων διαλυμάτων είναι το παλμιτικό, μυριστικό, στεατικό οξύ και Span. Πιο συγκεκριμένα, σε 50ml ρυθμιστικού διαλύματος Tris διαλύθηκαν 0,5g για κάθε ένα λιπαρό οξύ ξεχωριστά σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 30°C για 30-45 λεπτά. Αφού διαλύθηκαν τα λιπαρά οξέα προστέθηκε 0.5 g υδροξυαπατίτη και με μαγνητικό αναδευτήρα αναμιχτήκαν. Τα διαλύματα στην συνέχεια καταψύχθηκαν πριν λυοφιλιωποιηθούν. Η ίδια ακριβώς διαδικασία επαναλήφθηκε για συγκέντρωση του λιπαρού οξέος 0.1%.

- Παρασκευή γαλακτωμάτων υδροξυαπατίτη

Παρασκευάστηκαν γαλακτώματα περιεκτικότητας 0%, 0.5%, 1%, 2%, 3% και 4% υδροξυαπατίτη, 1% λιπαρού οξέος και 25% δεκαεξάνιο καθώς και ένα χωρίς λιπαρό οξύ. Τα λιπαρά οξέα που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των διαφορετικών γαλακτωμάτων είναι το παλμιτικό, μυριστικό, στεατικό οξύ και Span. Η λιπαρή φάση των γαλακτωμάτων περιείχε 0.75g λιπαρού οξέος και 9.6 g δεκαεξάνιο. Ενώ η υδατική φάση περιείχε 0g, 0.75g, 1.5g, 3g, 4.5g και 6g αντίστοιχα υδροξυαπατίτη και 37.5g ρυθμιστικό διάλυμα Tris. Στην συνέχεια αναμιγνύουμε τις δύο αυτές φάσεις και τις ομογενοποιούμε σε ομογενοποιητή υπερύθρων σε 1000rpm. Μέρος των δειγμάτων τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια. Ενώ μια μικρή ποσότητα των γαλακτωμάτων 1% και 4% υδροξυαπατίτη τοποθετήθηκε σε τριβλίο πετρί, το οποίο κλείστηκε με παραφίλμ και καταψύχθηκαν για να μπορέσει να γίνει η λυοφιλίωση τους. Πριν την είσοδο των δειγμάτων στο λυοφιλιωτή σε θερμοκρασία -15 °C τρυπήθηκε η επιφάνεια του παραφίλμ.

- Διαδικασία καθαρισμού υπερκάθαρων σκευών

Τα υπερκάθαρα σκεύη καθαριστήκαν με τον ακόλουθο τρόπο. Αρχικά, κάθε ένα σκεύος γεμίστηκε με πυκνό θειικό οξύ. Έπειτα τα σκεύη τοποθετήθηκαν σε ένα μεγάλο ποτήρι ζέσεως όπου καλυφθήκαν με πυκνό θειικό οξύ και παρέμειναν εκεί για μία ώρα. Μετά το πέρας της μίας ώρας ξεπλύθηκαν τρεις φορές με απιονισμένο νερό και μία φορά με αποσταγμένο νερό.

4.1.4 Μέθοδοι

➤ Malvern Mastersizer 2000

Μικρή ποσότητα γαλακτώματος (περίπου 1 ως 3 mL ανά περίπτωση) αραιώθηκε σε 500 mL διαλύματος pH 10 και στη συνέχεια μελετήθηκε η γωνιακή εξάρτηση της σκέδασης του φωτός σε συσκευή Malvern Masterziser 2000, με δείκτη διάθλασης 1.33 για την υδατική φάση και 1.42 για την ελαιώδη. Το φανταστικό μέρος της συνάρτησης του δείκτη διάθλασης (απορρόφηση) θεωρήθηκε μηδενικό.

➤ Μικροσκόπηση Optical microscopy (OM)

Τοποθετήθηκε μια ποσότητα των γαλακτωμάτων συγκέντρωσης 0% και 1% υδροξυαπατίτη στο οπτικό μικροσκόπιο Axion Star της Zeiss, με προσαρμοσμένη φωτογραφική μηχανή. Οι μετρήσεις έγιναν σε φακό 10 και 40

➤ Λυοφιλίωση

Η λυοφιλίωση των δειγμάτων έγινε στο λυοφιλιωποιητή (Freezer drier) της Christ σε θερμοκρασία -15°C για 48 ώρες. Το κενό που δημιουργήθηκε ήταν 1,650 mbar. Τα δείγματα που τοποθετήθηκαν σε τρυβλίο Petri όταν βγήκαν από τον λυοφιλιωτή συσκευάστηκαν σε σακούλες υπό κενό σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

➤ Fourier-transform infrared (FT-IR) measurement

Τα λυοφιλιωμένα δείγματα μετρήθηκαν στο φασματογράφο FT-IR Nicolet 380 της Thermo

➤ X-ray diffraction (XRD)

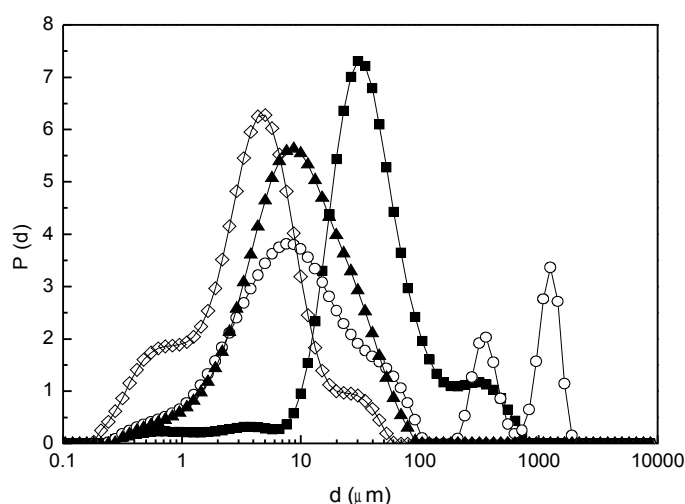
Τα λυοφιλιωμένα δείγματα μετρήθηκαν στο X' Pert Data Viewer της Panalytical σε μήκος κύματος της ακτίνας του χαλκού $\lambda = 1,54 \text{ \AA}$. Η περιοχή σάρωσης ήταν 10-40°. Το μέγεθος της βαθμίδας ήταν 0,06 και ο χρόνος αυτής ήταν 4,00. Οι μετρήσεις έγιναν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και η διάρκεια για κάθε μέτρηση ήταν 2 ώρες.

➤ Bohlin

Η μέτρηση του ιξώδους των γαλακτωμάτων σε συνάρτηση με τη διατμητική τάση πραγματοποιήθηκε σε ρεόμετρο Bohlin CVOR 150 (Malvern Instruments, UK).

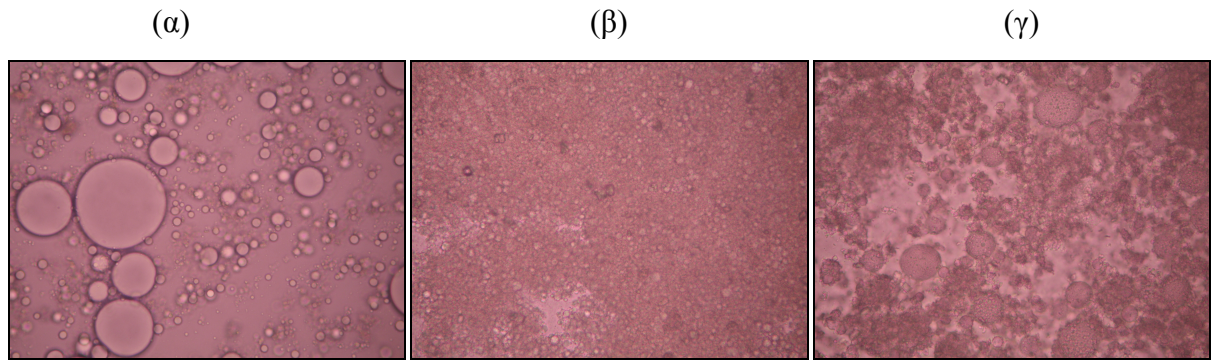
Χρησιμοποιήθηκε γεωμετρία κώνου και πλάκας (cone and plate) με ανώμαλη (serrated) επιφάνεια, θερμοστατημένη στους 25° C.

5. Αποτελέσματα – συζήτηση

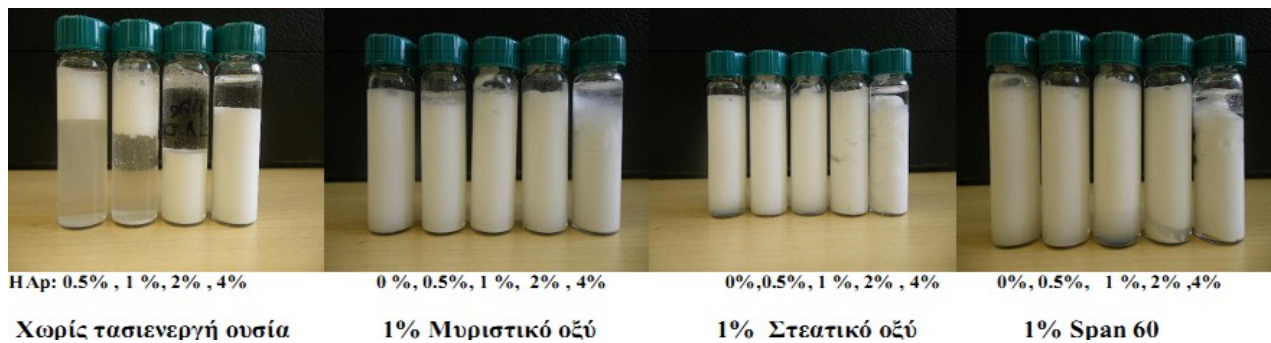


Σχήμα 8 : Κατανομές μεγέθους σωματιδίων για (■) υγρή διασπορά υδροξυαπατίτη (HAp) – παλμιτικού οξέος, (○) υγρή διασπορά HAp – Span 60, (▲) υγρή διασπορά σωματιδίων HAp και (◊) αέρια διασπορά σωματιδίων HAp

Στο Σχήμα 8 απεικονίζεται η κατανομή του μεγέθους των σωματιδίων του υδροξυαπατίτη (HAp), και σε αέρια διασπορά, καθώς και σε υγρή (pH 10) διασπορά που περιέχει τασιενεργή ουσία (Span 60 ή παλμιτικό οξύ). Συγκρίνοντας την κατανομή μεγεθών των σωματιδίων της αέριας διασποράς με αυτή της υγρής διασποράς, διαπιστώνεται ότι η διάμετρος της πρώτης είναι ελάχιστα πιο μικρή από της υγρής (~10μm). Αυτό δείχνει ότι ο υδροξυαπατίτης διασπείρεται ικανοποιητικά και δε συσσωματώνεται έντονα σε υδατικά διαλύματα. Αντίθετα οι διασπορές που περιέχει τασιενεργά (Span 60 ή παλμιτικό οξύ) παρουσιάζουν κορυφές σε μεγαλύτερες διαμέτρους, (~100 μm) προφανώς εξαιτίας κροκίδωσης των σωματιδίων (μικροσκοπική εξέταση απέκλεισε τη συσσωμάτωση (Σχήμα 9). Προφανώς η κροκίδωση αυτή σχετίζεται με την παρουσία των υδρόφοβων ουρών του τασιενεργού, οι οποίες συσσωματώνονται αφού το υδρόφιλο μέρος τους προσροφηθεί στον υδροξυαπατίτη, οδηγώντας τα σωματίδια του τελευταίου σε κροκίδωση.



Σχήμα 9: Εικόνα οπτικού μικροσκοπίου της ημέρας παρασκευής των γαλακτωμάτων που περιέχουν : (α) μόνο υδροξυαπατίτη (HAp) 1%, (β) Span 60 1%– HAp 1%, και μυριστικό οξύ 1%– HAp 1%. Η κλίμακα στη φωτογραφία 9α ισχύει για όλες τις φωτογραφίες και αντιπροσωπεύει 5 μm.

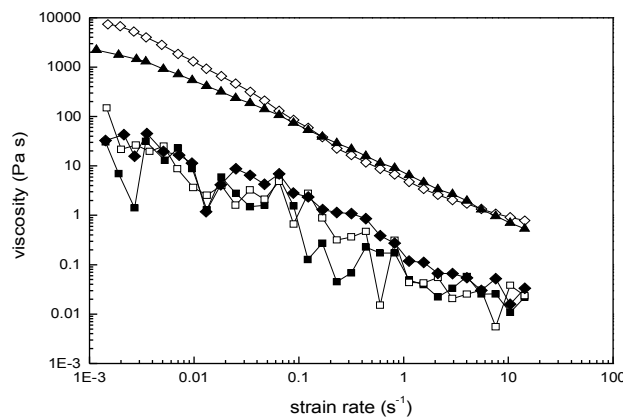


Σχήμα 10: Συμπεριφορά ως προς την αποκορύφωση των γαλακτωμάτων 4 ημέρες μετά από την παρασκευή τους. Τα γαλακτώματα περιείχαν μόνο HAp ,1% μυριστικό οξύ, 1% στεατικό οξύ, 1% Span 60 σε διαφορετικές συγκεντρώσεις υδροξυαπατίτη (HAp) οι οποίες αναγράφονται κάτω από την εικόνα.

Στο Σχήμα 10 παρουσιάζονται φωτογραφίες των γαλακτωμάτων 4 ημέρες από την παρασκευή τους. Τα γαλακτώματα που περιέχουν μόνο υδροξυαπατίτη (συγκεντρώσεις 0.5%–4%) ανέπτυξαν μια μικρή διαχωρισμένη ελαιώδη φάση στην κορυφή, αποτελούμενη από κ-δεκαεξάνιο. Αυτό το στρώμα, που προέκυψε από τη συγχώνευση των σταγονιδίων του ελαίου, μετρήθηκε να είναι 1mm, για ένα γαλακτώμα ύψους 47mm, δηλαδή το ένα δέκατο του ελαίου των γαλακτωμάτων που αποβάλλεται λόγω της συγχώνευσης. Η συγχώνευση των γαλακτωμάτων αυτών εμφανής στα μικρογραφήματα του Σχήματος 10α, στην οποία είναι προφανής η παρουσία σταγονιδίων μεγάλου μεγέθους. Στα γαλακτώματα με 0.5% και 1% υδροξυαπατίτη σχηματίζεται στρώμα κρέμας στη κορυφή. Η αποκορύφωση και η ακόλουθη εμφάνιση κρέμας σχετίζεται άμεσα με την κροκιδώση, καθώς κροκιδώματα μικρού μεγέθους συμπεριφέρονται υδροδυναμικά ως μεγάλα σταγονίδια (Dickinson

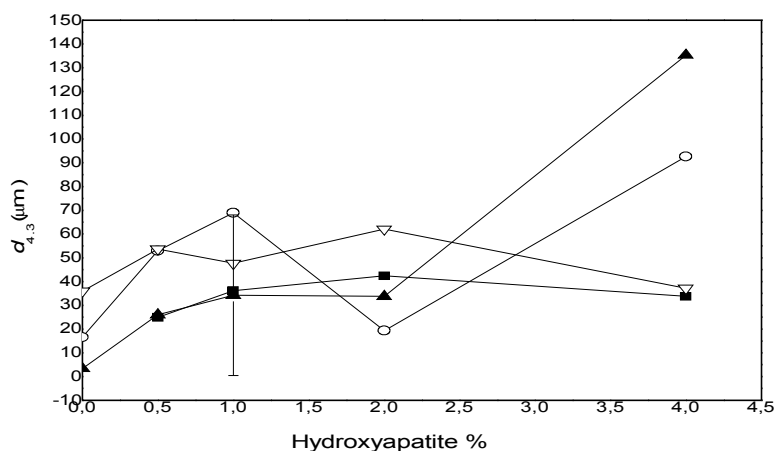
& Ritzoulis, 2000). Αυτό είναι αναμενόμενο για γαλακτώματα που εμφανίζουν κροκίδωση από γεφύρωση. Κάτι τέτοιο είναι κοινό στην περίπτωση γαλακτωμάτων με μικρή περιεκτικότητα σε μεγάλα τασιενεργά, λ.χ. πρωτεΐνες, όπου οι πρωτεΐνες μοιράζονται μεταξύ δύο σταγονιδίων, ουσιαστικά γεφυρώνοντάς τα (Dickinson & Golding, 1996). Κάτι τέτοιο πιθανόν συμβαίνει και στην περίπτωση του υδροξυαπατίτη, όπου μεγάλα σωματίδια HAp (10 μm) προσροφούνται σε δύο ή περισσότερα σταγονίδια. Καθώς τα σταγονίδια και τα σωματίδια είναι στην ίδια τάξη μεγέθους, δεν είναι δύσκολο να υποθέσει κάποιος το σχηματισμό εκτεταμένων δομών υδροξυαπατίτη–λιποσφαιριδίων. Τέτοιες εκτεταμένες δομές είναι κοινές κατά τη συνύπαρξη υδροξυαπατίτη και καζεϊνικών αλάτων (Ritzoulis *et al.*, 2004a,b, Ritzoulis *et al.*, 2010). Η παραπάνω θέση (της δημιουργίας συνεχούς δικτύου) ενισχύεται από το γεγονός ότι σε χαμηλές συγκεντρώσεις HAp, όπου ο βαρύτερος του νερού υδροξυαπατίτης είναι λίγος σε σχέση με το ελαφρύτερο κ-δεκαεξάνιο (“λάδι”), τα κροκιδώματα είναι ελαφρύτερα του νερού και ανεβαίνουν στην κορυφή ως κρέμα· σε υψηλότερες συγκεντρώσεις υδροξυαπατίτη, τα κροκιδώματα είναι βαρύτερα του νερού και καθιζάνουν ως ίζημα (Σχήμα 10α).

Στην περίπτωση της συνύπαρξης ανιονικού (παλμιτικού ή στεατικού οξέος) ή μη ιονικού (Span 60) τασιενεργού, η κροκίδωση είναι εμφανής, ιδιαίτερα σε μεγάλες συγκεντρώσεις υδροξυαπατίτη (λ.χ. στον έντονο διαχωρισμό φάσεων στις φωτογραφίες 10β, 10γ, 10δ για 2% και 4% υδροξυαπατίτη). Η έντονη κροκίδωση είναι εμφανής στο μικροσκόπιο (τα δεδομένα δεν παρουσιάζονται), αλλά και στις ρεολογικές μετρήσεις (Σχήμα 11), όπου οι τιμές του μετρούμενου ιξώδους παρουσία παλμιτικού οξέος αυξάνονται αισθητά για 2% και 4% υδροξυαπατίτη. Η αύξηση του ιξώδους και η εμφάνιση θιξοτροπικότητας συνάδουν με την ύπαρξη ενός μηχανικά συναφούς δικτύου υδροξυαπατίτη–σταγονιδίων, το οποίο καταρρέει μετά από μία δεδομένη τιμή διατμητικής τάσης (Σχήμα 11). Άμεση συνέπεια της ύπαρξης ενός τέτοιου δικτύου με υψηλό ιξώδες σε τιμές ρυθμού διάτμησης μικρότερες του $1s^{-1}$ είναι η σταθεροποίηση του γαλακτώματος ενάντια σε φαινόμενα αποκορύφωσης ή καθίζησης.



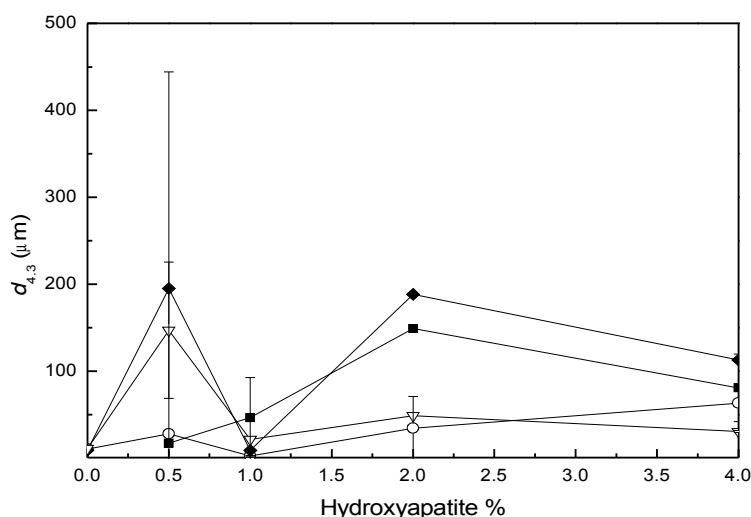
Σχήμα 11: Ιξώδες σε συνάρτηση με το ρυθμό διάτμησης για γαλακτώματα που περιέχουν 1% παλμιτικό οξύ και υδροξυαπατίτη: (■) 0% HAp, (□) 0,5% HAp, (▲) 1% HAp, (◇) 2% HAp και (◆) 4% HAp.

Αξιοσημείωτο είναι ότι τα γαλακτώματα που περιείχαν μόνον υδροξυαπατίτη δεν παρουσιάζουν υψηλές τιμές ιξώδους, δηλαδή δεν παρουσιάζουν εκτενή κροκίδωση (τα δεδομένα δεν παρουσιάζονται). Προφανώς τα τασιενεργά συμμετέχουν άμεσα στη δημιουργία του εκτενούς κροκιδωμένου δικτύου που περιγράφηκε. Στο Σχήμα 8 παρουσιάζονται οι κατανομές μεγεθών των σωματιδίων του HAp παρουσία και απουσία τασιενεργού: Τα σωματίδια παρουσία τασιενεργού είναι δέκα ως εκατό φορές μεγαλύτερα απ' ό,τι στην αντίθετη περίπτωση. Όπως προαναφέρθηκε η κροκίδωση του υδροξυαπατίτη παρουσία τασιενεργών πρέπει να σχετίζεται με υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ουρών των τασιενεργών τα οποία είναι προσροφημένα με την κεφαλή τους στην ιοντική ανόργανη ύλη.



Σχήμα 12: Μεταβολή της διαμέτρου των σταγονιδίων ($d_{4,3}$), 4 ημέρες από τη παρασκευή των γαλακτωμάτων που περιέχουν : (○) 1% μυριστικό οξύ, (▲) 1% στεατικό οξύ (▽) 1% Span 60 και (■) χωρίς τασιενεργή ουσία, σε συνάρτηση με την αύξηση της συγκέντρωσης του υδροξυαπατίτη (HAp)

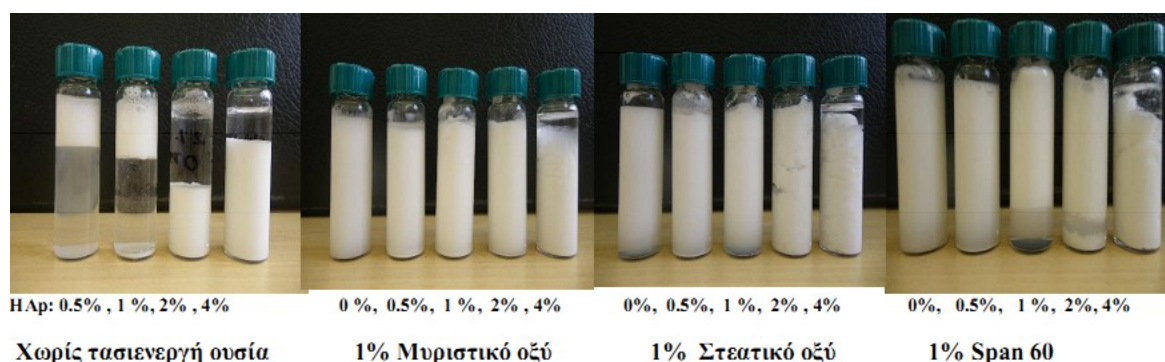
Η διάμετρος των σταγονιδίων, αλλά και των κροκιδωμάτων τους ανά περίπτωση, μετρήθηκε με τη μέτρηση της σκέδασης του φωτός σε συσκευή Malvern Mastersizer 2000. Στο Σχήμα 12 παρουσιάζονται οι μέσες διαμέτροι $d_{4,3}$ όπως αυτές μετρήθηκαν τέσσερις ημέρες μετά τη γαλακτωματοποίηση. Απουσία υδροξυαπατίτη προκύπτουν τα μικρότερα σταγονίδια, ενώ οι μετρούμενες διαμέτροι μεγαλώνουν καθώς προστίθεται ΗΑρ. Αυτό είναι λογικό, καθώς τα σωματίδια του υδροξυαπατίτη έχουν την ίδια τάξη μεγέθους με τα σταγονίδια (βλ. Σήμα 8), και προσμετρώνται στην $d_{4,3}$. Στην περίπτωση λιπαρών οξέων και 4% υδροξυαπατίτη, οι δομές είναι αρκετά μεγάλες, προφανώς εξαιτίας του προαναφερθέντος σχηματισμού γεφυρών και κροκίδωσης του υδροξυαπατίτη με τα σταγονίδια (αν και δεν πρέπει να παραβλεφθεί το γεγονός της προαναφερθείσας συγχώνευσης των σταγονιδίων)



Σχήμα 13: Μεταβολή της διαμέτρου των σταγονιδίων ($d_{4,3}$), 10 ημέρες από την παρασκευή γαλακτωμάτων που περιέχουν : (○) 1% μυριστικό οξύ, (◆) 1% στεατικό οξύ, (▽) 1% Span 60 και (■) χωρίς τασιενεργή ουσία, σε συνάρτηση με την αύξηση της συγκέντρωσης του υδροξυαπατίτη (HAp).

Μετά την πάροδο δέκα ημερών από τη γαλακτωματοποίηση, ενώ τα σταγονίδια που παρασκευάστηκαν χωρίς υδροξυαπατίτη παραμένουν με μικρές τιμές $d_{4,3}$ (Σχήμα 13), παρουσία HAp σε τιμές 2% και 4% οδηγεί σε εκτεταμένη κροκίδωση, προφανώς διαμέσου του προαναφερθέντος μηχανισμού. Αντίστοιχα μεγάλες τιμές $d_{4,3}$ σε 0,5% υδροξυαπατίτη οφείλονται σε γεφύρωση των σταγονιδίων από πολλαπλά προσροφημένα σωματίδια HAp. Σε συγκέντρωση 1%, τα σταγονίδια παραμένουν μικρά, καθώς υπάρχει ικανή ποσότητα του ανόργανου υλικού για τον κορεσμό της

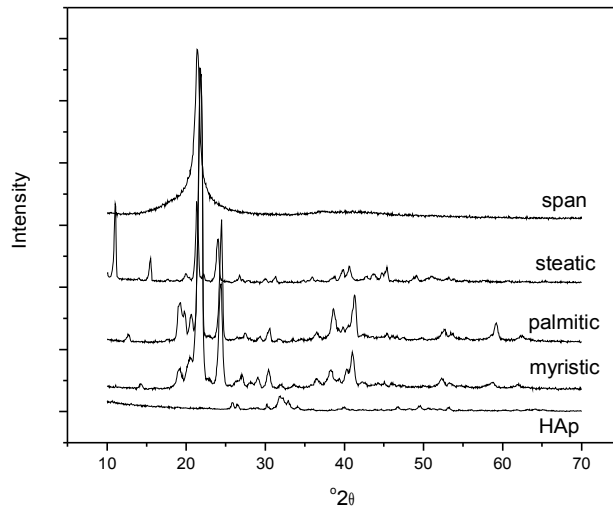
διεπιφάνειας, ενώ δεν υπάρχει αρκετή ποσότητα για το σχηματισμό εκτενούς δικτύου. Αυτό είναι σε συμφωνία με τα ρεολογικά δεδομένα του Σχήματος 11, κατά τα οποία μόνο μετά από 2% υδροξυαπατίτη παρατηρούνται θιξοτροπικά φαινόμενα, ενδεικτικά εκτενούς κροκίδωσης.



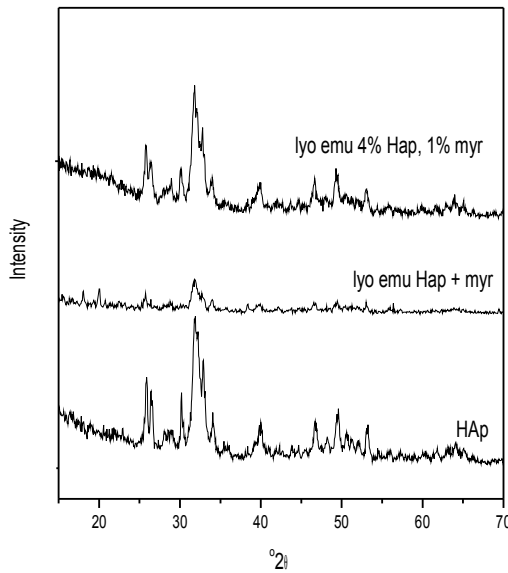
Σχήμα 14: Συμπεριφορά ως προς την αποκορύφωση των γαλακτωμάτων 10 ημέρες μετά από την παρασκευή τους. Τα γαλακτώματα περιείχαν μόνο HAp, 1% μυριστικό οξύ, 1% στεατικό οξύ, 1% Span 60 σε διαφορετικές συγκεντρώσεις υδροξυαπατίτη (HAp) οι οποίες αναγράφονται κάτω από την εικόνα.

Η πρόοδος της αποκορύφωσης σε συνάρτηση με το χρόνο ακολουθεί για τα γαλακτώματα που περιέχουν τασιενεργά συμπεριφορά παρόμοια με αυτήν των γαλακτωμάτων που περιέχουν μόνον υδροξυαπατίτη, αλλά με κάποια καθυστέρηση. Εντός 10 ημερών από τη γαλακτωματοποίηση, οι στιβάδες των λιποσφαιριδίων που περιβάλλονται από υδροξυαπατίτη αποκορυφώνονται ή καθιζάνουν σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις υδροξυαπατίτη (Σχήμα 14).

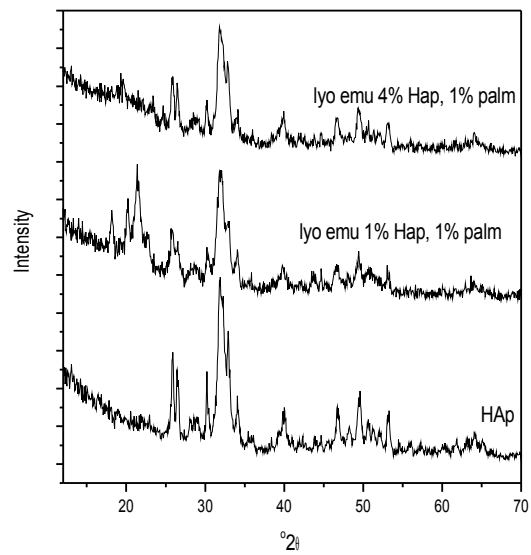
Η προφανής ερώτηση που γεννάται από τα παραπάνω αφορά την τοπολογία του υδροξυαπατίτη και των τασιενεργών σε σχέση με τη διεπιφάνεια: στην περίπτωση της συνύπαρξης υδροξυαπατίτη και τασιενεργών, ο υδροξυαπατίτης είναι άμεσα προσροφημένος στη διεπιφάνεια κ-δεκαεξανίου-νερού, ή προσροφάται ως δεύτερο στρώμα στα φορτισμένα λιπαρά οξέα που έχουν προσροφηθεί πρώτα στη διεπιφάνεια; Η κατανόηση της νανοαρχιτεκτονικής του διεπιφανειακού στρώματος μπορεί να οδηγήσει στη χειραγώγηση των ιδιοτήτων του γαλακτώματος προς εξειδικευμένες εφαρμογές, λ.χ. διεπιφανειακή σκληρότητα για αντοχή στην ωρίμανση κατά Ostwald με χρήση σε αεριζόμενα γαλακτώματα (σταθεροί αφροί, λ.χ. για παγωτά) ή χαμηλή διεπιφανειακή τάση και κυριαρχία του φαινομένου Marangoni για αντοχή στη συγχώνευση (λ.χ. σε καθαρά γαλακτώματα).



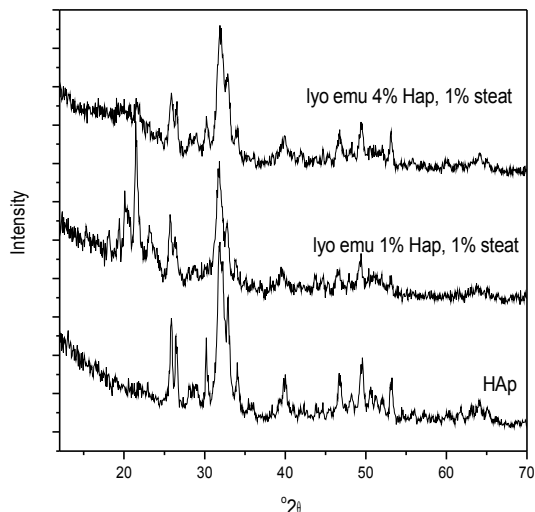
Σχήμα 15: Διαγράμματα περίθλασης ακτίνων X για υδροξυαπατίτη και τασιενεργά



Σχήμα 16: Διαγράμματα περίθλασης ακτίνων X για λυοφιλωμένα γαλακτώματα που περιέχουν υδροξυαπατίτη και μυριστικό οξύ



Σχήμα 17: Διαγράμματα περίθλασης ακτίνων X για λυοφιλωμένα γαλακτώματα που περιέχουν υδροξυαπατίτη και παλμιτικό οξύ

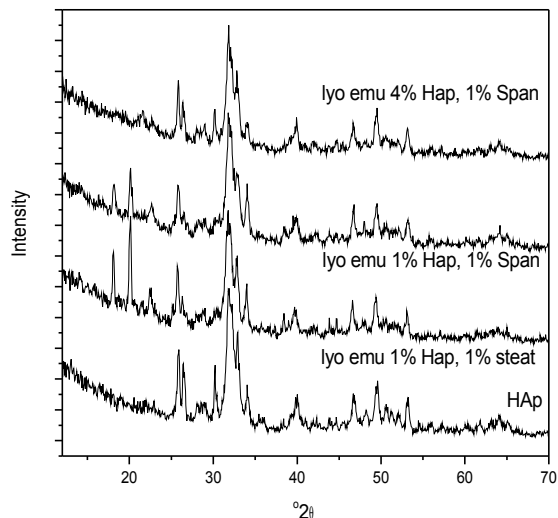


Σχήμα 18: Διαγράμματα περίθλασης ακτίνων X για λυοφιλωμένα γαλακτώματα που περιέχουν υδροξυαπατίτη και στεατικό οξύ

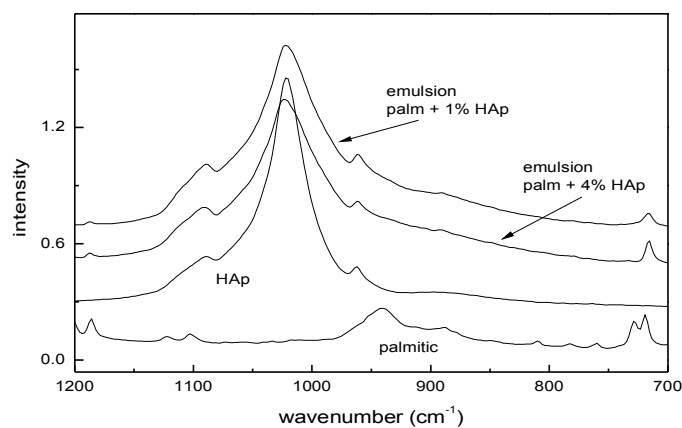
Για να απαντηθεί αυτό το ερώτημα,

γαλακτώματα λυοφιλώθηκαν και οι διεπιφανειακές στιβάδες μελετήθηκαν με τη χρήση περίθλασης ακτίνων X (XRD) για μεταβολές στην κρυσταλλικότητα των λιπαρών οξέων παρουσία υδροξυαπατίτη και αντίστροφα (Σχήματα 15-19). Οι χαρακτηριστικές κορυφές των τασιενεργών δε μετατοπίζονται παρουσία υδροξυαπατίτη και αντίστροφα.

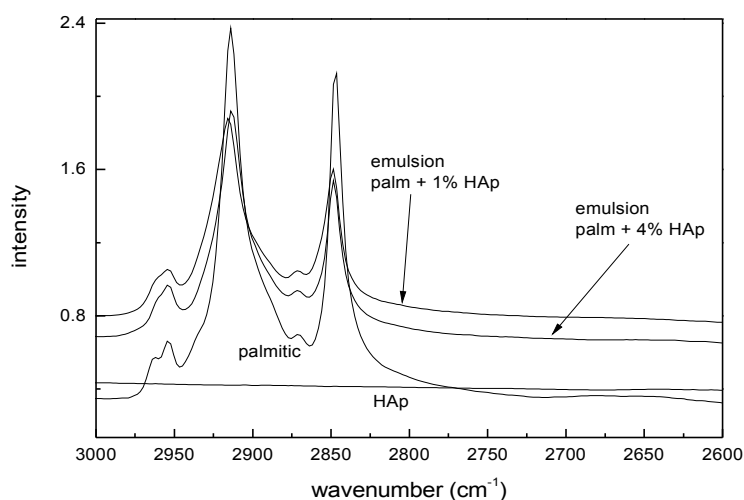
Η τυχόν αλληλεπίδραση μεταξύ υδροξυαπατίτη και λιπαρού οξέος μπορεί να διερευνηθεί με τη χρήση φασματοσκοπίας υπερύθρου. Σε αυτήν την περίπτωση, τυχόν αλληλεπιδράσεις μεταξύ των χαρακτηριστικών ομάδων των δύο ουσιών θα παρουσιασθούν ως βαθυχρωμία στα φάσματα απορρόφησης.



Σχήμα 19: Διαγράμματα περίθλασης ακτίνων X για λυοφιλωμένα γαλακτώματα που περιέχουν υδροξυαπατίτη και Span 60



Σχήμα 20: Φάσμα υπερύθρου για λυοφιλωμένα συστήματα υδροξυαπατίτη-παλμιτικού οξέος (περιοχή 1200–700 cm^{-1})

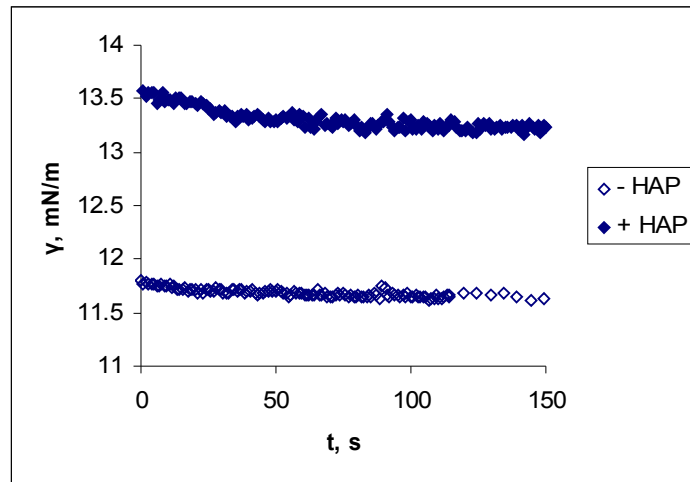


Σχήμα 21: Φάσμα υπερέρυθρο για λυοφιλιωμένα συστήματα υδροξυαπατίτη–παλμιτικού οξέος (περιοχή 3000–2600 cm^{-1})

Αν και τα φάσματα απορρόφησης έδωσαν πολύ καθαρές και επαναλήψιμες κορυφές, οι κορυφές των υδροξυλίων και των μεθυλομάδων στα 3000–2600 cm^{-1} δεν παρουσιάζουν βαθυχρωμία. Το ίδιο συμβαίνει και με τις φωσφορικές ομάδες του υδροξυαπατίτη μεταξύ 1100 – 1000 cm^{-1} .

Τα παραπάνω δεδομένα XRD και FTIR καταδεικνύουν ότι το διεπιφανειακό στρώμα των τασιενεργών δεν ανοίγει τη δομή του προκειμένου να φιλοξενηθεί διεπιφανειακή στιβάδα υδροξυαπατίτη. Αντίστροφα, η δομή του υδροξυαπατίτη δε φαίνεται να ανοίγει (οι αντίστοιχες κορυφές παραμένουν ως έχουν) παρουσία τασιενεργών. Τα παραπάνω συνηγορούν υπέρ δύο διακριτών επιφανειακών στρωμάτων, ενός απευθείας προσροφημένου στρώματος τασιενεργών (το οποίο θα ελεγχθεί με μετρήσεις επιφανειακής τάσης) και ένα ακόλουθο στρώμα υδροξυαπατίτη, προσροφημένο στις φορτισμένες κεφαλές του τασιενεργού.

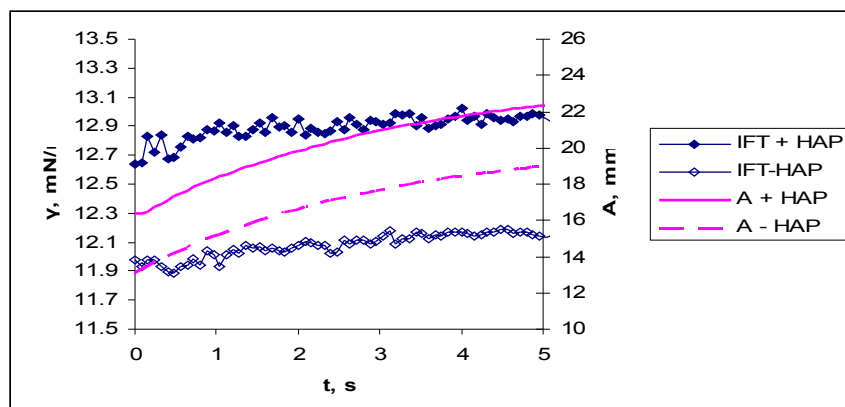
Η παραπάνω θεώρηση πρέπει αν ελεγχθεί με μετρήσεις διεπιφανειακής τάσης. Στο Σχήμα 20 παρουσιάζεται τυπικό αποτέλεσμα αυτών των μετρήσεων για διεπιφάνειες νερού–κ-δεκαεξανίου παρουσία μυριστικού οξέος. Οι διαφορές μεταξύ επαναλήψεων (~ 0.5-0.7 mN/m) είναι μικρότερες από αυτές παρουσία/απουσία HAp (~ 2 mN/m ή και λιγότερο) δεν μπορούν να θεωρηθούν σημαντικές.



Σχήμα 22: Τυπική καμπύλη δυναμικής διεπιφανειακής τάσης νερού–κ–δεκαεξανίου παρουσία/ απουσία υδροξυαπατίτη. Στο σύστημα υπάρχει πάντοτε μωριστικό οξύ.

Στο Σχήμα 22 παρατηρείται ότι παρουσία υδροξυαπατίτη η επιφανειακή τάση ανεβαίνει, γεγονός που υπονοεί μειωμένη κάλυψη από το λιπαρό οξύ στην επιφάνεια. Κάτι τέτοιο μπορεί να οφείλεται μόνον σε απευθείας προσρόφηση του Hap απευθείας στην επιφάνεια, καθιστώντας την τελευταία μη-προσβάσιμη στο τασιενεργό.

Στο Σχήμα 23 παρατίθενται δεδομένα για συστήματα υδροξυαπατίτη – παλμιτικού οξέος. Αν και προκαλείται σημαντική αύξηση επιφάνειας (~ 35%) σε 5s, η αύξηση της διεπιφανειακής τάσης λόγω της διαστολής είναι ελάχιστη (και παρόμοια) και στις δύο περιπτώσεις (~ 0.2 mN/m ή και λιγότερο, κοντά στο όριο ευαισθησίας της μέτρησης). Αυτό οφείλεται στην υψηλή συγκέντρωση του τασιενεργού που χρησιμοποιήθηκε. Ο ρυθμός αύξησης της τάσης είναι επίσης παρόμοιος. Οι τιμές που υπολογίστηκαν για το E_s είναι πολύ μικρές σε κάθε περίπτωση (<1.3 mN/m) και βέβαια στα όρια ακρίβειας υπολογισμού τους, οπότε μπορούν να θεωρηθούν κοντά στο 0. Τα αποτελέσματα είναι παρόμοια και για τις μετρήσεις κατά τη συρρίκνωση.



Σχήμα 23: Επιφανειακή τάση (ρόμβο, αριστερός άξονας) και μοριακή επιφάνεια(γραμμές, δεξιός άξονας), όπως υπολογίστηκαν σε συνάρτηση με το χρόνο για την περίπτωση παρουσίας γεμάτοι ρόμβοι, συνεχής γραμμή) και απουσίας (κενοί, ρόμβοι διακεκομμένη γραμμή) υδροξυαπατίτη.

6. Συμπεράσματα

Σωματίδια υδροξυαπατίτη στην τάξη μεγέθους μερικών μm είναι σε θέση να σταθεροποιήσουν μοντέλα γαλακτωμάτων κ-δεκαεξανίου σε νερό. Η ταυτόχρονη παρουσία ανιονικών τασιενεργών μικρού μοριακού βάρους οδηγεί σε βελτίωση της σταθερότητας απέναντι στην αποκορύφωση, αλλά όχι απέναντι στη συγχώνευση. Το τελευταίο προφανώς οφείλεται στο ότι η προστασία από τη συγχώνευση υπό την παρουσία υδροξυαπατίτη καθορίζεται από στεροεχημικούς παράγοντες, συγκεκριμένα από τη δυνατότητα των ανόργανων σωματιδίων να παράσχουν σταθεροποίηση κατά Pickering. Παρατηρήθηκε εκτεταμένη κροκίδωση από την ταυτόχρονη παρουσία υδροξυαπατίτη και τασιενεργούς. Αυτή πρέπει να αποδοθεί στην ηλεκτροστατική προσρόφηση των μορίων του τασιενεργού στα σωματίδια του υδροξυαπατίτη και υδροφοβική κροκίδωση μεταξύ των υδρόφοβων μερών των προσροφημένων τασιενεργών. Η παραπάνω διαδικασία μπορεί να οδηγήσει σε εκτεταμένα κροκιδώματα που εκτείνονται σε όλο το γαλάκτωμα και παρεμποδίζουν την αποκορύφωση ή την καθίζηση των κροκιδωμάτων. Αν και τα δεδομένα από XRD και FTIR υποδεικνύουν την προσρόφηση του υδροξυαπατίτη επάνω σε ένα ήδη σχηματισμένο στρώμα τασιενεργού, διεπιφανειακές μετρήσεις καταδεικνύουν την ύπαρξη μικτού στρώματος των δύο ουσιών.

7. Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

1. Agboola S.O and Dalgleish D.G. (1995). Calcium-induced destabilization of oil-in-water emulsions stabilized by caseinate or by b-lactoglobulin. *Journal of Food Science*, **60**, 399-404.
2. Aveyard R., Binks B.P., Clark S. and Fletcher P.D.I. (1990). Cloud points, solubilisation and interfacial tensions in systems containing non-ionic surfactants. *Chemical Technology and Biotechnology*, **48**, 161-167
3. Barnes A.H., (2000) *A Handbook of Elementary Rheology* pp 25-26 1st edition, University of Wales Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics
4. Braisch B., Köhler K., Schuchmann P.H and Wolf B., (2009) Preparation and Flow Behaviour of Oil-In-Water Emulsions Stabilized by Hydrophilic Silica Particles. *Chem. Eng. Technol* , **32**, 1107–1112
5. Birkholz M. (2006) *Thin Film Analysis by X-Ray Scattering*, pp 1-2, WILEY-VCH, Germany
6. Chanasattru W., Decker A.E and McClements.J.D. (2007). Inhibition of droplet flocculation in globular-protein stabilized oil-in-water emulsions by polyols. *Food Research International*, **40**, 1161–1169
7. Chen C. , Riman R., TenHuisen K.and Brown K. (2004). Mechanochemical–hydrothermal synthesis of hydroxyapatite from nonionic surfactant emulsion precursors. *Journal of Crystal Growth*, **270**, 615–623
8. Davis S., (2005) *Colloid Science Principles, Methods and Applications*, pp 268-282, CRC press,Boca Raton London New York Washington
9. Dickinson E. and Ritzoulis C. (2000). Creaming and Rheology of oil-in-Water Emulsions Containing Sodium Dodecyl Sulfate and Sodium Caseinate. *Journal of Colloid and Interface Science*, **224**, 148-154.
10. Dickinson, E. and Golding M. (1997). Rheology of sodium caseinate stabilized oil-in-water emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, **191**, 166–176.
11. Dementriades K., Coupland J.N and McClements D.J. (1997). Physicochemical properties of whey protein-stabilized emulsions as affected by heating and ionic strength. *Journal of Food Science*, **62**, 462-467.

12. Eastoe J. (2005). Colloid Science Principles, Methods and Applications ,pp 50-52, Bristol Colloid Center, United Kingdom
13. Fujii S., Okada M., Sawa H., Furuzono T. and Nakamura Y. (2009). Hydroxyapatite Nanoparticles as Particulate Emulsifier: Fabrication of Hydroxyapatite-Coated Biodegradable Microspheres. *Langmuir*, **25**(17), 9759–9766
14. Irudayaraj J. and Reh C., (2008) .Nondestructive Testing of Food Quality, pp 113-140, Blackwell Publishing and the Institute of Food Technologists, USA
15. McClements D. J., (2005). Food emulsions: Principles, practice and techniques, pp 185-233, Crc press, Boca Raton London New York Washington
16. Murray B. S., Durga K., Yusoff A. and Stoyanov S.D.(2011) Stabilization of foams and emulsions by mixtures of surface active food-grade particles and proteins. *Food Hydrocolloids*, **25**, 627-638
17. Richardson.R., (2005). Colloid Science Principles, Methods and Applications, pp 228-230, Bristol Colloid Centre, United Kingdom
18. Ritzoulis C., Scoutaris N., Papademetriou K., Stavroulias S., and Panayiotou C.(2004). Milk Protein–Based Emulsion Gels for Bone Tissue Engineering. *Food Hydrocolloids*, **19**, 575–581.
19. Ritzoulis C., Scoutaris N., Demetriou E., Papademetriou K., Kokkou S., Stavroulias S. and Panayiotou C.(2004). Formation of Hydroxyapatite /Biopolymer Biomaterials. I. Microporous composites from solidified emulsions. *J Biomed Mat Res A* ,**71 A**,675–684.
20. Ritzoulis C., Strobl M., Beckmann F., Vasiliadou C., Vasilakos V., Tsiopstias C., Choinka G., Herten J. and Donath T.(2010). Novel Biocompatible Caseinate – Hydroxyapatite Composite Materials for Bone Tissue Engineering: Ultra-Small Angle Neutron Scattering and X-Ray Tomography Examination *Materials Chem. Phys*, **123**, 77–82
21. Saha S., Banerjee A., Banerjee S. and Bose S. (2009). Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite using surfactant template systems: Role of templates in controlling morphology. *Materials Science and Engineering C*, **29**, 2294–2301

Ελληνική βιβλιογραφία

1. Γεράση Κ.,(2006) Εργαστηριακές σημειώσεις Ανάλυσης ΙΙ, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, ΑΤΕΙ, Θεσσαλονίκης
2. Δρακού Α., (2006) Λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών του λευκώματος του αυγού σε γαλακτώματα τύπου εμβάμματος σαλάτας, Διπλωματική εργασία, Θεσσαλονίκης.
3. Ραφαηλίδης Σ.,(2007) Εργαστηριακές σημειώσεις Επεξεργασίες ΙΙ, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, ΑΤΕΙ, Θεσσαλονίκης
4. Παναγιώτου Κ., (1998) Διεπιφανειακά φαινόμενα και κολλοειδή συστήματα pp 159-166, Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκης
5. Πετεκίδης Γ. (2010) Πολυμερή, Κολλοειδή, Βιο-υλικά. Πτυχιακή εργασία του Πανεπιστημίου Κρήτης.
6. Φασσέας Κ.(2010) Οπτικά (Φωτινικά) Μικροσκόπια Και Γενικές Αρχές. Εργασία του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθήνας