

ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

«Μελέτη της επίδρασης επιφανειοδραστικών ενώσεων στο μέγεθος των λιποσφαιριδίων του γάλακτος με Μονοφασική Χρωματογραφία Πεδίου και με Δυναμική Σκέδαση Φωτός»

Πτυχιακή Μελέτη

Παϊαυλά Δήμητρα

A.M. 2011047



ΚΑΛΑΜΑΤΑ

2016

ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

«Μελέτη της επίδρασης επιφανειοδραστικών ενώσεων στο μέγεθος των λιποσφαιριδίων του γάλακτος με Μονοφασική Χρωματογραφία Πεδίου και με Δυναμική Σκέδαση Φωτός»

Παϊαυλά Δήμητρα

Επιβλέπων Καθηγητής
Καπόλος Ιωάννης,

ΚΑΛΑΜΑΤΑ
2016

Περιεχόμενα

Περιεχόμενα.....	3
Περίληψη.....	6
Abstract	7
Κεφάλαιο 1° Κολλοειδή.....	8
1.1 Το γάλα γενικά	8
1.2 Κολλοειδή γενικά	11
1.3 Γενικές μέθοδοι παρασκευής κολλοειδών συστημάτων	15
A. Μέθοδοι διασκόρπισης	16
1.3.1 Μηχανική πέψη.....	16
1.3.2 Πέψη με ιόντα	16
1.3.3 Πέψη με πλύση	17
B. Μέθοδοι συσσωμάτωσης	17
1.3.4 Διπλή αντικατάσταση.....	17
1.3.5 Αναγωγή.....	17
1.3.6 Οξείδωση.....	17
1.3.7 Υδρόλυση.....	18
1.3.8 Αλλαγή διαλυτικού.....	18
1.4 Σταθερότητα κολλοειδών συστημάτων διασποράς	18
1.4.1 Λυόφοβα κολλοειδή.....	19
1.4.2 Λυόφιλα κολλοειδή.....	19
1.5 Καταστροφή των κολλοειδών συστημάτων. Κροκίδωση	21
1.6 Ιδιότητες κολλοειδών σωματιδίων	23
1.7 Ο ρόλος των κολλοειδών στη βιομηχανία	25
1.8 Γαλακτώματα.....	27
1.8.1 Γενικά.....	27
1.8.2 Αποσταθεροποίηση των γαλακτωμάτων.....	30
1.9 Γαλακτωματοποιητές και μηχανισμοί δράσης τους.....	32
1.10 Πρωτεΐνες ως γαλακτωματοποιητές.....	32
1.11 Καζεΐνες	35

1.12 Πρωτεΐνες Ορού Γάλακτος (WP)	37
1.13 Συνθετικοί γαλακτωματοποιητές.....	38
Κεφάλαιο 2ο ΣΚΕΔΑΣΗ ΤΟΥ ΦΩΤΟΣ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ	41
2.1 Σκέδαση του φωτός.....	41
2.2 Θεωρίες για την σκέδαση του φωτός	43
2.2.1 Θεωρία σκέδασης Rayleigh	43
2.2.2 Θεωρία της σκέδασης Mie	45
2.3 Κατηγορίες σκέδασης.....	46
2.3.1 Στατική σκέδαση του φωτός	47
2.3.2 Δυναμική σκέδαση του φωτός.....	47
2.4 Βασική διαφορά των δυο μεθόδων	53
2.5 Συσχέτιση και μέγεθος σωματιδίων /Η σκέδαση του φωτός ως εργαλείο για την μέτρηση μεγέθους σωματιδίων.....	55
2.6 Πλεονεκτήματα χρήσης της μεθόδου για τον προσδιορισμό του μεγέθους σωματιδίων.	58
Κεφάλαιο 3ο ΜΟΝΟΦΑΣΙΚΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΠΕΔΙΟΥ	60
3.1 Γενικές Αρχές της Μονοφασικής Χρωματογραφίας Πεδίου.....	60
3.2 Βασικές αρχές λειτουργίας της Μονοφασικής χρωματογραφίας πεδίου	63
3.3 Αποκλίσεις από την κλασική θεωρία συγκράτησης στην ΜΧΠ	65
3.3.1 Δυνάμεις ανύψωσης	65
3.3.2 Ολίσθηση σωματιδίου	66
3.3.3 Δυνάμεις Van der Waals.....	66
3.3.4 Ηλεκτροστατικές δυνάμεις.....	67
3.3.5 Επίδραση του ιξώδους στο μέτωπο ροής του διαλύτη	68
3.3.6 Επίδραση των τοιχωμάτων στο μέτωπο ροής του διαλύτη.....	68
3.3.7 Χρόνος εξισορρόπησης του δείγματος	68
3.3.8 Αλληλεπιδράσεις σωματιδίων – Φαινόμενο υπερκορεσμού.....	69
3.4 Είδη και διαφορετικές τεχνικές της μονοφασικής χρωματογραφίας πεδίου	71
3.4.1 Ασύμμετρη μονοφασική χρωματογραφία πεδίου	71
3.4.2 Μονοφασική Χρωματογραφία Φυγοκεντρικού Πεδίου	74
3.4.3 Μονοφασική Χρωματογραφία Διασταυρούμενου Πεδίου Ροής	76
3.4.4 Μονοφασική Χρωματογραφία Θερμικού Πεδίου	77
3.4.5 Μονοφασική Χρωματογραφία Ηλεκτρικού Πεδίου	77
3.5 Γενική Οργανολογία της Μονοφασικής Χρωματογραφίας πεδίου και περιγραφή της διαδικασίας διαχωρισμού των κolloειδών	79

3.5.2 Διαδικασία κλασματοποίησης	80
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	82
4.1 Δείγματα και όργανα του πειράματος.....	82
4.2 Πειραματική πορεία.....	84
4.3 Αποτελέσματα μετρήσεων.....	87
4.4 Γενικά συμπεράσματα	101
4.4.1 Βασικές παρατηρήσεις από αποτελέσματα μονοφασικού χρωματογράφου	101
4.4.2 Βασικές παρατηρήσεις από τα αποτελέσματα της δυναμικής σκέδασης φωτός	101
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	103

Περίληψη

Το γάλα μπορεί να περιγραφεί ως ένα κολλοειδές σύστημα που περιέχει γαλατοματοποιημένα σφαιρίδια λίπους, πρωτεΐνες κ.α. συστατικά. Κολλοειδές χαρακτηρίζεται το ομογενές μείγμα που περιέχει μικροσκοπικά σωματίδια μιας χημικής ουσίας ομοιόμορφα διασκορπισμένα μέσα σε μια άλλη ουσία και μεταξύ τους παραμένουν μη αναμίξιμα. Τα κολλοειδή είναι συστήματα διασποράς με μικρό μέγεθος σωματιδίων της τάξεως 1nm και 0.5 μm. Σε αυτή την εργασία ασχολούμαστε με τα γαλακτώματα δηλαδή την κολλοειδή διασπορά ενός υγρού σε άλλο υγρό μη αναμίξιμο με το πρώτο. Στα γαλακτώματα οι δυο μη αναμίξιμες φάσεις είναι έλαιο και νερό όπως είναι το γάλα που μελετήσαμε εμείς. Το γάλα αν το αφήσουμε σε ηρεμία θα διαχωριστεί σε δυο στιβάδες, η πάνω με τα σφαιρίδια λίπους και η κάτω θα αποτελείται από το μέσο διασποράς. Αυτός ο διαχωρισμός μπορεί να αποφευχθεί ή να γίνει σε βραδύτερο χρόνο αν το γάλα ομοιογενοποιηθεί . Στην διαδικασία αυτή απαιτούνται οι γαλακτωματοποιητές, δηλαδή ουσίες που διευκολύνουν το σχηματισμό του γαλακτώματος συμβάλλοντας ταυτόχρονα στην σταθεροποίηση του. Υπάρχουν δυο είδη, οι συνθετικοί γαλακτωματοποιητές και οι πρωτεΐνες(οι καζεΐνες και οι πρωτεΐνες του ορού του γάλακτος). Σε αυτή την εργασία μελετήσαμε έναν συνθετικό γαλακτωματοποιητή (Tween) και τους δυο φυσικούς και μαζί με διάφορα είδη ελαίου και σε διαφορετικές ποσότητες εξετάσαμε πιο δημιουργεί καλύτερο γαλάκτωμα και πως επηρεάζει ο κάθε γαλακτωματοποιητής το μέγεθος των λιποσφαιριδίων στο γάλα. Για την μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της Μονοφασικής χρωματογραφία πεδίου και η Δυναμική Σκέδαση φωτός. Παρατηρήθηκε ότι τα καλύτερα αποτελέσματα καθώς και τα μικρότερα σε μέγεθος σωματίδια τα έδωσε ο συνδυασμός Tween με έλαιο καλαμποκιού (corn oil) .Μικρότερη απόδοση είχε η πρωτεΐνη του ορού (whey) και τέλος λιγότερο αποτελεσματική με τα μεγαλύτερα σε μέγεθος σωματίδια έδωσε η καζεΐνη.

Λέξεις κλειδιά: συνθετικοί γαλακτωματοποιητές, καζεΐνη, πρωτεΐνη του ορού, κολλοειδή, γαλακτώματα.

Abstract

Milk can be described as a colloidal system that contains emulsified fat globules, proteins and other components. As colloidal can be characterized a homogeneous mixture containing very small particles of a chemical compound uniformly dispersed into another chemical substance and remaining immiscible between them. Colloids are dispersions of small particle sizes of 1nm to 0.5 μm . In this paper we study the emulsions which is the colloidal dispersion of one liquid in another liquid that is immiscible with the first one. In the emulsions the two immiscible phases are oil and water and a characteristic example is milk which we have studied. Milk if it is let to calm without any interference, will be separated into two layers, the upper layer will be the fat globules and the bottom layer the dispersant. This separation can be avoided or been slowed down if the milk is homogenized. In this process emulsifiers are required, which are substances that facilitate the formation of the emulsion and contribute to stabilization. There are two kinds of emulsifiers, the synthetic emulsifiers and proteins (caseins and whey proteins). In this study we examined a synthetic emulsifier (Tween) and both natural proteins and we combined them with different types of oil. Various different amounts and combinations of them were tested to see which one creates better emulsion and how each of them affects the emulsifier size of fat globules of milk. For this study, Asymmetric Field flow fractionation chromatography was used, paired with Dynamic Light Scattering. We have concluded that the best results were given by the combination of Tween with corn oil which gave as the smallest in size particles. The second best seemed to be the whey protein and the one who was the least effective in emulsion and gave the biggest particles was casein.

Key words: surfactants, casein, tween, whey protein, colloids, emulsions.

Κεφάλαιο 1^ο Κολλοειδή

1.1 Το γάλα γενικά

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα αποτελούν ένα πολύ σημαντικό μέρος της διατροφής του ανθρώπου σήμερα καθώς περιέχονται ως συστατικά σε πολλά προϊόντα αλλά και τα ίδια τα γαλακτοκομικά, δηλαδή το γάλα και τα παράγωγα του έχουν βασική θέση στη διατροφική πυραμίδα. Ουσιαστικά το γάλα είναι η κύρια τροφή του ανθρώπου από τη στιγμή της γέννησης του, βοήθα πολύ στην ανάπτυξη κατά την παιδική και εφηβική ηλικία αλλά αποτελεί σημαντικό κομμάτι και της διατροφής του ως ενήλικας. Το γάλα είναι πηγή πρωτεϊνών, πολλών αλάτων, μετάλλων, ενζύμων, αντιβακτηριακών ουσιών, βιταμινών και υδατανθράκων κυρίως λακτόζης.

Το γάλα μπορεί να περιγραφεί ως ένα κολλοειδές εναιώρημα που περιέχει γαλατοματοποιημένα σφαιρίδια λίπους, μια ετερογενή ομάδα πρωτεϊνών, την λακτόζη (υδατάνθρακας), άλατα, βιταμίνες και ένζυμα. Το είδος γάλακτος που έχει μελετηθεί περισσότερο μέχρι σήμερα είναι το αγελαδινό το οποίο αν και υγρή τροφή περιέχει κατά μέσο όρο 12% στερεά συστατικά, από τα οποία το 8,6% είναι συστατικά χωρίς λίπος. (Καμινारीδης και Μοάτσου, 2009), (Glantz, 2010).

Πίνακας 1. Τα κύρια και δευτερεύοντα συστατικά του γάλακτος, σημαντικά για την καθημερινή διατροφή του ανθρώπου.

Κύρια συστατικά (%)	περιεκτικότητα
Νερό	77,6
Στερεά συστατικά χωρίς λίπος	8,65
Λακτόζη	4,75
Λίπος	3,75
Πρωτεΐνες	3,25

Μεταλλικά στοιχεία	Είναι το 0,65% του συνόλου
Ασβέστιο (mg/L)	1250
Κάλιο	1200
Φώσφορος	1000
Χλώριο	1000
Νάτριο	440
Βιταμίνες (mg/L)	
Βιταμίνη C	21,1
Βιταμίνη A	0,4
Βιταμίνη E	0,98
Βιταμίνη B6	0,64
Θειαμίνη B1	0,44
Ριβοφλαβίνη B2	1,75
Νιασίνη	0,94

Το συστατικό που βρίσκεται σε μεγαλύτερη αναλογία στο γάλα είναι το **νερό**, μέσα στο οποίο βρίσκονται διαεσπαρμένα όλα τα άλλα συστατικά του. Η **λακτόζη** είναι ο χαρακτηριστικότερος υδατάνθρακας του γάλακτος. Είναι αναγωγικός δισακχαρίτης που αποτελείται από γλυκόζη και γαλακτόζη.

Το **λίπος** του γάλακτος αποτελείται κυρίως από τριγλυκερίδια, τα λιπαρά οξέα τα οποία διαφέρουν πολύ ως προς το μέγεθος (2-2 άτομα C) και τον αριθμό των διπλών δεσμών (0 έως 4 δ.δ.). Σε μικρότερες συγκεντρώσεις απαντώνται και άλλα λιπίδια όπως φωσφολιπίδια, χοληστερόλη, ελεύθερα λιπαρά οξέα και διγλυκερίδια.

Το 80% των **πρωτεϊνών του γάλακτος** αποτελεί η καζεΐνη, η οποία είναι μίγμα περίπου 10 διαφορετικών συστατικών και είναι αδιάλυτη σε pH 4,6. Το υπόλοιπο 20% των πρωτεϊνών που είναι διαλυτό σε pH 4,6 αποτελείται από τις πρωτεΐνες του ορού και από πολυάριθμες άλλες πρωτεΐνες όπως είναι τα ένζυμα

τα οποία αν και βρίσκονται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις έχουν σημαντική δραστηριότητα στο γάλα.

Τα **άλατα** του γάλακτος είναι κυρίως απλά ή σύμπλοκα ιονισμένα κατά ένα μέρος. Στην πλειονότητα τους είναι φωσφορικά, κιτρικά, χλωριούχα, θειικά, ανθρακικά και διττανθρακικά άλατα των K, Na, Ca και Mg. (Καμινारीδης και Μοάτσου, 2009)

Δομή του γάλακτος

Η δομή αφορά στον τρόπο με τον οποίο βρίσκονται τα συστατικά μέσα στο γάλα. Το γάλα από φυσικοχημική άποψη είναι σύνθετο βιολογικό υγρό στο οποίο υπάρχουν όλες οι μορφές διαμερισμού, κολλοειδής και μοριακός. Τα κυριότερα δομικά στοιχεία του γάλακτος είναι:

- Η λιπαρή φάση του βρίσκεται στο γάλα με τη μορφή μικρών σφαιριδίων, των **λιποσφαιριδίων**, που αποτελούνται από έναν ετερογενή πυρήνα τριγλυκεριδίων, ο οποίος περιβάλλεται από μεμβράνη πρωτεϊνικής φύσεως. Γάλα χωρίς λιποσφαιρίδια ονομάζεται πλάσμα γάλακτος, που είναι όρος ισοδύναμος με το άπαχο γάλα.
- Τα **καζεϊνικά μικκύλια** είναι μικρά τεμαχίδια που αποτελούνται από καζεΐνη, νερό, άλατα και ένζυμα. Πλάσμα γάλακτος ή άπαχο γάλα χωρίς καζεΐνη ονομάζεται ορός του γάλακτος.
- Οι **πρωτεΐνες του ορού** είναι κυρίως σφαιρικές πρωτεΐνες και βρίσκονται στο γάλα ως μεμονωμένα μόρια ή μικρά ολιγομερή.
- Τα **διαλυτά συστατικά** του γάλακτος όπως η λακτόζη, τα άλατα, οι βιταμίνες και άλλα μικρότερα μόρια. (Καμινारीδης και Μοάτσου, 2009)

1.2 Κολλοειδή γενικά

Υπάρχει μια ενδιάμεση κατηγορία υλικών μεταξύ των καθαρών συστατικών και των μοριακά διεσπαρμένων συστημάτων, στα οποία, αν και ένα συστατικό είναι μικροδισεπαρμένο σε ένα άλλο, ο βαθμός της διασποράς ή το μέγεθος των διεσπαρμένων σωματιδίων δεν πλησιάζει τα αντίστοιχα των μοριακών μιγμάτων. Τα συστατικά αυτά είναι γνωστά ως κολλοειδή συστήματα (τον όρο κολλοειδές τον επέλεξε ο Thomas Graham το 1861 για να περιγράψει συστήματα που παρουσίαζαν μικρούς ρυθμούς διάχυσης μέσω πορωδών μεμβρανών). Κολλοειδές χαρακτηρίζεται το ομογενές μίγμα που περιέχει μικροσκοπικά σωματίδια μιας χημικής ουσίας ομοιόμορφα διασκορπισμένα μέσα σε μια άλλη και παραμένουν μη αναμίξιμα. Για να δημιουργηθεί κολλοειδές σύστημα πρέπει η ύλη (κολλοειδών διατάσεων) να βρεθεί διασκορπισμένη στο μέσο διασποράς. Τα κολλοειδή συστήματα, λοιπόν, αποτελούνται από μια διεσπαρμένη ή ασυνεχή φάση σε μια κατάσταση λεπτού διαμερισμού, η οποία είναι κατανομημένη ομοιόμορφα σε ένα μέσο διασποράς ή συνεχή φάση. Τόσο η συνεχής φάση όσο και η ασυνεχής φάση μπορεί να είναι στερεή, υγρή, ή αέρια. Επειδή η ύλη αυτή μπορεί να βρίσκεται σε μία απ' τις τέσσερες φυσικές καταστάσεις και το μέσο διασποράς μπορεί επίσης να βρίσκεται σε μία απ' τις τέσσερες φυσικές καταστάσεις, είναι δυνατή θεωρητικά η παρασκευή εννέα ειδών κολλοειδών συστημάτων (Παπαδοπούλου και Πανακίδης, 2009).

Πίνακας 2. Τα είδη των κολλοειδών συστημάτων

Είδη κολλοειδών συστημάτων			
Διασκορπισμένη ουσία	Μέσο διασποράς	Ονομασία	Παραδείγματα
I 1. Αέριο 2. Υγρό 3. Στερεό	Αέριο » »	Αερόλυμα Αερόλυμα » ή αιώρημα » » »	Ατμόσφαιρα* Σύννεφα, ομίχλη Καπνός, σκόνη**
II 4. Αέριο 5. Υγρό 6. Στερεό	Υγρό » »	Υδρολύμα Αφρός Γαλάκτωμα Αιώρημα	Κρέμα Chantilly { λ.χ. νερό σε λάδι, χρωματισμένο γυαλί AS ₂ S ₃ σε νερό
III 7. Αέριο 8. Υγρό 9. Στερεό	Στερεό » »	Στερεόλυμα Στερεός αφρός Λύμα ή πηκτή Στερεό λύμα	H ₂ σε Pd Ζελέ, εγκλείσεις

Τα κολλοειδή είναι συστήματα διασποράς με μέγεθος σωματιδίων μεταξύ 1nm και 0.5μm. Βρίσκονται δηλαδή ανάμεσα στα ομογενή (μοριακά) διαλύματα και τα ετερογενή συστήματα διασποράς (αιωρήματα).

Εσωτερική φάση: η φάση που είναι σε διασπορά.

Εξωτερική φάση: η φάση στην οποία είναι διεσπαρμένη η εσωτερική φάση (μέσο διασποράς). (Τσιπλακίδης, 2006).

Υπάρχουν **τρεις κατηγορίες κολλοειδών**:

- α) Τα απλά κολλοειδή, στα οποία η διασπαρμένη φάση και η φάση διασποράς είναι ευδιάκριτες.
- β) Τα δικτυωτά κολλοειδή, όπου και οι δυο φάσεις είναι αλληλοδιαπερνώντας δίκτυα, τα στοιχεία των οποίων είναι κολλοειδών διαστάσεων και
- γ) Τα πολλαπλά κολλοειδή, όπου μπορούν και συνυπάρχουν τρεις φάσεις, οι δυο από τις οποίες ή και οι τρεις, είναι λεπτά καταμερισμένες.

Οι ιδιότητες κολλοειδούς χαρακτήρα εμφανίζονται, όταν οι διαστάσεις της διασπαρμένης φάσης είναι μεταξύ 1 και 1000 nm. Αυτά τα όρια δεν είναι απόλυτα, δεδομένου ότι σε ορισμένες ειδικές περιπτώσεις (π.χ. γαλακτώματα) τα διασπαρμένα σωματίδια είναι μεγαλύτερων διαστάσεων.

Επιπλέον, δεν είναι απαραίτητο και οι τρεις φάσεις να είναι κάτω του ενός μικρού, μιας και κολλοειδής διασπορά παρατηρείται και σε συστήματα που περιέχουν διασπαρμένες ίνες (δυο μόνο διαστάσεις μικρότερες του 1 μm).

Όταν οι διαστάσεις της διασπαρμένης φάσης είναι μικρότερες του 1 nm, τότε η κολλοειδής συμπεριφορά, ουσιαστικά, ταυτίζεται με εκείνη των μοριακών διαλυμάτων (Παπαδοπούλου και Πανακίδης, 2009).

Λυόφοβα: Τα κολλοειδή στα οποία δεν υπάρχει συνάφεια μεταξύ της εσωτερικής φάσης και του μέσου διασποράς και εύκολα εγκαταλείπουν την κολλοειδή κατάσταση της διασποράς. Όταν το μέσο διασποράς είναι το νερό ονομάζονται υδρόφοβα π.χ. κολλοειδής χρυσός, χλωριούχος άργυρος, θειούχο αρσενικό

Λυόφιλα: Τα κολλοειδή στα οποία η επιδιалύτωση είναι ισχυρή και εγκαταλείπουν δύσκολα την κολλοειδή κατάσταση, είναι δηλαδή θερμοδυναμικά σταθερά π.χ. πρωτεΐνες, απορρυπαντικά (Τσιπλακίδης, 2006).

Ένα από τα βασικά χαρακτηριστικά των κολλοειδών διαλυμάτων είναι το γεγονός ότι το μέγεθος των σωματιδίων που αποτελούν τη διασπαρμένη ουσία

είναι μεγαλύτερο του μεγέθους των μορίων, αλλά όχι σε σημείο που να διακρίνονται είτε με γυμνό μάτι είτε με το οπτικό μικροσκόπιο, όπως συμβαίνει στην περίπτωση των αιωρημάτων. Λαμβάνοντας υπόψη τις μικρές διαστάσεις των σωματιδίων των κολλοειδών, ο λόγος της επιφάνειας προς τον όγκο είναι μεγάλος, με αποτέλεσμα να εμφανίζονται διαφορές στις ιδιότητες των μορίων τα οποία βρίσκονται στη διαφασική επιφάνεια από τις αντίστοιχες των μορίων της κύριας φάσης του αιωρήματος. Στα κολλοειδή συστήματα, μπορούν να συμπεριληφθούν και τα διαλύματα μακρομορίων υπό την προϋπόθεση ότι, το μέγεθος ενός μακρομορίου έχει διαστάσεις μεταξύ 1nm και 1μm.

Πίνακας 3. Είδη κολλοειδών μοριών

<p>A Πολυμοριακά (Πολλά μόρια στο μυκήλιο)</p>	<p>A₁ Λυόφιλα (Υδρόφιλα) ή αντιστρεπτά</p>	<p>Μόρια του μέσου διασποράς βρίσκονται στα μυκήλια και δεν καθορίζεται από πριν το είδος του φορτίου τους. Κροκιδώνονται δύσκολα. Ξαναγυρίζουν στην πέψη, με την εξάλειψη του αίτιου, που προκάλεσε την κροκιδώσή τους. Αλλάζουν αισθητά τις φυσικές ιδιότητες του μέσου διασποράς. Το φαινόμενο Tyndall, όχι έντονο μέχρι ασήμαντο.</p>
	<p>A₂ Λυόφοβα (Υδρόφοβα) ή αναντίστρεπτα</p>	<p>Δεν βρίσκονται μόρια του μέσου διασποράς στα μυκήλια. Το φορτίο του καθορίζεται. Κροκιδώνονται εύκολα. Δεν επανέρχονται στην πέψη. Δεν αλλάζουν τις φυσικές ιδιότητες του μέσου διασποράς. Το φαινόμενο Tyndall έντονο.</p>
<p>B Μοριακά ή μονομοριακά (Ένα μόριο στο μυκήλιο)</p>	<p>B₁ Λυόφιλα (Υδρόφιλα) ή αναντίστρεπτα</p>	<p>Όπως το A₁</p>
	<p>B₂ Λυόφοβα (Υδρόφοβα) ή αναντίστρεπτα</p>	<p>Όπως το A₂</p>

1.3 Γενικές μέθοδοι παρασκευής κολλοειδών συστημάτων

Οι μέθοδοι παρασκευής κολλοειδών συστημάτων ανήκουν σε δύο κατηγορίες:

- A. Μέθοδοι διασκόρπισης
- B. Μέθοδοι συσσωμάτωσης

A. Μέθοδοι διασκόρπισης

1.3.1 Μηχανική πέψη

Το συστατικό [στερεό, άμορφο ή μεσόμορφο (πλαστικοί κρύσταλλοι)] κατανέμεται πρώτα σε κολλοειδείς διαστάσεις, και διασκορπίζεται, με την προϋπόθεση βέβαια ότι για υγρό μέσο διασποράς, η ύλη, που διασκορπίζεται, είναι αδιάλυτη σ' αυτό ή το μέσο είναι κορεσμένο σ' αυτή. Μετά τη διασπορά, πολύ σπάνια μετατρέπεται αυτόματα σε κολλοειδές σύστημα με το μέσο διασποράς.

Οι κολλοειδείς μονάδες έχουν έμμεση θερμική κίνηση, με ορισμένη συχνότητα που οδηγεί σε συγκρούσεις μεταξύ τους και με τα τοιχώματα των δοχείων, που περιέχουν το κολλοειδές σύστημα. Τη συχνότητα αυτή ακριβώς πρέπει να δώσουμε με μηχανικά μέσα, για να γίνει η πέψη και να δημιουργηθεί κολλοειδές σύστημα. Αυτό επιτυγχάνεται μερικές φορές με απλή ανάδευση ή κατά τη λειοτρίβη της ουσίας, σε μύλο, αν θέλουμε ο υγρός φορέας, που χρησιμοποιούμε, να είναι και το μέσο διασποράς. Χρησιμοποιούνται ακόμη υπέρηχοι ή ρεύματα. Ο χρόνος εφαρμογής του παλμού πρέπει να είναι μικρός, γιατί ο μεγαλύτερος χρόνος αποτελεί και αίτιο καταστροφής των κολλοειδών συστημάτων.

1.3.2 Πέψη με ιόντα

Επειδή οι κολλοειδείς μονάδες πρέπει σύγχρονα να φορτιστούν, η πέψη βοηθιέται και με προσθήκη μικρών ποσοτήτων ηλεκτρολυτών, που ιόντα τους ορισμένου είδους φορτίου συγκρατούνται από τις κολλοειδείς μονάδες. Τα μικρά αυτά ποσά ηλεκτρολυτών λέγονται: «μέσα πέψης» ή «αιωρηματικές ουσίες».

Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται για την παρασκευή κολλοειδών συστημάτων στερεών, άμορφων ή υγρών σε ρευστά μέσα διασποράς. Τα ποσά ηλεκτρολύτη, που προσθέτονται πρέπει να είναι μικρά, γιατί μεγαλύτερα ποσά αποτελούν παράγοντα καταστροφής των κολλοειδών συστημάτων.

1.3.3 Πέψη με πλύση

Για τον παραπάνω λόγο, αν απομακρυνθεί η περίσσεια των ιόντων από ίζημα, που χρειάστηκαν για την παρασκευή του, και το κολλοειδές ανήκει στην κατηγορία των αντιστρεπτών, το ίζημα παθαίνει πέψη. Απομάκρυνση της περισσειας των ιόντων γίνεται με πλύση ή με διαπίδυση και ηλεκτροδιαπίδυση.

B. Μέθοδοι συσσωμάτωσης

1.3.4 Διπλή αντικατάσταση

Πρόκειται για αντίδραση διπλής αντικατάστασης, που οδηγεί σε ίζημα κολλοειδών διαστάσεων, αν τηρηθούν ορισμένες αρχικές συνθήκες. Τα αρχικά διαλύματα, που αντιδρούν, πρέπει να είναι πολύ αραιά ή πολύ πυκνά. Με τη μέθοδο αυτή παρασκευάζονται κολλοειδή συστήματα σχεδόν όλων των ιζημάτων, που μπορούν να δημιουργηθούν με διπλή αντικατάσταση.

1.3.5 Αναγωγή

Αν σε διάλυμα μεταλλικού άλατος επιδράσει αναγωγικό μέσο, το μέταλλο, που αποβάλλεται, είναι συνήθως κολλοειδών διαστάσεων, αν η αντίδραση είναι αρκετά γρήγορη, δηλ. το αναγωγικό μέσο αρκετά έντονο. Ως αναγωγικά μέσα χρησιμοποιούνται συνήθως υδρογόνο, μονοξειδίο του άνθρακα, υδραζίνη, διχλωριούχος κασσίτερος κ.α.

1.3.6 Οξειδωση

Γρήγορες οξειδώσεις διαλυμάτων διαφόρων ουσιών οδηγούν κι' αυτές σε κολλοειδή συστήματα. Έτσι, διαλύματα με έντονη οξειδωση με οξυγόνο, κ.τ.λ., σχηματίζουν κολλοειδή συστήματα θείου, σεληνίου και τελλούριου αντίστοιχα.
 2HS , 2HSe , 2HTe 3π.HNO_3

1.3.7 Υδρόλυση

Η υδρόλυση των ιόντων διαφόρων αλάτων, που προήλθαν από αλληλεπιδράσεις ισχυρού ή ασθενούς οξέος με ασθενή βάση ή ισχυρής βάσης με ασθενές οξύ οδηγεί σε κολλοειδές σύστημα. Η υδρόλυση ευνοείται με αραιώση και θέρμανση, γι' αυτό γίνεται βρασμός αραιού διαλύματος της ουσίας.

1.3.8 Αλλαγή διαλυτικού

Αν σε διάλυμα μιας ουσίας προστεθεί υγρό μέσο, στο οποίο είναι αδιάλυτη, δημιουργείται κολλοειδές σύστημα στο νέο μέσο διασποράς (Βαγενά, 2011).

1.4 Σταθερότητα κολλοειδών συστημάτων διασποράς

Τα κολλοειδή συστήματα είναι γενικώς θερμοδυναμικά ασταθή καθώς τα κολλοειδή σωματίδια έχουν μεγάλη επιφάνεια και η θερμοδυναμική ισορροπία επιτάσσει μείωση της ελεύθερης επιφανειακής ενέργειας. Παρόλα αυτά είναι κινητικά σταθερά. Τα κολλοειδή σωματίδια έχουν χαρακτηριστικό επιφανειακό φορτίο το οποίο συνεισφέρει στην σταθερότητα των κολλοειδών συστημάτων διασποράς.

Το φορτίο αυτό μπορεί να προέλθει από α) ιονισμό, β) προσρόφηση ιόντων, γ) διάλυση ιόντων και δ) μια μη στοιχειομετρική κατανομή ατόμων στο κρυσταλλικό πλέγμα. Τα ιόντα που έχουν αντίθετο φορτίο από την επιφάνεια του κολλοειδούς σωματιδίου έλκονται από αυτήν, ενώ αντίθετα τα ιόντα με ίδιο φορτίο απομακρύνονται από αυτήν. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό μιας ηλεκτρικής διπλοστοιβάδας από τη φορτισμένη επιφάνεια και τα ιόντα που κατανέμονται κοντά σε αυτήν (Τσιπλακίδης, 2006).

1.4.1 Λυόφοβα κολλοειδή

Τα λυόφοβα κολλοειδή αποκτούν κυρίως το φορτίο τους από προσρόφηση ιόντων και καταβυθίζονται (κροκιδώνονται) με την προσθήκη μικρών ποσοτήτων ηλεκτρολυτών. Κατά την προσθήκη εξουδετερώνεται ή ελαττώνεται το φορτίο ώστε το συνολικό φορτίο του κινούμενου σωματιδίου να είναι κοντά στο μηδέν, οπότε υπερικχύουν οι ελκτικές δυνάμεις Van der Waals απέναντι στις ηλεκτρικές απωστικές δυνάμεις.

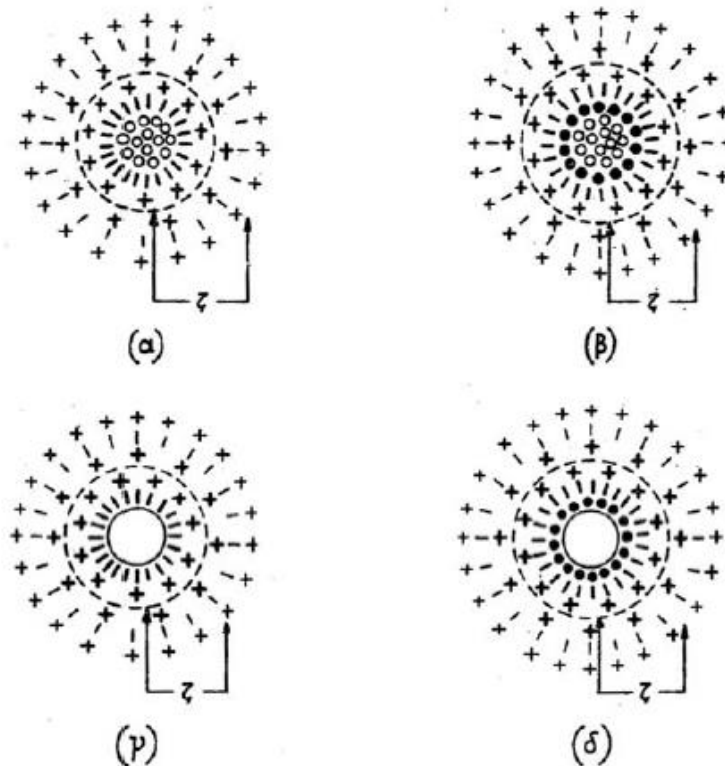
Κανόνας Schulze-Hardy: Η ικανότητα κροκίδωσης ενός ηλεκτρολύτη εξαρτάται από το σθένος του ιόντος που προκαλεί την κροκίδωση και η ικανότητα αυτή μεγαλώνει με την αύξηση του σθένους του ιόντος. Η κροκίδωση στα λυόφοβα κολλοειδή πραγματοποιείται με προσθήκη μικρών ποσοτήτων ηλεκτρολυτικών ουσιών και η μετάβαση από τη σταθερή κατάσταση στην κροκίδωση παρατηρείται σε μια σχετικά μικρή περιοχή συγκεντρώσεων του ηλεκτρολύτη.

Τα λυόφοβα κολλοειδή μπορούν να προστατευθούν από την καταβύθιση με προσθήκη λυόφιλων κολλοειδών, π.χ. ζελατίνης ή αμύλου. Τα λυόφιλα κολλοειδή προσροφώνται εύκολα στα αντίθετα φορτισμένα σωματίδια του λυόφοβου κολλοειδούς και έτσι τα τελευταία διατηρούν το φορτίο τους παρεμποδίζοντας την συσσωμάτωσή τους. Τέτοιο παράδειγμα είναι η προσθήκη καζεΐνης στο γάλα για τη σταθεροποίηση του φωσφορικού ασβεστίου.

1.4.2 Λυόφιλα κολλοειδή

Τα λυόφιλα κολλοειδή αποκτούν κυρίως το φορτίο τους από διάσπαση ομάδων που μπορούν να δώσουν ιόντα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι οι πρωτεΐνες που αποκτούν το φορτίο τους από τον ιονισμό των καρβοξυλομάδων και αμινομάδων για να δώσουν COO^- και NH_4^+ , αντίστοιχα.

Ο ιονισμός των ομάδων αυτών, και επομένως το καθαρό φορτίο, εξαρτάται από το pH του διαλύματος. Σε χαμηλό pH τα μόρια της πρωτεΐνης είναι φορτισμένα θετικά ενώ σε υψηλά pH είναι φορτισμένα αρνητικά. Σε μια κρίσιμη τιμή pH παρατηρείται ηλεκτρική ουδετερότητα, η ηλεκτροφορητική ευκινησία της πρωτεΐνης είναι μικρή, και το σημείο αυτό λέγεται **ισοηλεκτρικό σημείο** (Ι.Σ.). Στο Ι.Σ. λόγω της ηλεκτρικής ουδετερότητας ευνοείται η σύγκρουση των κολλοειδών σωματιδίων και συνεπώς η συσσωμάτωσή τους προς μεγαλύτερα σωματίδια και η κατακρήμνισή τους με την μορφή ιζήματος. Το ισοηλεκτρικό σημείο εξαρτάται από τη φύση της πρωτεΐνης και επιτρέπει την ταυτοποίηση και το διαχωρισμό τους μέσα από ένα μίγμα πρωτεϊνών.



Εικόνα 1 .Σχηματική παράσταση πολυμοριακού λυόφοβου μικκυλίου (α) και λυόφιλου μικκυλίου (β), μονομοριακού λυόφοβου (γ) και μονομοριακού λυόφιλου μικκυλίου (δ).

1.5 Καταστροφή των κολλοειδών συστημάτων. Κροκίδωση

Όπως αναφέρθηκε, η κατανομή της ύλης σε κολλοειδείς διαστάσεις έχει ως συνέπεια την εξαιρετικά μεγάλη αύξηση της ελεύθερης επιφανειακής ενέργειάς της και σύμφωνα με το δεύτερο θερμοδυναμικό νόμο, η ύλη αυτή τείνει αυθόρμητα να υποβαθμιστεί ενεργειακά. Αυτό συμβαίνει σε στερεά πολύ αργά με τη στερεή γήρανση και πολύ γρήγορα με συγκράτηση απ' αυτά ουσιών (ρόφηση). Έτσι, στερεή ύλη σε κολλοειδείς διαστάσεις σταθεροποιείται μερικά, χωρίς ρόφηση να σταματάει τη γήρανση.

Αν ύλη διασπαρθεί με κολλοειδείς διαστάσεις σε ρευστό μέσο διασποράς και αποτελέσει κολλοειδές σύστημα, το κολλοειδές αυτό σύστημα είναι ενεργειακά αναβαθμισμένο ως προς το άθροισμα της ενέργειας του μέσου διασποράς και της ενέργειας της καταμερισμένης ύλης απ' όπου προήλθε. Αυτό συμβαίνει, γιατί η ενέργεια που είχε το μέσο διασποράς αναβαθμίστηκε, εξαιτίας της φόρτισής του και η ύλη των κολλοειδών διαστάσεων, αναβαθμίστηκε εξαιτίας και της φόρτισής της και της κίνησης Brown, που απέκτησε απορροφώντας κινητική ενέργεια απ' το μέσο διασποράς (ψύχεται), που στη συνέχεια την αποκτά ξανά απ' το περιβάλλον, έτσι ώστε να διατηρήσει τη θερμοκρασία του. Αυτά συμβαίνουν στα λυόφοβα κολλοειδή.

Στα λυόφιλα κολλοειδή η ψύξη, η θέρμανση ή η θερμοκή αδιαφορία του μέσου διασποράς εξαρτάται απ' το ποσό της ενέργειας, που χρειάζεται για την κίνηση Brown, και το ποσό, που παράγεται κατά την προσκόλληση μορίων του μέσου διασποράς στα μικκύλια.

Αν το τελευταίο αυτό ποσό είναι μικρότερο από το πρώτο, το μέσο διασποράς ψύχεται (πάντως λιγότερο απ' ότι κατά τη δημιουργία λυόφοβου κολλοειδούς). Αν είναι ίσο με το πρώτο, δεν παρατηρείται μεταβολή θερμοκρασίας και, τελικά η θερμοκρασία του γίνεται ίση με του περιβάλλοντος. Απ' τα παραπάνω φαίνεται ότι γενικά τα κολλοειδή συστήματα είναι ενεργειακά αναβαθμισμένα, ως προς το άθροισμα της ενέργειας των ουσιών, απ' όπου

προήλθαν χωριστά και θα καταστρεφόταν γρήγορα (διαχωρισμός μέσου διασποράς και ύλης σε διασπορά), αν δεν αυτοαμυνόταν.

Η αυτοάμυνα των λυόφοβων κολλοειδών οφείλεται στην ομώνυμη φόρτιση των μικκυλίων τους και την κινητικότητα τους. Η πρώτη έχει ως συνέπεια την άπωση των μικκυλίων μεταξύ τους και η δεύτερη δεν επιτρέπει την άσκηση των δυνάμεων συνοχής της ύλης για μακρύ χρονικό διάστημα, που θα οδηγούσε σε γρήγορη συσσωμάτωση και καταστροφή του συστήματος.

Η αυτοάμυνα των λυόφιλων κολλοειδών είναι μεγαλύτερη, γιατί οφείλεται και στην προσκόλληση στα μικκύλια μορίων του μέσου διασποράς, πράγμα που κατά τις συγκρούσεις των μικκυλίων μεγαλώνει την απόσταση των κέντρων, όπου εφαρμόζονται οι δυνάμεις συνοχής της ύλης, και ελαττώνει τις δυνάμεις Van der Waals, κύρια για μέσο διασποράς, που έχει μεγάλη διηλεκτρική σταθερή.

Κροκίδωση. Κολλοειδές πήγμα

Παρά την αυτοάμυνα των κολλοειδών συστημάτων, ο δεύτερος θερμοδυναμικός νόμος είναι αμείλικτος και παρουσιάζεται αυθόρμητη καταστροφή των κολλοειδών συστημάτων, ιδιαίτερα των λυόφοβων. Η καταστροφή αυτή δυνατό να προκύψει και με εξωτερική – σκόπιμη ή όχι επιθυμητή – επέμβαση.

Η διαδοχή των αυθόρμητων ή εκβιασμένων μερικών δράσεων – που είναι η αποφόρτιση των μικκυλίων, η απομάκρυνση των προσκολλημένων μορίων του μέσου διασποράς (για λυόφιλα κολλοειδή), η συσσωμάτωση των μικκυλίων (για λυόφοβα κολλοειδή) και η κατακάθιση τους στον πυθμένα του δοχείου, που περιέχει το σύστημα ή η συγκέντρωσή τους στην επιφάνεια του μέσου διασποράς (για μικκύλια ειδικού βάρους μικρότερου από το μέσο διασποράς) – που οδηγούν στο διαχωρισμό της ύλης σε διασπορά απ' το μέσο διασποράς, λέγεται «κροκίδωση» (ή «θρόμβωση»). Η στερεή ή άμορφη ύλη, που διαχωρίζεται μ' αυτό τον τρόπο, λέγεται «κολλοειδές πήγμα».

1.6 Ιδιότητες κολλοειδών σωματιδίων

Οι ιδιότητες των κολλοειδών μελετήθηκαν για πρώτη φορά το 1861 από τον Άγγλο επιστήμονα Γκράχαμ σε διαλύματα ζωικής κόλλας, από όπου και πήραν την ονομασία τους. Οι περισσότερες ουσίες μπορούν να σχηματίσουν κολλοειδή διαλύματα, καθώς οι ιδιότητές τους δε σχετίζονται τόσο με τη φύση του διαλύτη ή των διαλυμένων ουσιών, αλλά με το μέγεθος των σωματιδίων της διαλυμένης ουσίας. Οι ιδιότητες των κολλοειδών είναι οι ακόλουθες:

Τα κολλοειδή εμφανίζουν το φαινόμενο Tyndall, δηλαδή προκαλούν περίθλαση του φωτός μετατρέπόμενα σε δευτερογενείς πηγές φωτός. Για το λόγο αυτόν τα κολλοειδή διαλύματα είναι θολά και τα σωματίδιά τους διακρίνονται με τη μορφή φωτεινών κύκλων στο υπερμικροσκόπιο. Τα κολλοειδή εμφανίζουν επίσης το φαινόμενο του πολυχρωισμού, δίνοντας την εντύπωση ότι είναι πολύχρωμα όταν μια λευκή δέσμη φωτός πέσει παράλληλα στο διάλυμα, ενώ κανονικά είναι άχρωμα. Το φαινόμενο οφείλεται στο σκεδασμό του φωτός λόγω της περίθλασής του στα σωματίδια.

Τα κολλοειδή εμφανίζουν μεγάλη προσροφητική ικανότητα, μπορούν εύκολα δηλαδή να συγκρατούν στην επιφάνειά τους μόρια και άτομα άλλων ουσιών. Η προσροφητική τους ικανότητα είναι αυξημένη, καθώς οι διαστάσεις τους είναι αρκετά μικρές και η επιφάνειά τους μεγαλύτερη. Τα κολλοειδή έχουν επίσης μεγάλο ιξώδες, μικρή δηλαδή ρευστότητα, όπως επίσης μικρή ταχύτητα διάχυσης και διαπίδυσης. Με τον όρο διάχυση εννοούμε την κατανομή τους σε όλη τη μάζα ενός υγρού ή αερίου, η οποία γίνεται δυσκολότερα από τα άλλα μόρια λόγω διαφοράς στο μέγεθός τους. Με τον όρο διαπίδυση εννοούμε τη διόδό τους από πορώδη διαφράγματα. Χαρακτηριστική είναι επίσης η κίνηση Brown των κολλοειδών σωματιδίων. Πρόκειται για μια συνεχή και άτακτη κίνηση, η οποία οφείλεται στις προσκρούσεις των σωματιδίων στα μόρια του διαλύτη (Βαγενά, 2011).

Άλλες βασικές ιδιότητες των μακρομορίων είναι η καθίζηση που υφίστανται με υπερφυγοκέντρωση. Τα κολλοειδή συστήματα διασποράς, στα οποία όλα τα σωματίδια έχουν παρεμφερείς διαστάσεις, καλούνται μονοδιασπαρμένα ή ομογενή συστήματα. Στην αντίθετη περίπτωση, όπου τα σωματίδια έχουν διαφορετικά μεγέθη, έχουμε τα πολυδιασπαρμένα ή ετερογενή συστήματα. Συχνά, παρατηρούνται και καταστάσεις κατά τις οποίες, σε ένα αιώρημα, τα σωματίδια ενώνονται το ένα με το άλλο, δημιουργώντας συσσωματώματα. Η φύση των συσσωματωμάτων συνδέεται άμεσα με τον τρόπο και τις συνθήκες κάτω από τις οποίες σχηματίζονται και είναι δυνατό να μεταβληθεί με την πάροδο του χρόνου. Τα συσσωματώματα αυτά καθιζάνουν υπό την επίδραση της βαρύτητας. Για την ακρίβεια, αν το σχηματιζόμενο συσσωμάτωμα είναι μεγαλύτερης πυκνότητας από το μέσο διασποράς, καθιζάνει, ενώ εάν είναι λιγότερο πυκνό, επιπλέει.

Επιπρόσθετα, έχει παρατηρηθεί, ότι τα κολλοειδή συστήματα εμφανίζουν μεγάλη επιφάνεια στο όριο της διαχωριστικής επιφάνειας μεταξύ της συνεχούς και ασυνεχούς φάσεως. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, τόσο οι θερμοδυναμικές ιδιότητες, όσο και η ελεύθερη επιφάνειά τους, να καθορίζονται σε μεγάλο βαθμό από τα μόρια που βρίσκονται στην επιφάνεια των σωματιδίων των κολλοειδών. Συνεπώς, η χημεία των κολλοειδών συνδέεται με τη χημεία των επιφανειών (Πετεκίδης, 2005), (Κέντα, 2011).

Ηλεκτρικές ιδιότητες των κολλοειδών σωματιδίων

Επειδή τα κολλοειδή σωματίδια είναι φορτισμένα και το όλο σύστημα είναι ηλεκτρικά ουδέτερο, το μέσο διασποράς θα πρέπει να φέρει φορτίο αντίθετο από εκείνο των σωματιδίων. Έτσι με την εφαρμογή ενός ηλεκτρικού πεδίου στο σύστημα, τα κολλοειδή σωματίδια μετακινούνται προς την άνοδο ή την κάθοδο, ανάλογα με το φορτίο που φέρουν. Η μετακίνηση αυτή των κολλοειδών σωματιδίων, με την επίδραση ενός ηλεκτρικού πεδίου, είναι το γνωστό φαινόμενο της ηλεκτροφόρησης. Με τη βοήθεια κατάλληλων συσκευών που επιτρέπουν την εφαρμογή εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου σε κολλοειδή

συστήματα και την παρακολούθηση της κίνησης των σωματιδίων, είναι δυνατός ο πειραματικός προσδιορισμός της ηλεκτροφορητικής ευκινησία τους. Η ηλεκτροφορητική ευκινησία δίνεται από τη σχέση:

$$u = \frac{v}{E}$$

όπου v = η ταχύτητα με την οποία κινούνται τα σωματίδια και E = η ένταση του εφαρμοζόμενου εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου.

Το φορτίο των κολλοειδών σωματιδίων (θετικό ή αρνητικό) προσδιορίζεται από τη διεύθυνση προς την οποία αυτά τα σωματίδια μετακινούνται.

1.7 Ο ρόλος των κολλοειδών στη βιομηχανία

Τα κολλοειδή συστήματα ή τα πήγματα από αυτά έχουν εξαιρετικά μεγάλη σημασία για τη ζωή των ανθρώπων, των ζώων και των φυτών, τόσο γιατί αποτελούν τα κύρια συστατικά τους, όσο και γιατί συναντώνται σε μεγάλο αριθμό βιομηχανιών. Το γυαλί είναι κολλοειδές πήγμα, που προήλθε από αντιστρεπτή πηκτή. Οι άργιλοι, που χρησιμοποιούνται στην κεραμική, περιέχουν κολλοειδείς οργανομεταλλικές ενώσεις, που δίνουν σ' αυτές τις ιδιότητές τους, κύρια της πλαστικότητάς τους. Μετά τη θέρμανσή τους μετατρέπονται σε πήγμα, που δεν γυρίζει στην αρχική κατάσταση της πηκτής. Ο καολίνης, πρώτη ύλη παρασκευής πορσελάνης, που χρησιμοποιείται και στην καλλιτεχνική κεραμευτική και στη χαρτοποιία, είναι κολλοειδής. Ο μπετονίτης διογκώνεται έντονα με νερό και σχηματίζει πηκτή. Χρησιμοποιείται γι' αυτό στις κονίες γρήγορης πήξης και για την αντικατάσταση λιπαρών σωμάτων σε ειδικές χρήσεις, όπως για την παρασκευή καλλυντικών, κρεμών και αλοιφών, ως μέσο αποσκλήρυνσης του νερού, γιατί έχει ιονοανταλλακτικές ιδιότητες, για αδιάβροχα κονιάματα, στην εξόρυξη και βιομηχανία πετρελαίου. Η άσφαλτος και η πίσσα αποτελούν κολλοειδή συστήματα σε νερό. Τα πετρέλαια είναι

κολλοειδή συστήματα ασφάλτου και πίσσας σε ελαφρότερους υδρογονάνθρακες. Οι φυσικές και τεχνητές ρητίνες είναι πήγματα κολλοειδή από πηκτές. Ο ελατερίτης, ορυκτό λάστιχο, το φυσικό λάστιχο, το τεχνητό λάστιχο, η κυτταρίνη, η νιτροκυτταρίνη είναι κολλοειδή πήγματα, που διογκώνονται σε υγρά μέσα και σχηματίζουν πηκτές. Η οξική κυτταρίνη (Celluloid) χρησιμεύει για την κατασκευή άκαυστων φωτογραφικών φιλμ. Το μετάξι και οι αζωτούχες ίνες, όπως το Νυλον, είναι κολλοειδή πήγματα. Οι περισσότερες απ' τις οργανικές χρωστικές, αν διαλυθούν σε νερό, αποτελούν κολλοειδή συστήματα, οι αμυλώδεις ουσίες σχηματίζουν με νερό κολλοειδή συστήματα. Το άμυλο σχηματίζει με νερό και θέρμανση πηκτή, που χρησιμοποιείται για την επεξεργασία των υφασμάτων πριν τη βαφή. Με την παρουσία οξέος και με θέρμανση υδρολύεται διαδοχικά σε διαλυτό άμυλο, δεξτρίνη, μαλτόζη και γλυκόζη. Το άγαρ αποτελεί επεξεργασμένη μορφή αμύλου, που προέρχεται από ορισμένο είδος φυκιών της Κίνας και της Ιαπωνίας.

Η αλβουμίνη και η ζελατίνη σχηματίζουν με νερό πηκτές, που χρησιμοποιούνται ως συγκολλητικές ουσίες, για το «κολλάρισμα» των υφάνσιμων ινών και τη διαύγαση των κρασιών. Το φωτογραφικό φιλμ είναι κολλοειδές αιώρημα φωτοπαθών ουσιών σε διάφορες ουσίες. Ακόμη σε πλήθος βιομηχανιών η κυριότερη πράξη έχει σχέση με κολλοειδείς μετασχηματισμούς. Έτσι, κατά την παρασκευή τεχνητού μεταξιού η κύρια πράξη είναι η κροκίδωση της βισκόζης. Η βαφή των υφασμάτων, χωρίς πρόστυμμα αποτελεί κροκίδωση των μικκυλίων των χρωστικών. Στη βυρσοδεψία γίνονται κολλοειδείς μετασχηματισμοί. Τα δέρματα αποτελούνται κύρια από πρωτεϊνικές ουσίες, που, μετά την κατεργασία με βασικές ουσίες, μετατρέπονται σε πηκτές θετικού φορτίου μικκυλίων.

1.8 Γαλακτώματα

1.8.1 Γενικά

Γαλάκτωμα είναι η κολλοειδής διασπορά ενός υγρού σε ένα άλλο υγρό, μη αναμίξιμο με το πρώτο. Στα γαλακτώματα τροφίμων οι δυο μη αναμιξιμες φάσεις είναι συνήθως το έλαιο και το νερό. Ο τύπος του γαλακτώματος εξαρτάται από τη σχετική αναλογία των δύο υγρών του μίγματος. Τα γαλακτώματα διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: στα γαλακτώματα ελαίου σε νερό (o/w) και στα γαλακτώματα νερού σε έλαιο (w/o), όπου η συνεχής φάση είναι το νερό ή το έλαιο, αντίστοιχα. Το γάλα και η μαγιονέζα αποτελούν παραδείγματα τροφίμων που ανήκουν στην πρώτη κατηγορία (o/w), ενώ οι μαργαρίνες και το βούτυρο είναι τρόφιμα που ανήκουν στη δεύτερη κατηγορία (w/o) (Κέντα, 2011).

Η ιδιοτυπία τέτοιων συστημάτων είναι και σταγόνες υγρού, μεγαλύτερες των κολλοειδών διαστάσεων, διασκορπισμένες σε υγρό μέσο διασποράς και αιωρούμενες είτε μη μηχανική ανακίνηση του συστήματος, είτε εξαιτίας της μικρής διαφοράς ειδικού βάρους μεταξύ σταγόνων και υγρού μέσου διασποράς, έχουν σχεδόν όλες τις ιδιότητες των κολλοειδών συστημάτων, δηλ. οι διασκορπισμένες σταγόνες είναι φορτισμένες και πραγματοποιούν κίνηση Brown (Φιωτάκης, 2014)

Οι μέθοδοι παρασκευής τους είναι η μηχανική πέψη με μέσο πέψης, όπως οι αλκαλικοί σάπωνες, η λανολίνη, σουλφονικά οξέα, λυόφιλα κολλοειδή, λεπτές σκόνες άνθρακα, μετάλλων ή αλάτων, που στην προκειμένη περίπτωση λέγονται «γαλακτωματοποιητικά μέσα». Η μηχανική πέψη γίνεται με ανάμιξη σε γουδί, με κολλοειδόμυλο ή με χρησιμοποίηση εκνεφωτή. Μπορεί ακόμη να χρησιμοποιηθεί μέθοδος παρασκευής με αλλαγή του διαλυτικού μέσου.

Στα γαλακτώματα δεν μπορούμε να προβλέψουμε κατά την παρασκευή τους ποιο απ' τα υγρά θα είναι η ουσία σε διασπορά και ποιο το μέσο διασποράς. Αυτό εξαρτάται από το γαλακτωματοποιητικό μέσο. Είναι δυνατό μετά την

παρασκευή του γαλακτώματος η ουσία σε διασπορά να μετατραπεί σε μέσο διασποράς, με αλλαγή του γαλακτωματοποιητικού μέσου.

Ο έλεγχος ποιο απ' τα δύο υγρά είναι το μέσο διασποράς, γίνεται με τον ακόλουθο τρόπο:

α) Βάζουμε στην επιφάνεια του γαλακτώματος σταγόνα ενός απ' τα δύο υγρά. Αν αυτή αφομοιωθεί γρήγορα, τότε το υγρό αυτό αποτελεί το μέσο διασποράς, αλλιώς είναι η ουσία σε διασπορά.

β) Στην επιφάνεια του γαλακτώματος βάζουμε κόκκους χρωστικής, που διαλύεται στο ένα μόνο υγρό. Αν αυτοί διαλυθούν, το μέσο διασποράς είναι εκείνο που είναι διαλυτή η χρωστική.

γ) Αν ένα απ' τα δύο υγρά αποτελεί διαλυτικό μέσο αλάτων και προσθέτοντας άλας πιστοποιούμε αύξηση της αγωγιμότητας του γαλακτώματος, τότε μέσο διασποράς είναι το υγρό, που αποτελεί διαλυτικό μέσο αλάτων.

Το γνωστότερο φυσικό γαλάκτωμα είναι το γάλα, σύστημα λίπους σε υδατικό διάλυμα καζεϊνικού ασβεστίου, λακτόζης, λευκωμάτων, μεταλλικών αλάτων, βιταμινών κ.τ.λ. Αν το αφήσουμε σε ηρεμία, το γάλα διαχωρίζεται σε δύο στοιβάδες, που η πάνω αποτελείται από τα σφαιρίδια λίπους και η άλλη απ' το μέσο διασποράς. Αυτός ο αυθόρμητος διαχωρισμός σε δύο στοιβάδες είναι βραδύτερος, αν το γάλα με τη μηχανική επεξεργασία, που λέγεται «ομοιογενοποίηση», αποτελέσει κολλοειδές γαλάκτωμα, εξαιτίας της κατάτμησης λιποσφαιριδίων σε κολλοειδείς διαστάσεις. Για το λόγο αυτό και γιατί τα μικρού μεγέθους λιποσφαιρίδια είναι πιο εύπεπτα, εφαρμόζεται σήμερα γενικά στο γάλα η ομοιογενοποίηση. Για την εξουδετέρωση της δυσάρεστης μυρωδιάς και γεύσης ορισμένων ουσιών, που χρησιμοποιούνται στην ιατρική (λ.χ. μουρουνέλαιο), δίνουν σ' αυτές μορφή γαλακτώματος. Γαλακτώματα ασφάλτου ή πίσσας σε νερό χρησιμοποιούνται για την ψυχρή επίστρωση των δρόμων. Γαλάκτωμα ορυκτέλαιου σε νερό χρησιμεύει για την ψύξη και λίπανση των οργάνων, που ανοίγουν τρύπες ή κόβουν τα μέταλλα. Στην γεωργία χρησιμοποιούνται γαλακτώματα πετρελαίου σε νερό ως παρασιτοκτόνα. Στη βυρσοδεψία χρησιμοποιείται γαλάκτωμα ελαιόλαδου σε νερό.

Για το σχηματισμό ενός γαλακτώματος σημαντική επίδραση έχει η διεπιφάνεια, δηλαδή η επιφάνεια (A) που διαχωρίζει την υδατική φάση από τη φάση του ελαίου. Στα συστήματα ελαίου σε νερό, τα μη-πολικά μόρια του ελαίου δεν μπορούν να σχηματίσουν δεσμούς υδρογόνου με τα μόρια του νερού, λόγω του υψηλού υδρόφοβου χαρακτήρα τους, με αποτέλεσμα τα δυο υγρά να μην μπορούν να αναμιχθούν. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μειώνεται το μέγεθος των σωματιδίων του ελαίου, που είναι διασκορπισμένα στο νερό, με σκοπό να ελαττωθεί η επιφάνεια επαφής τους με το νερό, δηλαδή η διεπιφάνεια, και επομένως ο αριθμός των ανεπιθύμητων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων των δύο φάσεων. Αυτή η τάση μείωσης του μεγέθους των λιποσωματιδίων είναι το αποτέλεσμα της διεπιφανειακής τάσης, η τιμή της οποίας καθορίζεται από την έλλειψη ισορροπίας μεταξύ των μοριακών δυνάμεων.

Εκφράζει το απαραίτητο ποσό ενέργειας (ΔG) που πρέπει να προσφερθεί στο σύστημα του γαλακτώματος, ώστε να αυξηθεί το εμβαδό της διεπιφάνειας μεταξύ των δυο μη αναμίξιμων υγρών και το σύστημα να επανέλθει στην κατάσταση ισορροπίας. Η σχέση ανάμεσα στην απαιτούμενη ενέργεια ΔG και τη διεπιφανειακή τάση (γ), υπολογίζεται από τη σχέση:

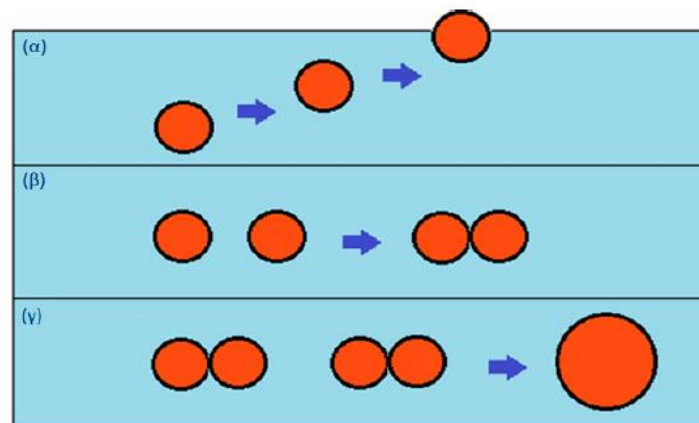
$$\Delta G = \gamma \Delta A$$

Από τη σχέση αυτή προκύπτει ότι όσο λιγότερο αναμίξιμα είναι τα δυο υγρά τόσο πιο μεγάλη είναι η διεπιφανειακή τάση και άρα τόσο πιο μεγάλη είναι η απαιτούμενη ποσότητα ενέργειας για την επίτευξη της κατάστασης ισορροπίας. Η ενέργεια που απαιτείται ώστε τα σωματίδια της ασυνεχούς φάσης να διατμηθούν σε μικρότερα σωματίδια, προκαλώντας έτσι αύξηση του εμβαδού της διεπιφάνειας ανάμεσα στα δυο μη αναμίξιμα υγρά, παρέχεται κατά την έντονη ανάδευση του συστήματος με τη χρησιμοποίηση κατάλληλων συσκευών, όπως είναι οι ομογενοποιητές με πίεση ή υπερήχους κ.α. Η μείωση της απαιτούμενης ποσότητας ενέργειας επιτυγχάνεται με την προσθήκη στο

σύστημα κατάλληλων ουσιών, των γαλακτωματοποιητών, οι οποίοι προκαλούν μείωση της διεπιφανειακής τάσης.

1.8.2 Αποσταθεροποίηση των γαλακτωμάτων

Τα γαλακτώματα είναι θερμοδυναμικά ασταθή συστήματα γιατί η ανάμιξη ελαίου με νερό δεν ευνοείται ενεργειακά. Η αστάθειά τους οφείλεται σε μια σειρά από φυσικούς μηχανισμούς, όπως είναι η κρεμοποίηση, η συσσωμάτωση και η συγχώνευση.



Εικόνα 2. Φυσικοί μηχανισμοί αποσταθεροποίησης γαλακτωμάτων: (α) κρεμοποίηση, (β) συσσωμάτωση και (γ) συγχώνευση.

1.8.1.2 Κρεμοποίηση

Τα λιποσφαιρίδια του γαλακτώματος έχουν μικρότερη πυκνότητα από αυτή της υδατικής φάσης και έτσι έχουν την τάση να κινούνται ανοδικά χωρίς να παρατηρείται κάποια μεταβολή στο μέγεθός τους. Στα γαλακτώματα ελαίου σε νερό παρατηρείται αρχικά μια μεταβολή της συγκέντρωσης του ελαίου με την απόσταση από τον πυθμένα του δοχείου, χωρίς να γίνεται αντιληπτό οπτικά. Με την πάροδο του χρόνου διακρίνονται δύο ξεχωριστές στοιβάδες, μια υδατική και μια εμπλουτισμένη με σταγονίδια ελαίου. Το φαινόμενο αυτό είναι αντιστρεπτό γιατί με απλή ανάδευση επιτυγχάνεται ομοιόμορφη ανακατανομή των λιποσφαιριδίων σε όλο τον όγκο του γαλακτώματος.

Ο βαθμός συσσωμάτωσης και η πολυδιασπορά του μεγέθους των λιποσφαιριδίων επιδρούν σημαντικά στην ταχύτητα της κρεμοποίησης του γαλακτώματος. Τα συσσωματώματα είναι μη ομοιογενή σφαιρίδια που συμπεριφέρονται ως σωματίδια μεγάλης διαμέτρου και κινούνται ταχύτερα από τα μεμονωμένα λιποσφαιρίδια μικρότερου μεγέθους συμπαρασύροντάς τα προς τα πάνω. Έτσι επιταχύνεται το φαινόμενο της κρεμοποίησης.

1.8.2.2 Συσσωμάτωση

Η συσσωμάτωση είναι επίσης μια αντιστρεπτή διαδικασία κατά την οποία τα λιποσφαιρίδια πλησιάζουν και δημιουργούν ένα τρισδιάστατο πλέγμα. Μέσα στα πλέγματα αυτά τα λιποσφαιρίδια συνδέονται χαλαρά με ελκτικές δυνάμεις, ακολουθώντας την κίνηση Brown, με αποτέλεσμα να συγκρούονται συχνά, κάτι που οδηγεί τελικά στην συσσωμάτωσή τους. Σε αυτή την αλληλεπίδραση των λιποσφαιριδίων, κυριότερο ρόλο παίζουν οι ηλεκτροστατικές δυνάμεις, οι δυνάμεις Van der Waals και οι πολυμερικές δυνάμεις (steric forces) που οφείλονται στα προσροφημένα μόρια των γαλακτωματοποιητών.

1.8.2.3 Συγχώνευση

Η συγχώνευση περιλαμβάνει τη διάσπαση του διεπιφανειακού υμενίου και τη συνένωση στη συνέχεια δύο ή περισσότερων λιποσφαιριδίων προς λιποσφαιρίδια μεγαλύτερου μεγέθους. Είναι μια μη αντιστρεπτή διαδικασία η οποία οδηγεί τελικά σε ολική κατάρρευση του γαλακτώματος και διαχωρισμό των δύο φάσεων, με αποτέλεσμα να παρατηρείται μακροσκοπικά η δημιουργία ελαιώδους στοιβάδας στο πάνω μέρος του γαλακτώματος. Το φαινόμενο της συγχώνευσης εμφανίζεται κυρίως σε γαλακτώματα με λιποσφαιρίδια που έχουν παραμείνει συσσωματωμένα για μεγάλο χρονικό διάστημα (Κέντα, 2011).

1.9 Γαλακτωματοποιητές και μηχανισμοί δράσης τους

Ως γαλακτωματοποιητές ορίζονται οι ουσίες εκείνες οι οποίες διευκολύνουν το σχηματισμό ενός γαλακτώματος συμβάλλοντας ταυτόχρονα και στη σταθεροποίησή του. Για να δράσει μια ουσία ως γαλακτωματοποιητής, απαραίτητη προϋπόθεση είναι η παρουσία στο μόριό της τόσο υδρόφιλων όσο και υδρόφοβων ομάδων, πρέπει δηλαδή να έχει αμφιφιλική δράση. Ο μηχανισμός δράσης των γαλακτωματοποιητών στηρίζεται στην ικανότητά τους να προσροφώνται στη διεπιφάνεια ελαίου – νερού, αντικαθιστώντας έτσι την άμεση και ανεπιθύμητη επαφή των μορίων του ελαίου με τα μόρια του νερού. Αυτό συμβαίνει με την έμμεση επαφή των μορίων του ελαίου με τις υδρόφοβες ομάδες του γαλακτωματοποιητή και των υδρόφιλων ομάδων του γαλακτωματοποιητή με τα μόρια του νερού.

Ο βαθμός προσρόφησης ενός γαλακτωματοποιητή στη διεπιφάνεια είναι καθοριστικής σημασίας για το σχηματισμό και τη σταθεροποίηση ενός γαλακτώματος. Υπάρχουν πολλοί γαλακτωματοποιητές οι οποίοι κατατάσσονται σε δύο βασικές κατηγορίες:

- α) τους συνθετικούς γαλακτωματοποιητές (surfactants) και
- β) τις πρωτεΐνες

Ανάλογα με τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες και τη μοριακή δομή τους, εμφανίζουν διαφορετικό μηχανισμό προσρόφησης.

1.10 Πρωτεΐνες ως γαλακτωματοποιητές

Οι πρωτεΐνες είναι αμφίφιλα μόρια, περιέχουν δηλαδή στο μόριό τους τόσο υδρόφοβες όσο και υδρόφιλες ομάδες, με αποτέλεσμα να έχουν μια «έμφυτη» ικανότητα να μεταναστεύουν εξαιρετικά γρήγορα στη διεπιφάνεια αέρα - νερού ή ελαίου - νερού. Αυτή η στιγμιαία μετακίνηση των πρωτεϊνών από το εσωτερικό της συνεχούς φάσης στη διεπιφάνεια είναι ενδεικτική του γεγονότος ότι η ελεύθερη ενέργεια των πρωτεϊνών είναι χαμηλότερη στη διεπιφάνεια από ό,τι στη συνεχή φάση. Επομένως, όταν επέλθει η ισορροπία, η

συγκέντρωση της πρωτεΐνης είναι μεγαλύτερη στη διεπιφάνεια από ότι στην υδατική φάση. Οι πρωτεΐνες, σε αντίθεση με τους γαλακτωματοποιητές μικρού μοριακού βάρους, έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν στη διεπιφάνεια ένα ισχυρό ιξωδοελαστικό υμένιο, με αποτέλεσμα τα γαλακτώματα να εμφανίζουν μεγαλύτερη σταθερότητα και ανθεκτικότητα σε τυχόν αλλαγές που λαμβάνουν χώρα στις συνθήκες που επικρατούν κατά την παρασκευή και την αποθήκευσή τους. Για το λόγο αυτό και λόγω του αμφιφιλικού τους χαρακτήρα, οι πρωτεΐνες του γάλακτος είναι γνωστοί και πολυεφαρμοσμένοι γαλακτωματοποιητές στην βιομηχανία τροφίμων (Raikos *et al.*, 2013), (Καμινारीδης και Μοάτσου, 2009).

Παρά το γεγονός ότι όλες οι πρωτεΐνες εμφανίζουν αμφιφιλική δράση, διαφοροποιούνται σημαντικά ως προς την επιφανειοδραστικότητά τους, με αποτέλεσμα να εμφανίζουν διαφορετικό βαθμό προσρόφησης. Οι διαφορές αυτές οφείλονται στη δευτεροταγή και τριτοταγή δομή τους και πιο συγκεκριμένα στην ελαστικότητα του πρωτεϊνικού μορίου, καθώς και στην κατανομή και αναλογία των υδρόφοβων και υδρόφιλων ομάδων της πρωτεΐνης στην επιφάνεια του μορίου. Γαλακτώματα σταθεροποιημένα με πρωτεΐνες γάλακτος εμφανίζουν ανταγωνιστική προσρόφηση μεταξύ των κλασμάτων πρωτεΐνης σε διεπιφάνεια λαδιού με νερό (Raikos *et al.*, 2013).

Γενικά, μια πρωτεΐνη για να εμφανίζει ικανοποιητική επιφανειακή δράση, θα πρέπει να φέρει τα εξής χαρακτηριστικά:

- α) να προσροφάται γρήγορα στη διεπιφάνεια,
- β) να ξεδιπλώνεται και να επανοριοθετείται γρήγορα σε αυτήν, και
- γ) να αλληλοεπιδρά στη διεπιφάνεια με γειτονικά μόρια, σχηματίζοντας ένα ισχυρό και συνεκτικό ιξωδοελαστικό υμένιο, ανθεκτικό στη θερμική και μηχανική κίνηση των πρωτεϊνικών μορίων.

Το πόσο γρήγορα θα προσροφηθεί μια πρωτεΐνη στη ανασχηματισμένη διεπιφάνεια εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του μορίου της και πιο συγκεκριμένα από τον τρόπο κατανομής των υδρόφοβων και υδρόφιλων ομάδων στην επιφάνεια του. Αν η επιφάνεια είναι εξαιρετικά υδρόφιλη και δεν περιέχει διακριτές υδρόφοβες περιοχές, η πρωτεΐνη εμφανίζει μικρή πιθανότητα προσρόφησης, καθώς η ελεύθερη ενέργειά της είναι χαμηλότερη στην υδατική

φάση από ότι στη διεπιφάνεια. Όσο ο αριθμός των υδρόφοβων περιοχών στην επιφάνεια του πρωτεϊνικού μορίου αυξάνει, τόσο αυξάνει και η πιθανότητα της γρήγορης προσρόφησης του στη διεπιφάνεια.

Κατά την προσρόφηση μιας πρωτεΐνης σε μια διεπιφάνεια, το μεγαλύτερο τμήμα του μορίου της παραμένει στη συνεχή φάση και μόνο ένα μικρό τμήμα αυτού προσροφάται σε αυτή. Το αν η πρωτεΐνη θα παραμείνει ή όχι προσροφημένη στη διεπιφάνεια εξαρτάται από τον αριθμό των υδρόφοβων περιοχών του μορίου της που είναι προσροφημένες στη διεπιφάνεια. Όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των προσροφημένων υδρόφοβων περιοχών τόσο πιο ισχυρή είναι η δέσμευση του πρωτεϊνικού μορίου στη διεπιφάνεια και άρα και το υμένιο που σχηματίζεται. Η αύξηση του αριθμού των υδρόφοβων περιοχών εξαρτάται από την ελαστικότητα του μορίου της πρωτεΐνης. Σε αντίθεση με τις σφαιροπρωτεΐνες, μόρια με μεγάλη ευελιξία, όπως είναι για παράδειγμα αυτά των καζεϊνών, μπορούν να υποστούν γρήγορες αλλαγές της δομής τους όταν προσροφηθούν σε μια διεπιφάνεια.

Ο σχηματισμός τόσο υδρόφοβων και δισουλφιδικών δεσμών όσο και δεσμών υδρογόνου, ενισχύουν τη μηχανική ισχύ και τις ιξωδοελαστικές ιδιότητες του διεπιφανειακού υμενίου συμβάλλοντας έτσι στη σταθερότητα του συστήματος.

Οι πρωτεΐνες χρησιμοποιούνται ευρέως στην παρασκευή τροφίμων τόσο για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και τη θρεπτική αξία που προσδίδουν στο τρόφιμο, όσο και για τις λειτουργικές ιδιότητές τους.

Για να χρησιμοποιηθεί μια πρωτεΐνη στην παρασκευή τροφίμων θα πρέπει να πληροί κάποιες προϋποθέσεις όπως να μην είναι τοξική, να είναι εύπεπτη, να βρίσκεται σε αφθονία, να έχει μεγάλη θρεπτική αξία και τέλος να φέρει τις κατάλληλες κάθε φορά λειτουργικές ιδιότητες ανάλογα με το τρόφιμο.

Από όλες τις πρωτεΐνες που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα, το μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η μελέτη των πρωτεϊνών του γάλακτος, λόγω της χρήσης τους σε ένα μεγάλο αριθμό προϊόντων, όπως γαλακτώματα, προϊόντα κρέατος και αρτοποιίας κ.α. Το γάλα περιέχει πρωτεΐνες υψηλής

διατροφικής αξίας σε συγκέντρωση 30 - 36 g/L. Οι πρωτεΐνες του γάλακτος χωρίζονται σε δυο κατηγορίες, τις καζεΐνες (caseins) και τις πρωτεΐνες ορού γάλακτος ή whey proteins (WP).

1.11 Καζεΐνες

Οι καζεΐνες αποτελούν το 80% των συνολικών πρωτεϊνών του γάλακτος. Ο διαχωρισμός τους από τις υπόλοιπες πρωτεΐνες που περιέχει το γάλα γίνεται με τη μέθοδο της ισοηλεκτρικής καταβύθισης. Η γνώση της πρωτοταγούς δομής τους παρέχει τη δυνατότητα εξαγωγής πολλών πληροφοριών, σχετικά με τις φυσικοχημικές και λειτουργικές τους ιδιότητες.

Μελέτες, ως προς την αλληλουχία των αμινοξέων των καζεϊνών, έδειξαν την παρουσία πολλών υδρόφοβων αμινοξέων στο μόριό τους, γεγονός που δικαιολογεί τη μεγάλη σταθερότητα της δομής τους σε υψηλές θερμοκρασίες. Επιπλέον, η κατανομή των υδρόφοβων και υδρόφιλων ομάδων αποκάλυψε ένα ακόμα μοναδικό χαρακτηριστικό των καζεϊνών. Τόσο τα υδρόφιλα όσο και τα υδρόφοβα αμινοξέα βρίσκονται συγκεντρωμένα σε ξεχωριστές ομάδες στην πρωτοταγή δομή τους, με συνέπεια το σχηματισμό ευδιάκριτων υδρόφιλων και υδρόφοβων περιοχών. Οι περιοχές αυτές θεωρούνται υπεύθυνες για τον ισχυρά πολικό και αμφίφιλο χαρακτήρα των καζεϊνών, στον οποίο αποδίδεται και η υψηλή γαλακτωματοποιητική ικανότητά τους (Swaisgood, 1996).

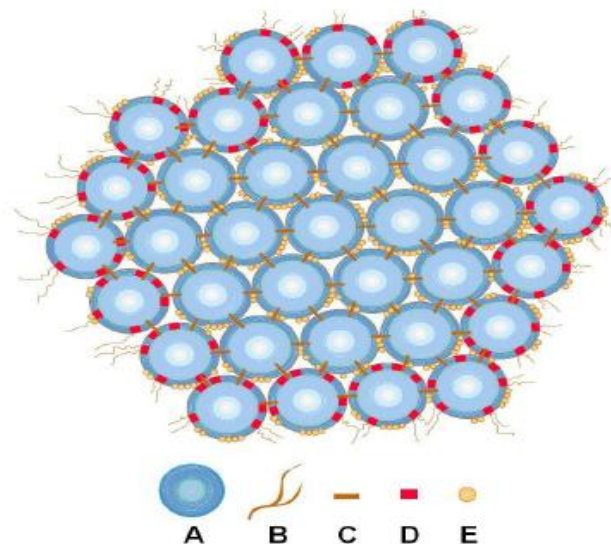
Ένα ακόμα χαρακτηριστικό των καζεϊνών είναι ότι εμφανίζουν στην τιμή ενεργού οξύτητας του γάλακτος (pH = 6,8) υψηλό αρνητικό φορτίο και άρα υψηλή διαλυτότητα. Αυτό οφείλεται στο ότι στην πλειοψηφία τους οι πολικές περιοχές του μορίου αποτελούνται από φωσφορυλιωμένες σερίνες.

Τέλος, η ύπαρξη του αμινοξέος προλίνη στο μόριό τους, σε μεγάλο ποσοστό, έχει ως αποτέλεσμα οι δευτεροταγείς διαμορφώσεις των καζεϊνών να διακόπτονται, και οι καζεΐνες να μην εμφανίζονται οργανωμένες με τη μορφή τριτοταγών και τεταρτοταγών διαμορφώσεων, αλλά αντίθετα να υιοθετούν τη

δομή πολυπεπτιδίων τυχαίας διαμόρφωσης. Αυτό έχει σαν συνέπεια το μόριο να εμφανίζει μια ιδιαίτερα ανοιχτή και ευέλικτη δομή, γεγονός που το καθιστά ικανό να προσροφάται στη διεπιφάνεια και να σχηματίζει διεπιφανειακά υμένα. Επιπλέον, η ιδιαιτερότητα αυτή της δευτεροταγούς δομής, φαίνεται ότι συμβάλει σημαντικά στη μεγάλη σταθερότητα των μορίων των καζεϊνών σε υψηλές θερμοκρασίες.

Οι καζεΐνες, λόγω της φωσφορυλιωμένης και αμφιφιλικής τους δομής, εμφανίζουν την τάση να αλληλεπιδρούν σε υδατικά διαλύματα, παρουσία Ca^{2+} , σχηματίζοντας ενυδατωμένα σφαιρικά συστήματα, τα μικκύλια. Οι δυνάμεις που συγκρατούν τα διάφορα είδη καζεϊνών ενωμένα σε αυτή τη δομή είναι κυρίως υδρόφοβες. Το γεγονός, όμως, ότι σε χαμηλές θερμοκρασίες η δομή των μικκυλίων δεν καταστρέφεται είναι ενδεικτικό ότι και άλλα είδη δεσμών συμμετέχουν στο σχηματισμό τους. Η παρουσία, στην επιφάνεια των σχηματιζόμενων μικκυλίων, της κ-καζεΐνης εμποδίζει τη συσσωμάτωσή τους λόγω στερεοχημικών παρεμποδίσεων.

Επιπλέον, οι καζεΐνες που βρίσκονται με τη μορφή μικκυλίων εμφανίζουν μεγάλη θερμική σταθερότητα σε σύγκριση με την πλειοψηφία των πρωτεϊνών που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα (Murphy, 1991).



Εικόνα 3: Μικκύλιο καζεΐνης όπου A: υπομικκύλιο, B: προεξοχές αλυσίδας, C: φωσφορικό ασβέστιο, D: κ-καζεΐνη, E: φωσφορικές ομάδες

1.12 Πρωτεΐνες Ορού Γάλακτος (WP)

Οι πρωτεΐνες ορού του γάλακτος (whey proteins, WP) αποτελούν τη δεύτερη μεγάλη κατηγορία πρωτεϊνών που περιέχονται στο γάλα και βρίσκονται σε ποσοστό 20%. Λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε θειούχα αμινοξέα είναι ιδιαίτερα επιθυμητές ως θρεπτικά συστατικά. Παραλαμβάνονται από τη συμπύκνωση του τυρογάλακτος, και προκύπτει το συμπυκνωμένο (whey protein concentrate, WPC) και το υπερσυμπυκνωμένο κλάσμα (whey protein isolate, WPI) με 59 - 80% και 80 – 92% πρωτεΐνη επί ξηρού, αντίστοιχα. Το κλάσμα των πρωτεϊνών ορού περιλαμβάνει σε μεγάλο ποσοστό τις σφαιροπρωτεΐνες, β-λακτογλοβουλίνη και α-λακταλβουμίνη.

Οι πρωτεΐνες ορού του γάλακτος, σε αντίθεση με τις καζεΐνες, εμφανίζουν μια ομοιομορφία ως προς την κατανομή των υδρόφοβων και υδρόφιλων περιοχών στην επιφάνεια των μορίων τους, με τις υδρόφιλες να υπερτερούν έναντι των υδρόφοβων. Έτσι, οι πρωτεΐνες αυτές έχουν την ικανότητα να αναδιπλώνονται στο χώρο σχηματίζοντας τρισδιάστατες δομές, στο εσωτερικό των οποίων είναι «θαμμένες» οι υδρόφοβες ομάδες. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα πρωτεϊνικά μόρια να εμφανίζουν έντονα την τάση να αλληλεπιδρούν με υδρόφοβα μόρια μικρού μοριακού βάρους, ενώ η μεταξύ τους αλληλεπίδραση, προς σχηματισμό συσσωματωμάτων, είναι σημαντικά μειωμένη (Kang et al, 2011).

Όπως οι καζεΐνες, έτσι και οι πρωτεΐνες ορού, εμφανίζουν μεγάλη διαλυτότητα στην τιμή ενεργού οξύτητας του γάλακτος. Αυτό οφείλεται στο υψηλό αρνητικό φορτίο που παρατηρείται στην επιφάνεια των μορίων τους, εξαιτίας της ιδιαιτερότητάς τους ως προς την κατανομή των υδρόφοβων και υδρόφιλων ομάδων. Επιπλέον, στην ιδιαιτερότητά τους αυτή οφείλεται και το μοναδικό χαρακτηριστικό τους να παραμένουν ευδιάλυτες ακόμα και στο ισοηλεκτρικό τους σημείο ($pI = 4,8 - 5,2$), καθώς λόγω του αυξημένου αριθμού υδρόφιλων ομάδων εμφανίζουν, ακόμα και στο ισοηλεκτρικό σημείο, ένα

μεγάλο αριθμό φορτισμένων υδρόφιλων αμινοξέων. Έτσι, η ενυδάτωση αυτών των πολικών ομάδων δημιουργεί απωστικές δυνάμεις ικανές να εμποδίσουν τη συσσωμάτωση των μορίων λόγω υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων (Glantz,2010).

Σε αντίθεση με τις καζεΐνες, οι πρωτεΐνες ορού του γάλακτος εμφανίζουν μειωμένη σταθερότητα, ως προς τη δομή τους, σε υψηλές θερμοκρασίες. Γενικά, η αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί μη αντιστρεπτές μεταβολές στη δομή των μορίων, με αποτέλεσμα να εμφανίζονται στην επιφάνεια υδρόφοβες ομάδες, το ποσοστό των οποίων αυξάνει σημαντικά σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Αυτό έχει ως συνέπεια την ανάπτυξη υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων, οι οποίες οδηγούν στο σχηματισμό συσσωματωμάτων και σε μείωση της διαλυτότητάς τους.

1.13 Συνθετικοί γαλακτωματοποιητές

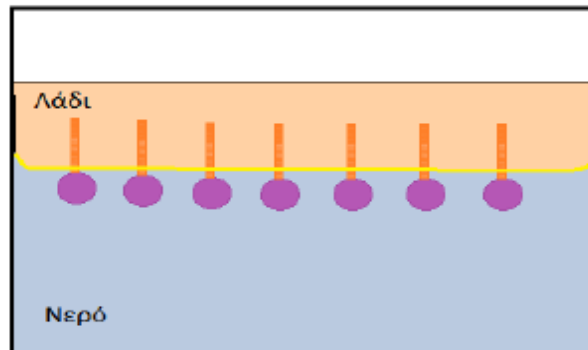
Οι συνθετικοί γαλακτωματοποιητές είναι επιφανειοδραστικές ουσίες χαμηλού μοριακού βάρους. Συγκεκριμένα είναι μικρά αμφίφιλα μόρια τα οποία φέρουν μια υδρόφιλη ομάδα στο ένα άκρο (κεφαλή) και μια υδρόφοβη ομάδα στο άλλο άκρο (ουρά). Το υδρόφοβο τμήμα τους αποτελείται συνήθως από μια ή περισσότερες ανθρακικές αλυσίδες 10 έως 20 ατόμων άνθρακα. Οι αλυσίδες αυτές μπορεί να είναι είτε κορεσμένες είτε ακόρεστες, ενώ συνήθως είναι αλειφατικές. Το υδρόφιλο τμήμα τους διαφοροποιείται και, ανάλογα με τη φύση του, οι γαλακτωματοποιητές χαμηλού μοριακού βάρους διακρίνονται σε ανιονικούς, κατιονικούς και ουδέτερους. Οι λειτουργικές ιδιότητες κάθε γαλακτωματοποιητή μικρού μοριακού βάρους καθορίζονται από τη χημική του δομή, η οποία είναι χαρακτηριστική για τον καθένα. Για το λόγο αυτό, είναι απαραίτητη η επιλογή του καταλληλότερου κάθε φορά γαλακτωματοποιητή ανάλογα με τη χρήση για την οποία προορίζεται.

Η πλειοψηφία των γαλακτωματοποιητών χαμηλού μοριακού βάρους δεν εμφανίζει μεγάλη διαλυτότητα ούτε στο νερό ούτε στη φάση του ελαίου. Αντίθετα, εμφανίζουν μια βέλτιστη διαλυτότητα όταν βρίσκονται σε ένα μερικώς

υδρόφιλο και μερικώς υδρόφοβο περιβάλλον, όπως είναι αυτό της διεπιφάνειας ελαίου – νερού. Σε υδατικά διαλύματα βρίσκονται με τη μορφή μικκυλίων, σχηματίζουν δηλ. μια υδρόφιλη επιφάνεια και μια υδρόφοβη κοιλότητα που συμβάλλουν στη ελάττωση των απωστικών αλληλεπιδράσεων με τα μόρια του διαλύτη. Οι δομές αυτές είναι θερμοδυναμικά σταθερές, ενώ το σχήμα τους εξαρτάται από την πολικότητα του γαλακτωματοποιητή, καθώς και από τη μοριακή γεωμετρία του. Οι αλληλεπιδράσεις που σταθεροποιούν αυτές τις δομές είναι σχετικά ασθενείς σε σχέση με τη θερμική ενέργεια, με αποτέλεσμα οι διαμορφώσεις αυτές να είναι ιδιαίτερα ευέλικτες, αλλά και ευαίσθητες σε αλλαγές των συνθηκών του περιβάλλοντός τους, όπως η θερμοκρασία, η ενεργός οξύτητα, η ιονική ισχύς κ.α.

Η γαλακτωματοποιητική ικανότητα των μορίων αυτών οφείλεται, όπως και στην περίπτωση των πρωτεϊνών, στην αμφιφιλική τους δομή. Παρόλα αυτά, όμως, ο μηχανισμός προσρόφησης των γαλακτωματοποιητών μικρού μοριακού βάρους στη διεπιφάνεια, είναι διαφορετικός από αυτών των πρωτεϊνών. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι, στην περίπτωση των γαλακτωματοποιητών μικρού μοριακού βάρους, οι υδρόφιλες και υδρόφοβες ομάδες βρίσκονται στα άκρα των μορίων σε αντίθεση με τις πρωτεΐνες που βρίσκονται σε όλο το μόριο. Για το λόγο αυτό δεν υφίστανται παρεμποδίσεις στην προσρόφηση με αποτέλεσμα να προσροφώνται με τη μορφή ενός μονομοριακού στρώματος στο οποίο η υδρόφιλη «ουρά» εκτείνεται προς την υδατική φάση ενώ το υδρόφοβο τμήμα προς τη φάση του ελαίου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των ανεπιθύμητων αλληλεπιδράσεων, καθώς και τη μείωση της διεπιφανειακής τάσης, γεγονός που διευκολύνει το σχηματισμό του γαλακτώματος. Μετά την προσρόφηση στη διεπιφάνεια, ο γαλακτωματοποιητής πρέπει να σταθεροποιήσει το σύστημα εμποδίζοντας τη συσσωμάτωση των λιποσφαιριδίων. Ο τρόπος με τον οποίο επιτυγχάνεται αυτό διαφοροποιείται ανάλογα με την κατηγορία στην οποία ανήκει ο γαλακτωματοποιητής. Έτσι, μπορεί να σταθεροποιεί το γαλάκτωμα είτε με το να παρέχει σε όλα τα λιποσφαιρίδια το ίδιο ηλεκτρικό φορτίο (ανιονικός), είτε με το σχηματισμό ενός

πολυστρωματικού διεπιφανειακού υμενίου, είτε λόγω στερεοχημικών αλληλεπιδράσεων και άλλων απωστικών δυνάμεων (Κέντα,2011).



Εικόνα 4. Αναπαράσταση προσρόφησης του γαλακτωματοποιητή στην διεπιφάνεια ελαίου-νερού.

Σε αυτή την πειραματική εργασία χρησιμοποιήθηκε η επιφανειοδραστική ουσία (συνθετικά κατασκευασμένος γαλακτωματοποιητής) **Tween-80** με χημικό τύπο $C_{32}H_{60}O_{10}$ και ονομασία polyoxyethylene sorbitan monooleate, αλλιώς πολυοεξυθυλένιο μονοελαϊκής σορβιτάνης.

Το Tween παρουσιάζει σημαντικά χαμηλότερο μέσο βάρος και διάμετρο σταγονιδίων σε σχέση με την καζεΐνη ή την πρωτεΐνη ορού γάλακτος. Σε υψηλές συγκεντρώσεις επιφανειοδραστικών ουσιών τα μόρια χαμηλότερου μοριακού βάρους όπως το Tween σχηματίζουν ένα πυκνό φιλμ γύρω από το σφαιρίδιο λαδιού και ως εκ τούτου είναι πιο αποτελεσματικά στο να μειώνουν την ένταση της ενδιάμεσης φάσης - διεπιφάνειας (Interfacial Tension) σε σύγκριση με τις φυσικές πρωτεΐνες. Έχει παρατηρηθεί ότι η παρουσία επιφανειοδραστικών ουσιών σε γαλακτώματα επηρεάζει την απορρόφηση πρωτεΐνης από την διεπιφάνεια. Τα μικρά τασιενεργά μόρια προσροφούνται στις κενές οπές του διεπιφανειακού δικτύου πρωτεΐνης με αποτέλεσμα την διάσπαση δεσμού και την μετατόπιση των μορίων πρωτεΐνης. Έτσι παρουσία του Tween, οι καζεΐνες χάρη στη μοριακή ευελιξία τους είναι πιο αποτελεσματικά αναδιαταγμένες στη διεπιφάνεια σε σύγκριση με τις σφαιρικές πρωτεΐνες ορού γάλακτος (Raikos *et al.*, 2013).

Κεφάλαιο 2ο ΣΚΕΔΑΣΗ ΤΟΥ ΦΩΤΟΣ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ

2.1 Σκέδαση του φωτός

Γενικά μια προσπίπτουσα ακτινοβολία σκεδάζεται προς όλες τις τυχαίες στον χώρο κατευθύνσεις. Η ένταση του σκεδασμένου φωτός εξαρτάται από την πολωσιμότητα ενώ η πολωσιμότητα εξαρτάται από το μοριακό βάρος. Αυτή η ιδιότητα του φωτός να σκεδάζεται είναι πολύ χρήσιμο εργαλείο για τον προσδιορισμό του μοριακού βάρους. Ακόμη η σκέδαση του φωτός έχει μια άμεση εξάρτηση με το μέγεθος των σωματιδίων.

Πολλά χαρακτηριστικά των τροφίμων καθορίζονται από το μέγεθος των σωματιδίων που υπάρχουν στην αρχική πρώτη ύλη ή στο τελικό προϊόν, το οποίο επηρεάζει τις ρεολογικές ιδιότητες του ακατέργαστου προϊόντος. Η γεύση και η αίσθηση της σοκολάτας για παράδειγμα, ο βαθμός διάλυσης καφέ και γάλακτος και το ιξώδες των γαλακτωμάτων επηρεάζονται όλα από το μέγεθος των σωματιδίων, και έτσι, επηρεάζει και τις ρεολογικές τους ιδιότητες. Το μέγεθος σωματιδίων και η ρεολογία επίσης επηρεάζουν άλλες τεχνικές όπως είναι η γαλακτοματοποίηση (Παπαδοπούλου και Πανακίδης, 2009).

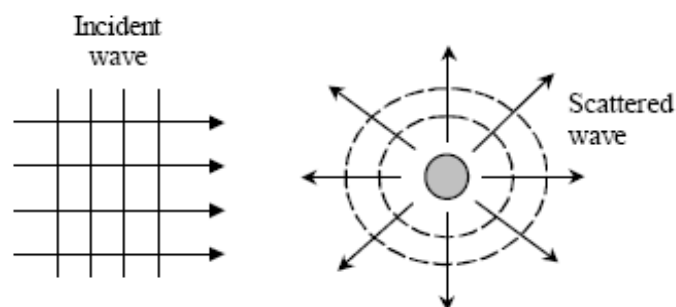
Καθώς το φως διέρχεται από ένα υλικό, η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία αλληλοεπιδρά με τα μόρια του υλικού. Αυτά πολώνονται, δηλαδή τα επίκεντρα του θετικού και του αρνητικού φορτίου αλλάζουν την σχετική τους θέση. Η συχνότητα της προσπίπτουσας ακτίνας είναι ίδια με την συχνότητα πόλωσης, και τα μόρια που υποβάλλονται σε αυτή την διαδικασία γίνονται τα ίδια πηγές ακτινοβολίας. Σε ένα απόλυτα ομογενές σύστημα αυτή η δευτερογενής ακτινοβολία αναιρείται από την πρόσθεση των επιμέρους κυματικών συναρτήσεων (κάθε μόριο εκπέμπει σε ελαφρά διαφορετική φάση από το διπλανό του, οπότε το άθροισμα των κυμάτων είναι μηδέν) και η προσπίπτουσα ακτινοβολία διέρχεται του μέσου χωρίς σκέδαση. Αν όμως η πολωσιμότητα των

επιμέρους μικροπεριοχών του υλικού δεν είναι η ίδια καθ' όλο το υλικό, οι δευτερογενείς ακτινοβολίες δεν είναι παρόμοιες, οπότε το άθροισμά τους δεν είναι μηδέν. Έτσι τελικά οι επιμέρους περιοχές σκεδάζουν μέρος του φωτός. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το σώμα να φαίνεται συμπαγές. (Παπαδοπούλου και Πανακίδης, 2009), (Liu et al, 2015).

Σκέδαση είναι η διαδικασία κατά την οποία η κατεύθυνση ενός ηλεκτρομαγνητικού κύματος μεταβάλλεται εφόσον προσπέσει σε κάποιο μόριο ύλης το οποίο να είναι τέτοιου μεγέθους που να επηρεάζει το κύμα. Η σκέδαση εξαρτάται από τη διαφορά μεταξύ του δείκτη διάθλασης του μέσου που διαδίδεται το φως αλλά και το μέγεθος των σκεδαστών σε σχέση με το μήκος κύματος. Η σκέδαση οφείλεται στην ανομοιογένεια του μέσου που ακτινοβολείται και στο δείκτη διάθλασης.

Η γωνιακή κατανομή της σκέδασης εξαρτάται από μια σειρά παραγόντων και συγκεκριμένα:

- Το μέγεθος και το σχήμα των σκεδαστών.
- Τη διαφορά στο δείκτη διάθλασης των σκεδαστών από το μέσο στο οποίο βρίσκονται.
- Το μέγεθος της ανομοιογένειας σε σχέση με το μήκος κύματος.
- Την πυκνότητα των σκεδαστών



Εικόνα 5: Σχηματική αναπαράσταση της σκέδασης του φωτός όταν προσπίπτει σε ένα αντικείμενο.

2.2 Θεωρίες για την σκέδαση του φωτός

2.2.1 Θεωρία σκέδασης Rayleigh

Ο Rayleigh ασχολήθηκε με την σχέση που συνδέει τη σκέδαση του φωτός με το μέγεθος του σωματιδίου που προκαλεί την σκέδαση. Δεχόμενος ότι το μήκος κύματος του φωτός είναι πολύ μεγαλύτερο από το σκεδάζον σωματίδιο, κατέληξε σε μαθηματικές εκφράσεις που σχετίζουν τη γωνία σκέδασης με το μέγεθος ενός υποθετικού σφαιρικού σωματιδίου, το οποίο μπορεί να είναι το σταγονίδιο λίπους στο γάλα. Ο βασικός περιορισμός της θεωρίας του ήταν ότι το πεδίο εφαρμογής της περιοριζόταν σε σωματίδια πολύ μικρότερα από το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός. Ο ίδιος και ξεχωριστά οι Debye και Ganz ανέπτυξαν παραπέρα τη θεωρία στη θεωρία RDG (από τα αρχικά στα ονόματά τους), θεωρώντας ότι κάθε στοιχειώδης όγκος μιας σφαίρας που σκεδάζει το φως λειτουργεί ως κέντρο σκέδασης από μόνο του, καταλήγοντας σε μια θεωρία που μπορούσε να εφαρμοστεί σε σχετικά μεγαλύτερες σφαίρες αλλά και σε τήγματα και διαλύματα πολυμερών.

Αναλυτικότερα, για τα σωματίδια των οποίων οι διαστάσεις είναι πολύ μικρότερες από το μήκος κύματος και για τα οποία τα σκεδαζόμενα μόρια μπορούν να θεωρηθούν ανεξάρτητα, μπορεί να εφαρμοστεί η θεωρία του Rayleigh προκειμένου να περιγραφεί η διαδικασία σκέδασης. Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή μπορούμε να δεχτούμε ότι τα σκεδαζόμενα μόρια είναι πολωμένα. Η προσπίπτουσα ακτινοβολία πολώνει την ηλεκτρονική δομή του κάθε μορίου με τη μορφή ενός δίπολου στο οποίο τα ηλεκτρόνια κινούνται προς την ίδια κατεύθυνση αφήνοντας με αυτό τον τρόπο θετικό φορτίο στην αντίθετη πλευρά από αυτήν της κίνησης τους. Αυτά τα δίπολα ταλαντώνονται ανάλογα με την προσπίπτουσα ακτινοβολία. Σύμφωνα με την κλασική φυσική τα ταλαντευόμενα δίπολα πρέπει να εκπέμπουν ενέργεια γι' αυτό το λόγο απορροφούν ενέργεια από το πεδίο πρόσπτωσης και στη συνέχεια την εκπέμπουν. Το σύνολο της ακτινοβολίας αυτής εκπέμπεται σε κατεύθυνση

κάθετη προς τον άξονα του δίπολου ενώ κατά μήκος του άξονα η ενέργεια είναι μηδενική (Χυ, 2014).

Γενικά η θεωρία του Rayleigh μπορεί να διατυπωθεί ως εξής, «Η ένταση σκεδασμού του φωτός που διέρχεται από ετερογενές σύστημα διασποράς είναι ανάλογη προς το τετράγωνο του στατιστικού όγκου των σωματιδίων της εσωτερικής φάσεως και αντιστρόφως ανάλογη προς την τέταρτη δύναμη του μήκους κύματος του φωτός». Ο ίδιος κατέληξε τελικά και στην παρακάτω σχέση.

$$I = I_0 \frac{9 U^2 \pi^2}{X^2 \lambda^4} \left(\frac{n_1^2 - n_2^2}{n_1^2 + 2n_2^2} \right)^2$$

όπου

I = ένταση σκεδαζόμενου φωτός κατά διεύθυνση κάθετη προς το προσπίπτον,

I_0 = ένταση προσπίπτοντος φωτός,

U = στατιστικός μέσος όγκος σωματιδίων,

λ = μήκος κύματος φωτός,

X = απόσταση της πηγής και της θέσεως των σωματιδίων που προκαλούν το σκεδασμό,

n_1 = δείκτης διάθλασης του μέσου διασποράς,

n_2 = δείκτης διάθλασης των σωματιδίων διασποράς.

Η θεωρία σκέδασης του **Rayleigh** μπορεί να προβλέψει τα ακόλουθα:

1. Η σκεδαζόμενη ακτινοβολία υπό γωνία 90° ως προς την μεταδιδόμενη ακτίνα είναι πλήρως πολωμένη.
2. Το ποσό του σκεδαζόμενου φωτός είναι ανάλογο του αντιστρόφου της τέταρτης δύναμης του μήκους κύματος. Σαν αποτέλεσμα, το μπλε φως των 400nm σκεδάζεται 9,4 φορές περισσότερο από το κόκκινο φως των 700 nm.

3. Το ποσό του φωτός που σκεδάζεται στην οπίσθια και στην πρόσθια επιφάνεια είναι ίσο (Παπαδοπούλου και Πανακίδης, 2009).

2.2.2 Θεωρία της σκέδασης Mie

Όταν οι σκεδαστές έχουν μέγεθος πολύ μεγαλύτερο από το μήκος κύματος του φωτός ονομάζονται σωματίδια Mie. Η συμπεριφορά αυτών των σωματιδίων όταν προσπίπτει πάνω τους μια δέσμη laser μπορεί να περιγραφεί με όρους απλής απορρόφησης ή ανάκλασης. Η θεωρία Mie βασίζεται στις εξισώσεις ηλεκτρομαγνητικού πεδίου του Maxwell.

Το σημαντικό είναι ότι λόγω του μεγάλου μεγέθους των θεωρούμενων σωματιδίων ως προς το μήκος κύματος της ακτινοβολίας, κατά την αλληλεπίδραση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας με το σωματίδιο, μπορούμε να αγνοήσουμε τα κυματικά χαρακτηριστικά του φωτός. Αυτό σημαίνει ότι το φαινόμενο μπορεί να ερμηνευθεί θεωρητικά με αρχές γεωμετρικής οπτικής, δηλαδή με απλούς όρους ανάκλασης και διάθλασης των οπτικών ακτινών που συνιστούν την εισερχόμενη δέσμη φωτός.

Η θεωρία της σκέδασης Mie για σωματίδια που το μέγεθος τους είναι πολύ μεγαλύτερο από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας διέπεται από τις ακόλουθες θεμελιώδεις παραδοχές:

➤ Η προσπίπτουσα ακτινοβολία διαχωρίζεται σε δυο κατηγορίες, την ανεπηρέαστα διαδιδόμενη ακτινοβολία και την σκεδαζόμενη ακτινοβολία. Το ποσοστό της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας είναι ίσο με το πηλίκο της προσπίπτουσας ακτινοβολίας που αλληλοεπιδρά με του σκεδαστές. Τελικά η συνολική κατανομή είναι η υπέρθεση των επιμέρους εντάσεων δηλαδή της διαδιδόμενης ακτινοβολίας και της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας. Η κατανομή του σκεδαζόμενου φωτός μπορεί να προσδιοριστεί από τις μικροσκοπικές γεωμετρικές ιδιότητες του σκεδαστή, αν ληφθεί υπόψη η ανάκλαση, η διάθλαση και η περίθλαση.

➤ Όταν η διάμετρος του σκεδαστή (d) είναι πολύ μεγαλύτερη από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας, τότε ένα τμήμα της ακτινοβολίας προσπίπτει πάνω στον σκεδαστή και το υπόλοιπο περνά γύρω από αυτόν. Τελικά η ακτινοβολία που προσπίπτει στον σκεδαστή και η ακτινοβολία που περνά γύρω από αυτόν δημιουργούν δύο ξεχωριστά φαινόμενα όπου και τα δύο σύμφωνα με τη θεώρηση του Mie περικλείουν τον όρο σκέδαση. Το πρώτο φαινόμενο αποτελείται από δύο διαδικασίες την ανάκλαση και τη διάθλαση, ένα ποσοστό των ακτινών που προσπίπτουν στην επιφάνεια του σκεδαστή ανακλάται και ένα άλλο ποσοστό διαθλάται. Το διαθλώμενο φως εξέρχεται από το σκεδαστή αφού διαθλαστεί, ή αφού υποστεί κάποιες εσωτερικές ανακλάσεις. Το δεύτερο φαινόμενο είναι η περίθλαση, στην περίπτωση αυτή η ακτινοβολία που περνάει γύρω από το σκεδαστή δημιουργεί ένα επίπεδο μέτωπο κύματος, σχήματος και μεγέθους ανάλογο της γεωμετρικής σκιάς του σκεδαστή. Το μέτωπο κύματος αυτό είναι ελλiptές και λόγω της αρχής του Huygens προκαλεί μια συγκεκριμένη γωνιακή κατανομή της έντασης. Η κατανομή της έντασης σε αυτή την περίπτωση εξαρτάται από το σχήμα και το μέγεθος του σκεδαστή και είναι ανεξάρτητη από τη σύνθεση και τη φύση της επιφάνειας του. Τα δυο αυτά φαινόμενα που παρουσιάζονται παραπάνω συνθέτουν τελικά τη σκέδαση (Guyomarch et al, 2010), (Liu et al, 2015).

2.3 Κατηγορίες σκέδασης

Η σκέδαση του φωτός χωρίζεται σε δυο κατηγορίες:

1. Στατική σκέδαση του φωτός: παρέχει άμεση μέτρηση του όγκου των σωματιδίων (ή της μάζας τους). Η κλασική σκέδαση φωτός περιλαμβάνει μέτρηση της ποσότητας φωτός που σκεδάζεται από ένα διάλυμα σε μια συγκεκριμένη γωνία η οποία σχετίζεται με την προσπίπτουσα ακτίνα φωτός. Αυτή η μέθοδος μπορεί να είναι επίσης πολύ χρήσιμη για τον προσδιορισμό συσσωματωμάτων, όπως νουκλεϊκών οξέων ή γλυκοπρωτεϊνών.

2. Δυναμική σκέδαση του φωτός: Χρησιμοποιεί το σκεδάζον φως για να μετρήσει το εύρος της διάχυσης των σωματιδίων. Εδώ κάποιος μπορεί να μετρήσει την εξάρτηση του χρόνου του φωτός που σκεδάζεται από μια μικρή περιοχή του διαλύματος σε σχέση με ένα εύρος τιμών χρόνου από δέκατα του μs (microseconds) έως ms (milliseconds). Αυτές οι διακυμάνσεις στην ένταση του σκεδάζοντος φωτός σχετίζονται με την ποσότητα διάχυσης των σωματιδίων μέσα και έξω από την περιοχή που μελετούνται (κίνηση Brown), και τα δεδομένα μπορούν να αναλυθούν ώστε κατ' ευθείαν να δώσουν τους συντελεστές διάχυσης των σωματιδίων που έχουν σκεδαστεί. Όταν πολλά είδη είναι παρόντα, φαίνεται η κατανομή συντελεστών διάχυσης.

2.3.1 Στατική σκέδαση του φωτός

Αναλυτικότερα, στη **στατική σκέδαση φωτός (static light scattering)**, μια πολωμένη ακτίνα laser κατευθύνεται σε τμήμα του δείγματος. Πίσω από αυτό, ένας αριθμός φωτοευαίσθητων ανιχνευτών τοποθετημένων ως ομόκεντροι κύκλοι καταγράφουν την ένταση του φωτός σε συγκεκριμένες γωνίες. Έτσι κατασκευάζεται ένα διάγραμμα έντασης του φωτός – γωνίας σκέδασης. Τα δεδομένα αυτά, τα μήκη κύματος και οι δείκτες διάθλασης χρησιμοποιούνται ως δεδομένα για την εφαρμογή της θεωρίας του Mie, μετατρέποντας τα αρχικά δεδομένα έντασης – γωνίας σκέδασης σε ένα διάγραμμα κατανομής μεγεθών σωματιδίων. Προκειμένου να αποφευχθούν επιπλοκές από την πολλαπλή σκέδαση του φωτός από πολλά σωματίδια, η απόσταση μεταξύ τους αυξάνει με μεγάλη αραιώση, λ.χ. μερικές σταγόνες γαλακτώματος σε 500ml νερού.

2.3.2 Δυναμική σκέδαση του φωτός

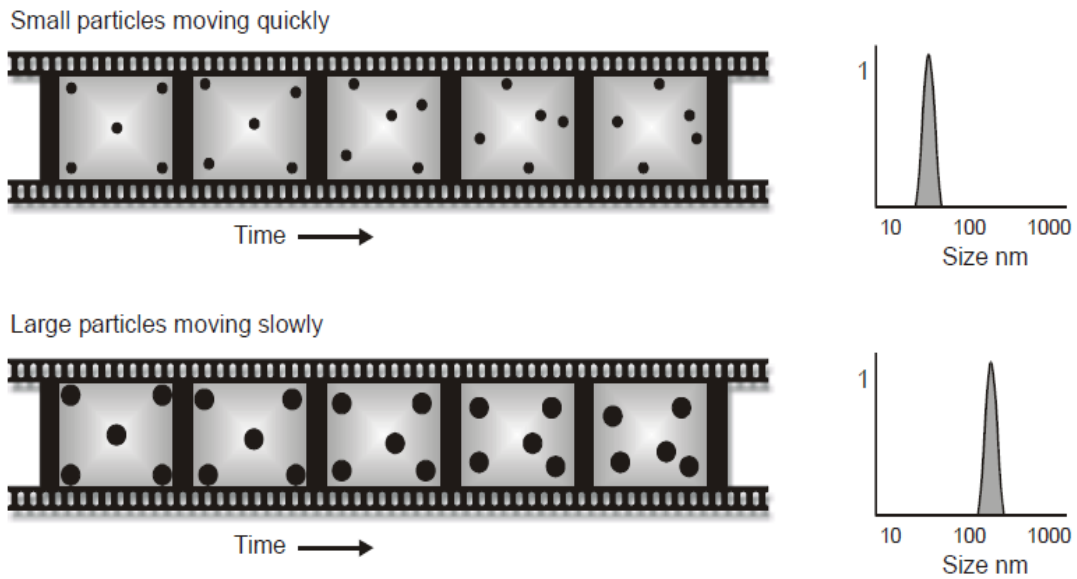
Η **δυναμική σκέδαση φωτός/Dynamic light Scattering (DLS)** μετράει τη διάμετρο της σφαίρας που διαχέεται με την ίδια ταχύτητα με αυτή

που έχει το σωματίδιο που μετράμε. Η DLS έγινε πραγματικότητα μόνο μετά την ανακάλυψη και διάδοση του laser στα τέλη του 1960 όταν πλέον συνεκτικές μεταξύ τους παράλληλες, σταθερής υψηλής έντασης ακτίνες φωτός έγιναν διαθέσιμες για ευρεία χρήση. Οι πρώτες εφαρμογές της Δυναμικής σκέδασης έγιναν για τη μελέτη πολυμερών διαλυμάτων (Xu R., 2014).

Η δυναμική σκέδαση φωτός γνωστή και ως φασματοσκοπία συσχετισμού φωτονίων (Photon Correlation Spectroscopy- PCS) είναι ένα από τα σημαντικότερα μέσα μέτρησης μεγέθους των νανοσωματιδίων, του οποίου τα πλεονεκτήματα είναι πολλά αλλά κυρίως η ταχύτητα, η ακρίβεια και η μη επεμβατικότητα στα σωματίδια που μελετά. Η DLS βασίζεται στην κίνηση Brown των σωματιδίων σε εναιώρημα και παραδοσιακά εφαρμοζόταν για τη μέτρηση μεγέθους σωματιδίων. Το σκεδαζόμενο φως από μεγάλα σωματίδια διακυμαίνεται αργά. Ο συντελεστής διάχυσης των σωματιδίων μπορεί να προσδιοριστεί από τη λειτουργία αυτοσυσχέτισης έντασης σήματος (intensity autocorrelation) από την οποία μπορούμε να λάβουμε τις πληροφορίες για το μέγεθος των σωματιδίων (Liu et al, 2015).

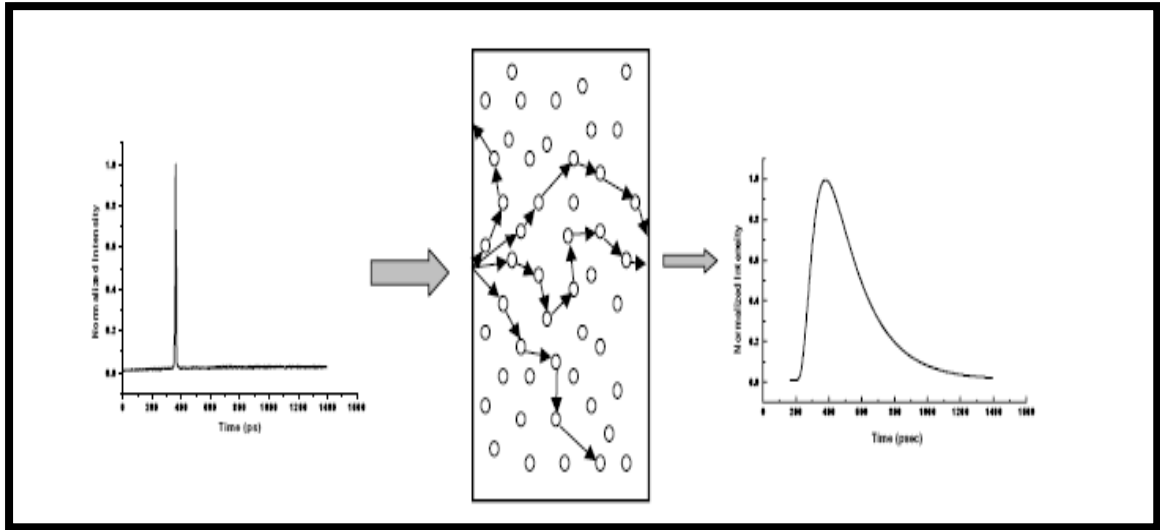
Καθορίζει το μέγεθος μετρώντας πρώτα την κίνηση Brown (Brownian motion) των σωματιδίων στο δείγμα χρησιμοποιώντας DLS και μετά ερμηνεύει/δίνει ένα μέγεθος γι' αυτό χρησιμοποιώντας εδραιωμένες θεωρίες. Η **κίνηση Brown** εκφράζεται ως: «Η τυχαία κίνηση των σωματιδίων μέσα σε ένα υγρό λόγω του βομβαρδισμού τους από τα μόρια που τα περιβάλλουν». Τα σωματίδια κινούνται τυχαία και η ταχύτητα της κίνησης τους χρησιμοποιείται για να προσδιοριστεί το μέγεθος τους .

Η κίνηση Brown είναι αντιστρόφως ανάλογη του μεγέθους των σωματιδίων, δηλαδή όσο πιο μεγάλο ένα σώμα τόσο πιο αργή η κίνηση Brown. Επίσης όσο υψηλότερη η θερμοκρασία τόσο πιο γρήγορη είναι η κίνηση Brown.



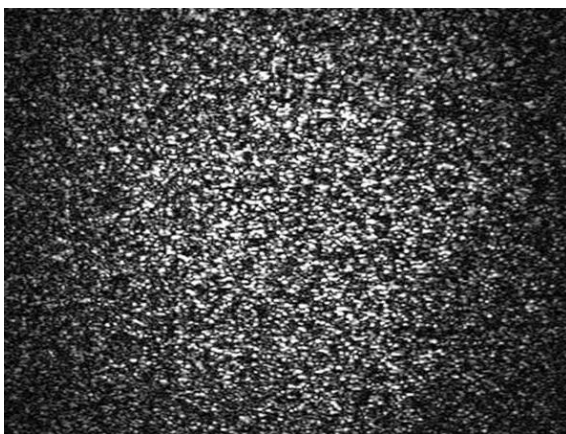
Εικόνα 6: Η κίνηση Brown

Η ταχύτητα της κίνησης αυτής καθορίζεται από τον μεταφορικό συντελεστή διάχυσης D . Όταν το φως σκεδάζεται από κινούμενο σωματίδιο, λόγω φαινομένου Doppler, υφίσταται μια μετατόπιση προς ελαφρώς χαμηλότερη ή υψηλότερη συχνότητα ανάλογα εάν το σωματίδιο κινείται από ή προς την πηγή. Το κύριο χαρακτηριστικό της δυναμικής σκέδασης είναι η ικανότητα της μεθόδου να αναλύει δείγματα που περιέχουν διαφορετικές κατανομές των ειδών και διαφορετικά μοριακά βάρη (Liu et al, 2015), (www.Malvern.co.uk).



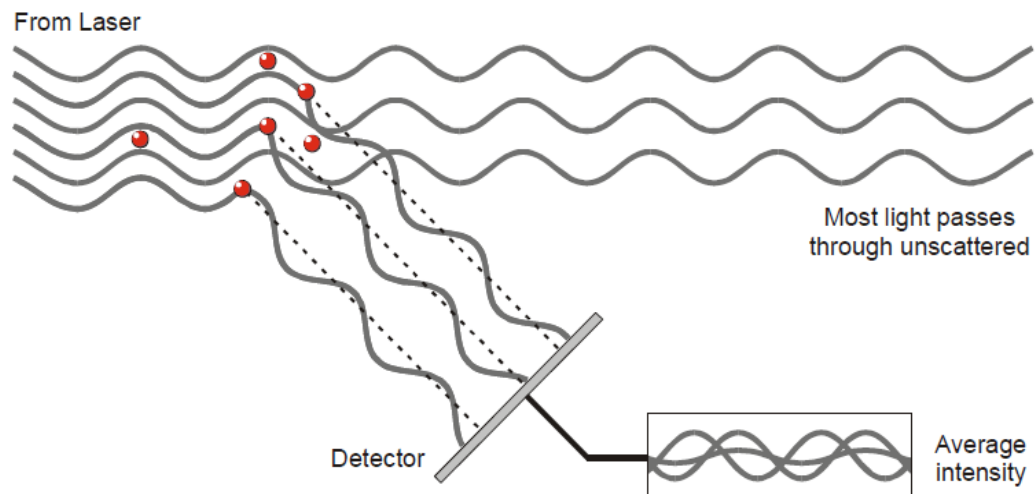
Εικόνα 7: Η μεταβολή της ακτινοβολίας πριν υποστεί σκέδαση και μετά

Η δυναμική σκέδαση φωτός/Dynamic light Scattering γνωστή και ως PCS-Photon Correlation Spectroscopy μετρά όπως είπαμε την κίνηση Brown και τη συσχετίζει με το μέγεθος των σωματιδίων. Αυτό επιτυγχάνεται με το να φωτίζει τα σωματίδια με ένα Laser και στη συνέχεια να αναλύει τις διακυμάνσεις της έντασης στο διεσπαρμένο φως (intensity fluctuations). Αν ένα μικρό σωματίδιο φωτιστεί από μια φωτεινή πηγή, όπως είναι το λέιζερ, το σωματίδιο θα διασκορπίσει το φως αυτό προς όλες τις κατευθύνσεις. Αν μια οθόνη υπάρχει κοντά στο σωματίδιο αυτό, θα φωτιστεί από το διεσπαρμένο φως. Σκεφτείτε τώρα αντί για ένα μόνο σωματίδιο να υπήρχαν χιλιάδες στάσιμα σωματίδια, τότε θα παίρναμε μια εικόνα-μοτίβο πολλών κηλίδων φωτός, όπως στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 8. Μοτίβο κηλίδων φωτός

Το μοτίβο αυτό αποτελείτε από φωτεινές και σκοτεινές περιοχές, οι οποίες προκύπτουν ως εξής:



The scattered light falling on the detector.

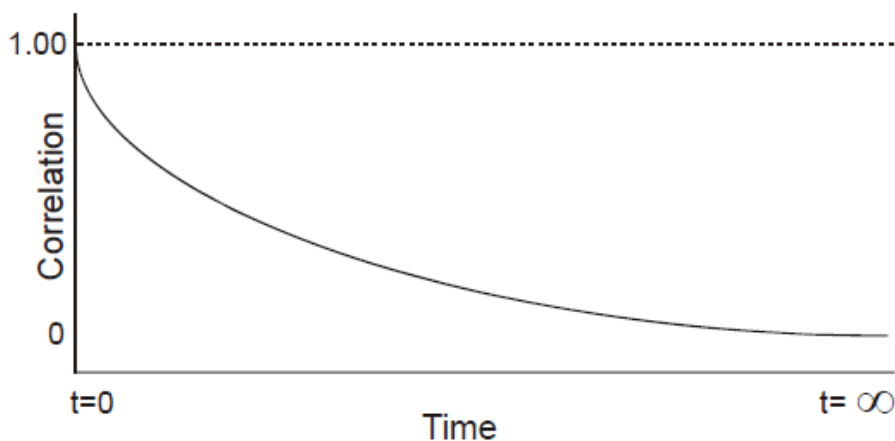
Εικόνα 9: Το σκεδαζόμενο φως και ο ανιχνευτής

Η απεικόνιση αυτή μας δείχνει πως τα κύματα φωτός διαδίδονται μετά τη σκέδαση τους από τα σωματίδια. Οι φωτεινές περιοχές είναι τα σημεία όπου το φως που έχει σκεδαστεί, φτάνει στην οθόνη με την ίδια φάση και παρεμβαίνει εποικοδομητικά ώστε να σχηματιστεί ένα φωτεινό πλέγμα (bright patches όπως χαρακτηρίζονται). Σκοτεινές περιοχές υπάρχουν εκεί όπου οι φάσεις φτάνοντας αλληλοεξουδετερώνονται, είναι αμοιβαία καταστροφικές δημιουργώντας έτσι σκοτεινά σημεία. Έτσι περίπου μπορεί να περιγραφεί η απεικόνιση στατικών μορίων. Στην πράξη όμως ποτέ τα σωματίδια ενός υγρού όπως είναι το γάλα που μελετάμε, δεν παραμένουν στάσιμα. Για την ακρίβεια κινούνται συνεχώς βάση της κίνησης του Brown, η οποία εν συντομία λέει ότι η κίνηση των σωματιδίων γίνεται λόγω της τυχαίας σύγκρουσης τους με τα μόρια του υγρού που υπάρχουν γύρω από κάθε σωματίδιο. (www.Malvern.co.uk)

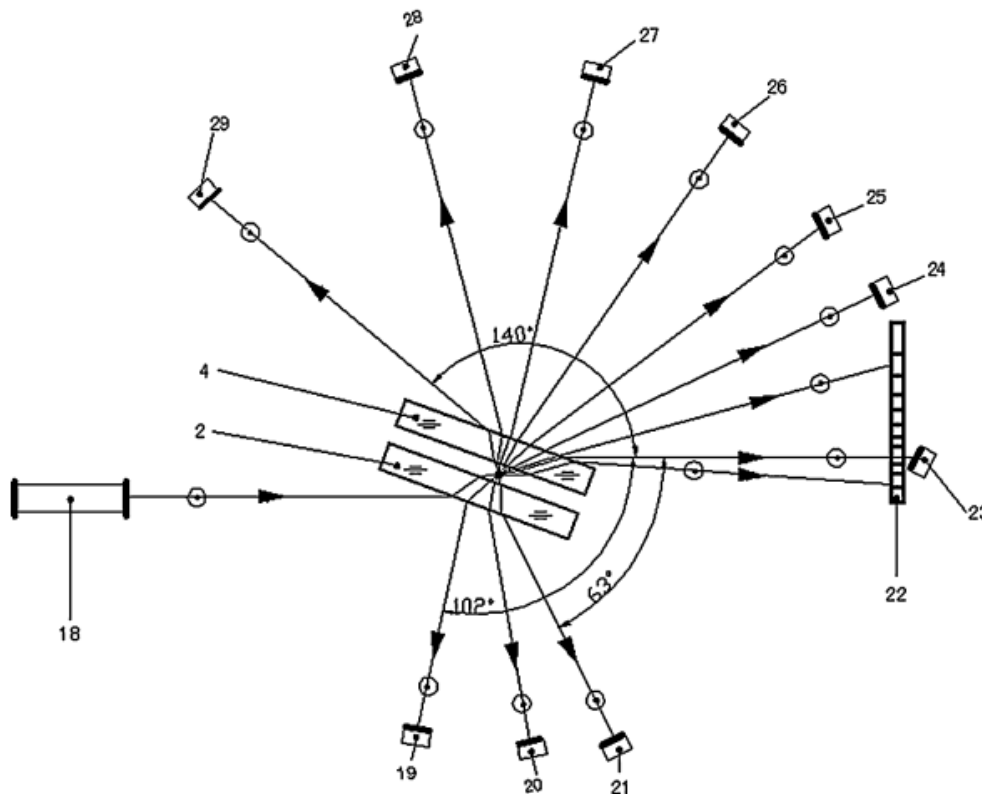
Πολύ σημαντικό ρόλο στην DLS παίζει το γεγονός ότι τα μικρά σωματίδια κινούνται γρήγορα, ενώ τα μεγάλα αργά και πάνω σε ακριβώς αυτό βασίζεται η

λειτουργία της μέτρησης της σκέδασης του φωτός για να βρούμε το μέγεθος των σωματιδίων μέσα σε ένα δείγμα. Αν πάρουμε δυο τυχαίες μετρήσεις της έντασης του σήματος με μεγάλη χρονική απόσταση μεταξύ τους, δεν θα υπάρχει κάποια συσχέτιση μεταξύ των δυο, καθώς τα σωματίδια κινούνται σε τυχαίες κατευθύνσεις (λόγω κίνησης Brown). Γενικά, στη δυναμικά σκέδαση φωτός (DLS) έχουμε να κάνουμε με πολύ μικρές χρονικές κλίμακες. Σε μια τυπική μέτρηση η περίοδος χρόνου που χρειάζεται η συσχέτιση (correlation) για να μειωθεί στο μηδέν, είναι της τάξεως του 1 έως 10 χιλιοστά του δευτερολέπτου. Το χρονικό διάστημα δt δηλαδή θα είναι νανοδευτερόλεπτα ή μικροδευτερόλεπτα μακριά από την πρώτη μέτρηση του μηχανήματος.

Αν συγκρίνουμε την ένταση του σήματος σε t χρόνο με τον εαυτό του θα έχουμε την τέλεια συσχέτιση (perfect correlation) καθώς τα σήματα είναι πανομοιότυπα. Η τέλεια συσχέτιση υποδηλώνεται ως 1 και η απολύτως καμία συσχέτιση ως 0. Συνεχίζοντας τις διαδοχικές μετρήσεις της συσχέτισης σε χρόνους $t+3\delta t$, $t+4\delta t$, $t+5\delta t$ κ.λπ. η συσχέτιση κάποια στιγμή θα φτάσει το 0.



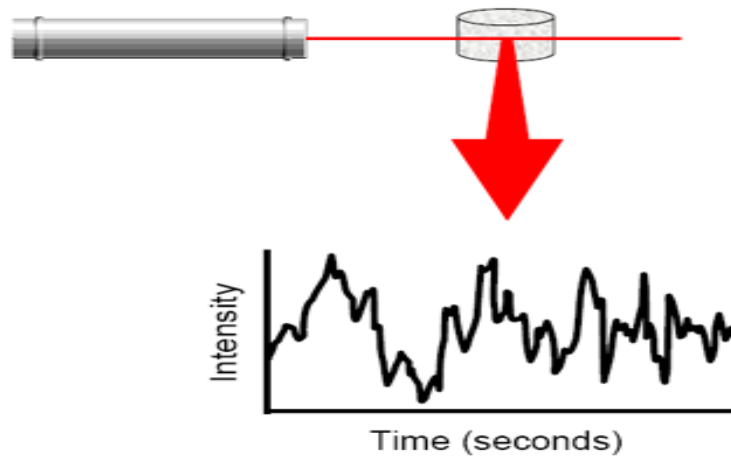
Εικόνα 10: Μια τυπική συσχέτιση σήματος και χρόνου.



Εικόνα 11: Σχηματική αναπαράσταση της λειτουργίας laser μέσα σε MLS σύστημα. Το φως από την πηγή (18) εισέρχεται και εξέρχεται μέσα από τα κελιά (2) και (4) αντίστοιχα. Τα (22) και (23) είναι ανιχνευτές μικρής γωνίας. Η μπροστινή σκέδαση ανιχνεύεται από τους ανιχνευτές στις θέσεις (24) με (29) καλύπτοντας μέχρι 90° μέσα στο μέσο διασποράς και μέχρι 140° σε αέρα. Η πίσω σκέδαση καλύπτει από 90° μέχρι και 180° στο μέσο διασποράς και ανιχνεύεται πάλι από τους ίδιους ανιχνευτές (24-29). (Χυ, 2014).

2.4 Βασική διαφορά των δυο μεθόδων

Στην δυναμική σκέδαση φωτός μετρούνται οι διακυμάνσεις της έντασης του σκεδαζόμενου σήματος σε συνάρτηση με το χρόνο. Οι διακυμάνσεις της έντασης εξαρτώνται από το μέγεθος - ταχύτητα των μορίων του διαλύματος.



Οι διακυμάνσεις της έντασης του σκεδαζόμενου σήματος προς τον χρόνο.

Με τη στατική σκέδαση μετράμε το μέσο όρο της έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας ενώ με τη δυναμική σκέδαση μετράμε την εξάρτηση της έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας με το χρόνο. Στη στατική σκέδαση φωτός ο χρόνος δειγματοληψίας είναι μεγαλύτερος σε σχέση με το χρόνο μεταβολής των διακυμάνσεων της συγκέντρωσης έτσι ώστε να μην παρατηρείται μεταβολή στη συχνότητα του σκεδαζόμενου φωτός (Liu et al, 2015).

2.5 Συσχέτιση και μέγεθος σωματιδίων / Η σκέδαση του φωτός ως εργαλείο για την μέτρηση μεγέθους σωματιδίων

Υπάρχει ισχυρή εξάρτηση του μεγέθους των σωματιδίων και της γωνίας σκέδασης του προσπίπτοντος φωτός. Για ένα αυστηρά μονοδισπαρμένο σύνολο σωματιδίων (σωματίδια με το ίδιο ακριβώς μέγεθος), το μέγεθος των σωματιδίων είναι αντίστροφα ανάλογο με το $\eta(\theta/2)$ όπου θ είναι η γωνία σκέδασης του φωτός.

Έτσι με δεδομένη τη γωνία σκέδασης και με γνωστούς τους δείκτες διάθλασης του μέσου διασποράς και των δισπαρμένων σωματιδίων, είναι δυνατός ο υπολογισμός των δισπαρμένων σωματιδίων. Για ένα πολυδισπαρμένο πληθυσμό σωματιδίων (σωματίδια που έχουν παραπλήσιο, όχι ακριβώς ίδιο μέγεθος μεταξύ τους) σωματίδια διαφορετικού μεγέθους παρουσιάζουν διαφορετικές γωνίες σκέδασης. Σε αυτήν την περίπτωση ορίζεται μια συνάρτηση κατανομής μεγεθών $p(a)$, της οποίας η ολοκλήρωση μεταξύ της ακτίνας a και Δa δίνει το κλάσμα των σωματιδίων μεταξύ a και Δa , ενώ το ολοκλήρωμα σε όλο το πεδίο ορισμού του a είναι μονάδα.

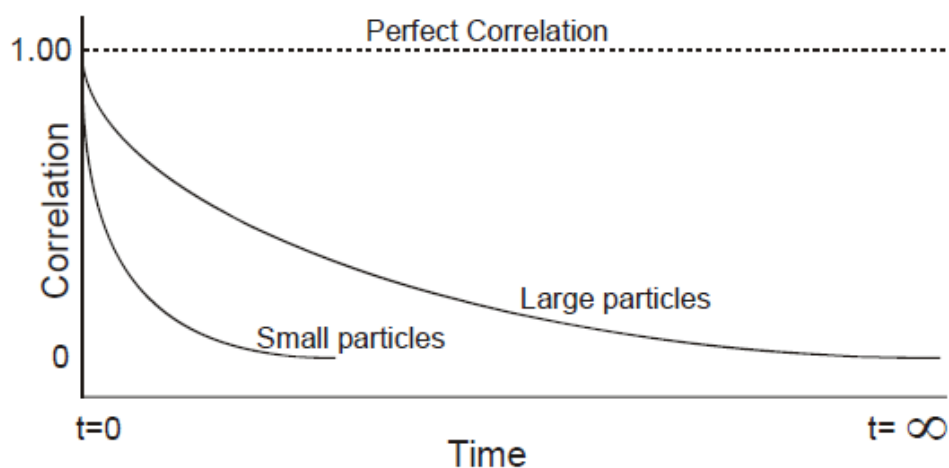
$$p(a) = \int_a^{a+\Delta a} p(a) da$$

Σύμφωνα με τα παραπάνω, σε πολυδισπαρμένα συστήματα, μετρήσεις της σκέδασης του φωτός σε διαφορετικές γωνίες πρέπει να δίνουν πληροφορίες για την κατανομή των μεγεθών των σωματιδίων που απαρτίζουν ένα κολλοειδές σύστημα.

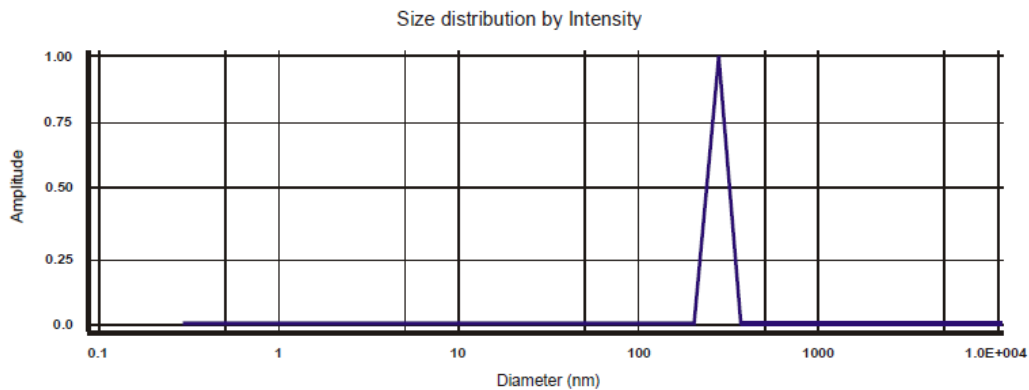
Όπως αναφέρθηκε η ταχύτητα των σωματιδίων που κινούνται βάσει Brown σχετίζεται με το μέγεθος των σωματιδίων (εξίσωση Stokes-Einstein). Τα μεγάλα σωματίδια κινούνται αργά ενώ τα μικρότερα σωματίδια κινούνται γρήγορα. Αυτό στην πράξη σημαίνει ότι όταν μετρούνται μεγάλα σωματίδια θα κινούνται αργά μέσα στο χώρο σε διαδοχικές μετρήσεις της έντασης, έτσι και η απεικόνιση της έντασης θα κυμανθεί επίσης αργά (slow fluctuation). Αντίστοιχα

,όταν μετρούνται μικρά σωματίδια που κινούνται γρήγορα μέσα σε διαδοχικές μετρήσεις, η τελική απεικόνιση των εντάσεων των σωμάτων που δίνουν θα αλλάξει επίσης γρήγορα (quick fluctuation).

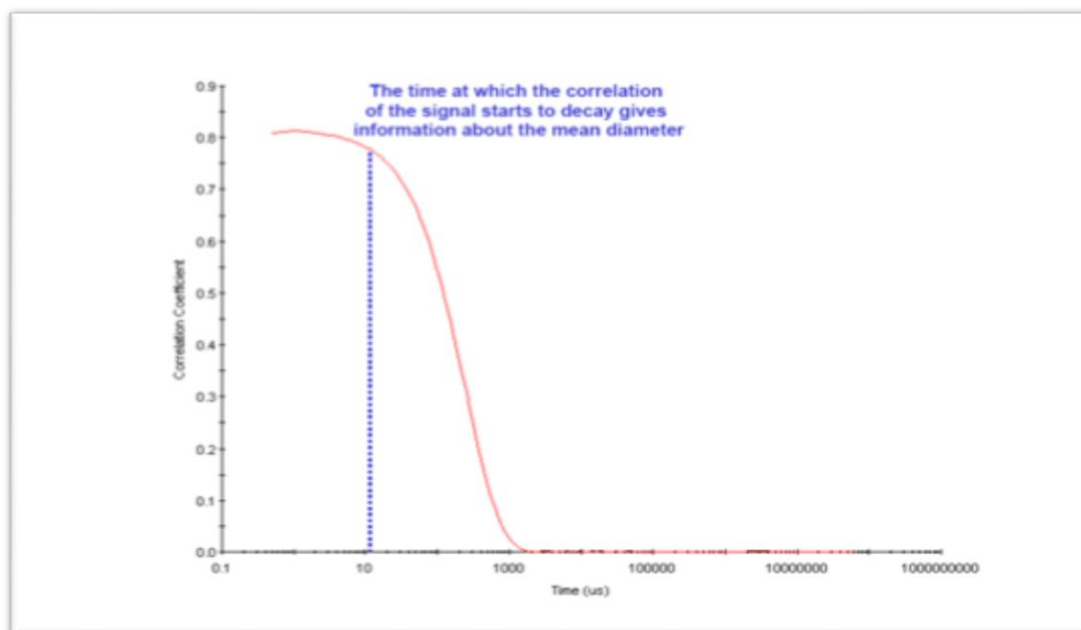
Ο ρυθμός φθοράς (δηλαδή τείνει 0) της συνάρτησης συσχέτισης, εξαρτάται από το μέγεθος των σωματιδίων καθώς η φθορά έρχεται πολύ πιο γρήγορα στα μικρά σωματίδια από ότι στα μεγάλα . Πρακτικά αυτό σημαίνει ότι τα μικρά σωματίδια εμφανίζουν πολύ πιο γρήγορα διαφορές στην ένταση (δηλαδή στην τοποθεσία που βρίσκονται εκείνη την στιγμή λόγω της κίνησης τους) σε σχέση με την αρχική μέτρηση, ενώ τα μεγάλα σωματίδια όχι τόσο γρήγορα.



Με αυτό τον τρόπο μπορούμε να μετρήσουμε την κατανομή μεγέθους στο δείγμα, με ειδικούς αλγόριθμους που διαθέτει το μηχάνημα.



Εικόνα 12: Ο άξονας x δείχνει την κατανομή μεγέθους, ενώ ο y την σχετική ένταση του σκεδαζόμενου φωτός. Αυτό αποκαλείται **κατανομή έντασης (intensity distribution)**,



Εικόνα 13: Ο χρόνος στον οποίο αρχίζει η πτώση της καμπύλης σήματος μας δίνει πληροφορίες σχετικά με την διάμετρο των σωματιδίων.

Σε μικρούς χρόνους ο συντελεστής συσχέτισης έχει μεγάλες τιμές εξαιτίας του γεγονότος ότι τα σωματίδια δεν έχουν την δυνατότητα να μετακινηθούν αρκετά από την αρχική τους θέση.

Η γωνία που σχηματίζεται ανάμεσα στην μπλε γραμμή και την καμπύλη λέγεται γωνία φθοράς και μας δίνει πληροφορίες σχετικά με την πολυδιασπασιμότητα της κατανομής, ενώ ο άξονας x μας πληροφορεί για την ύπαρξη μεγάλων σωματιδίων.

2.6 Πλεονεκτήματα χρήσης της μεθόδου για τον προσδιορισμό του μεγέθους σωματιδίων.

Η σκέδαση του φωτός, ως μέθοδος προσδιορισμού του μεγέθους σωματιδίων, δίνει τα παρακάτω πλεονεκτήματα:

- Η μέθοδος αυτή είναι απόλυτη. Γι' αυτό το λόγο δεν είναι απαραίτητο να βαθμονομούμε ένα όργανο.
- Μεγάλο δυναμικό εύρος. Ο καλύτερος εξοπλισμός σκέδασης φωτός επιτρέπει στον χρήστη να μετρήσει ένα εύρος από 0,1 ως 2000 μικρά. Μικρότερα δείγματα (1nm - 1 μm) μπορούν να μετρηθούν με την τεχνική φασματοσκοπίας συσχέτισης φωτονίου αφού το υλικό είναι σε αιώρηση και δεν δημιουργεί ίζημα.
- Ευκολία. Για παράδειγμα, είναι δυνατόν να μετρήσεις το σήμα εξόδου από ένα ακροφύσιο ψεκασμού.
- Οι ξηρές σκόνες μπορούν να μετρηθούν κατευθείαν, αν και αυτό μπορεί να οδηγήσει σε μια πιο φτωχή διασπορά σε σχέση με το αν χρησιμοποιούσαμε ένα υγρό μέσο διασποράς.
- Υγρές διασπορές και γαλακτώματα μπορούν να μετρηθούν σε ένα κελί επανακυκλοφορίας και αυτό δίνει υψηλή παραγωγικότητα και επίσης επιτρέπει στο μέσο διασποράς (π.χ. 0,1 % μαλακό νερό) και στα απολυμαντικά να εργαστούν ώστε να εξακριβώσουν το βασικό μέγεθος σωματιδίου.

- Όλο το δείγμα μετρείται. Αν και η ποσότητα του δείγματος είναι μικρή (4-10g για ξηρά υλικά και σκόνες, 1-2g για αιωρήματα) και πρέπει να διατίθεται ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα, όλο το δείγμα περνά μπροστά από την ακτίνα φωτός και η σκέδαση συμβαίνει σε όλα τα σωματίδια.
- Προκύπτει μια κατανομή του όγκου, η οποία είναι ισοδύναμη με την κατανομή του βάρους αν η πυκνότητα είναι σταθερή.
- Η μέθοδος είναι πολύ γρήγορη δεδομένου ότι δίνει αποτέλεσμα σε λιγότερο από ένα λεπτό. Αυτό κάνει τις επαναληπτικές μετρήσεις μια πολύ εύκολη διαδικασία.
 - Είναι υψηλής επαναληψιμότητας τεχνική.
 - Είναι υψηλής ανάλυσης
 - Μικρή διάρκεια πειράματος
 - Αυτοματοποιημένη μέθοδος (Παπαδοπούλου και Πανακίδης, 2009), (Liu et al, 2015).

Κεφάλαιο 3ο ΜΟΝΟΦΑΣΙΚΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΠΕΔΙΟΥ

3.1 Γενικές Αρχές της Μονοφασικής Χρωματογραφίας Πεδίου

Μονοφασική Χρωματογραφία Πεδίου (ΜΧΠ) ή αλλιώς χρωματογραφία μιας φάσης ή και χρωματογραφία πόλωσης χαρακτηρίζεται η χρωματογραφία όπου ο διαχωρισμός γίνεται σε έναν αγωγό ρευστού που περιέχει μόνο μία φάση, σχεδόν αποκλειστικά μια υγρή φάση, αν και η χρήση μιας αέριας φάσης έχει εφαρμοστεί με επιτυχία αλλά αρκετά περιορισμένα (Giddings, 1976).

Μία σταθερή ροή αυτής της υγρής φάσης επιτρέπει τη μεταφορά των συστατικών του δείγματος κατά μήκος της στήλης διαχωρισμού. Όλες οι επιμέρους τεχνικές της ΜΧΠ χαρακτηρίζονται από το γεγονός ότι μία δύναμη εφαρμόζεται στα μόρια ή τα σωματίδια των συστατικών του δείγματος σε κατεύθυνση κάθετη ως προς τη διεύθυνση κίνησης της ροής. Η ΜΧΠ ανακαλύφθηκε το 1966 από τον J.C.Giddings και θεωρείται κυρίως μια μέθοδος διαχωρισμού και χαρακτηρισμού σωματιδίων και μακρομορίων. Εφαρμόζεται σε πολικά και μη πολικά μόρια, σε φορτισμένα και μη φορτισμένα χημικά είδη, σε βιολογικά, συνθετικά και ανόργανα υλικά και μας δίνει την δυνατότητα χρησιμοποίησης υδατικών αλλά και μη υδατικών διαλυτών. Ο διαχωρισμός των ουσιών γίνεται με βάση το μοριακό βάρος, το μέγεθος, το συντελεστή διάχυσης και το ηλεκτρικό τους φορτίο. Ένα πολύ σημαντικό χαρακτηριστικό της Μονοφασικής Χρωματογραφίας είναι ότι ταυτόχρονα με τον διαχωρισμό ουσιών που βρίσκονται σε ένα μείγμα παρέχει την δυνατότητα υπολογισμού βασικών παραμέτρων αυτών των ουσιών όπως το μοριακό τους βάρος, την διάμετρο Stokes, τον συντελεστή διάχυσης, την πυκνότητα και την διασπορά του μεγέθους των σωματιδίων της αναλυόμενης ουσίας. Η περιοχή εφαρμογής κυμαίνεται μεταξύ 10^3 και 10^{10} μονάδες μοριακού βάρους (gr/mol) ή όσον αφορά τη διάμετρο των σωματιδίων μεταξύ 10^{-3} μέχρι $100\mu\text{m}$, γεγονός που

καθιστά τη μεθοδολογία αυτή εφαρμόσιμη σε πολλούς τομείς (J.R.Runyon *et al*, 2013), (Κ. Πολίτη, 2012).

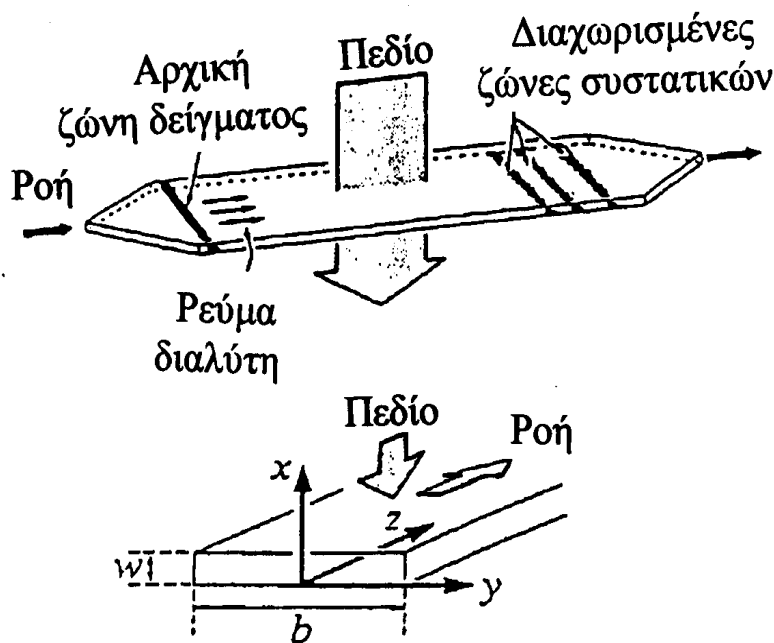
Αν και η επίτευξη ενός διαχωρισμού με τη ΜΧΠ μπορεί να προκληθεί με διάφορες μεθόδους, η μέθοδος της ανάπτυξης ζωνών έκλουσης είναι η πιο ευρέως εφαρμοζόμενη. Μία μικρή ποσότητα δείγματος εισάγεται στην είσοδο της χρωματογραφικής στήλης, διάφορες ζώνες ανάλυσης αναπτύσσονται εντός της στήλης καθώς τα διάφορα συστατικά μεταφέρονται με διαφορετικό τρόπο από τη ροή του φέροντος διαλύτη και διαφορετικοί χρόνοι έκλουσης αυτών των ζωνών παρατηρούνται από έναν κατάλληλο ανιχνευτή συνδεδεμένο στην έξοδο της στήλης. Το χρωματογράφημα, που είναι η απεικόνιση του σήματος του ανιχνευτή έναντι του χρόνου από την είσοδο του δείγματος στη στήλη, μας δείχνει το τελικό αποτέλεσμα της ανάλυσης μας.

Όπως αναφέρθηκε, η λειτουργία της ΜΧΠ χαρακτηρίζεται από την εφαρμογή ενός πεδίου κάθετα στη κατεύθυνση ροής του φέροντος διαλύτη στη στήλη διαχωρισμού. Αυτό το πεδίο προκαλεί μία διασπορά των σωματιδίων του δείγματος κατά μήκος της διατομής της στήλης η οποία είναι θεμελιώδης για την επίτευξη του διαχωρισμού. Υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί αλληλεπίδρασης του πεδίου με τα σωματίδια του δείγματος που ρέουν σε έναν κλειστό αγωγό, οι οποίοι μπορεί να χρησιμεύουν για να δώσουν μία περισσότερο ή λιγότερο χαρακτηριστική μορφή εγκάρσιας διασποράς των σωματιδίων του δείγματος. Κάθε μηχανισμός οδηγεί σε έναν συγκεκριμένο τρόπο λειτουργίας. Οι εξισώσεις συγκράτησης είναι συγκεκριμένες για κάθε περίπτωση και η ερμηνεία των δεδομένων για το χαρακτηρισμό του δείγματος διαφέρει στις διάφορες επιμέρους τεχνικές. Σε μερικές περιπτώσεις, ο τρόπος λειτουργίας είναι γνωστός διότι οι πειραματικές συνθήκες λειτουργίας σκοπίμως καθορίστηκαν για να εισάγουν έναν συγκεκριμένο μηχανισμό διαχωρισμού (Messaud *et al*, 2009).

Εντούτοις, υπό άλλες συνθήκες, πιθανόν δύο ή περισσότεροι μηχανισμοί να δρουν ταυτόχρονα, γεγονός που καθιστά ιδιαίτερα δύσκολη την ερμηνεία της διαδικασίας μεταφοράς του δείγματος. Παρ' όλα αυτά, υπάρχει γενικά ένα κυρίαρχο μοντέλο λειτουργίας το οποίο καθορίζει τη γενική μορφή της

εγκάρσια διασποράς των σωματιδίων του δείγματος. Φυσικά, στην πράξη, όταν το αποτέλεσμα του διαχωρισμού με την ΜΧΠ καταγράφεται μέσω του χρωματογραφήματος, δεν μπορούμε να έχουμε απευθείας πρόσβαση στην πραγματική εγκάρσια διασπορά κατά τη διάρκεια της ανάλυσης, και κατά συνέπεια καμία απευθείας πρόσβαση στο κυρίαρχο μοντέλο.

Καθώς η ΜΧΠ εφαρμόζεται κυρίως σε μακρομόρια και κολλοειδή υλικά, για τα οποία η επίδραση στη διάχυση της κίνησης Brown είναι σχετικά σημαντική, σε σύγκριση με μεγαλύτερα σωματίδια, το μοντέλο Brown είναι το πιο συχνά συναντούμενο μοντέλο λειτουργίας. Κυρίως χαρακτηρίζεται από μία σταθερή μείωση της συγκέντρωσης του δείγματος με την αύξηση της απόστασης από το ένα τοίχωμα (Messaud et al, 2009).

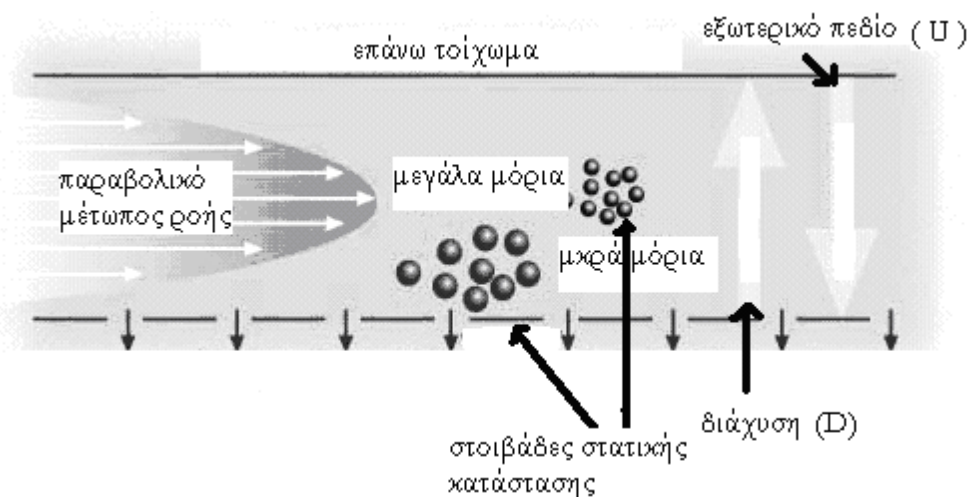


Εικόνα 14: Σχηματική παράσταση της στήλης της ΜΧΠ και αντίστοιχο σύστημα συντεταγμένων.

3.2 Βασικές αρχές λειτουργίας της Μονοφασικής χρωματογραφίας πεδίου

Στη ΜΧΠ ο διαχωρισμός δεν γίνεται με βάση τη διαφορετική κατανομή των ουσιών του μείγματος μεταξύ κινητής και στατικής φάσης όπως συμβαίνει στις κλασσικές χρωματογραφικές μεθόδους αλλά όπως είπαμε ο διαχωρισμός γίνεται με την εφαρμογή ενός εξωτερικού πεδίου, κάθετου προς τη ροή κίνησης του διαλύτη και το οποίο αναγκάζει τα σωματίδια του μείγματος να κινούνται με διαφορετικές ταχύτητες.

Καθώς το μείγμα μπαίνει στη στήλη πάνω σε κάθε σωματίδιο επενεργούν δυο δυνάμεις, η μια είναι του εφαρμοζόμενου πεδίου η οποία ωθεί τα σωματίδια προς το τοίχωμα της στήλης, ενώ η δεύτερη είναι η διάχυση η οποία έχει αντίθετη κατεύθυνση από την πρώτη και απωθεί τα σωματίδια από τα τοιχώματα της στήλης. Σε μια συγκεκριμένη απόσταση από το τοίχωμα της στήλης οι δυο αυτές δυνάμεις ισορροπούν με αποτέλεσμα να δημιουργείται μια λεπτή στοιβάδα από μόρια της ουσίας η οποία ονομάζεται στοιβάδα στατικής κατάστασης (Messaud et al, 2009).



Εικόνα 15. Σχηματική αναπαράσταση του τρόπου διαχωρισμού των ουσιών εντός μιας χρωματογραφικής στήλης.

Η κατανομή των μορίων στις στοιβάδες στατικής κατάστασης είναι εκθετική και εκφράζεται ως εξής:

$$c = c_0 e^{-\frac{x}{L}}$$

όπου c : η συγκέντρωση της ουσίας σε απόσταση x από το τοίχωμα της στήλης στο οποίο έχει δημιουργηθεί η στοιβάδα

c_0 : η συγκέντρωση της ουσίας σε $x = 0$ (δηλαδή επάνω στο τοίχωμα)

L : είναι κατά προσέγγιση το μέσο πάχος της στοιβάδας της στατικής κατάστασης.

Το πάχος της στοιβάδας εξαρτάται από την ισχύ αλληλεπίδρασης της ουσίας με το εφαρμοζόμενο πεδίο U και από το συντελεστή διάχυσης D της ουσίας του διαλύτη. Η βασική σχέση που συνδέει τα τρία αυτά μεγέθη είναι:

$$L = D / U$$

Η βασική παράμετρος της ΜΧΠ είναι το λ το οποίο ελέγχει τόσο τη συγκράτηση όσο και τη διεύρυνση των κορυφών έκλυσης και ορίζεται ως ο λόγος του πάχους της στοιβάδας στατικής κατάστασης προς το πάχος της στήλης που συμβολίζεται με w (Messaud *et al*, 2009).

$$\left. \begin{array}{l} \lambda = \frac{l}{w} \\ l = \frac{D}{U} \end{array} \right\} \Rightarrow \lambda = \frac{D}{U w}$$

3.3 Αποκλίσεις από την κλασική θεωρία συγκράτησης στην ΜΧΠ

3.3.1 Δυνάμεις ανύψωσης

Οι δυνάμεις ανύψωσης οφείλονται στις πολύπλοκες υδροδυναμικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του υγρού, των σωματιδίων και των τοιχωμάτων της στήλης και δρουν στα σωματίδια του δείγματος επιπρόσθετα στη δύναμη του πεδίου. Δεν υπάρχει κανένας τρόπος να αποφευχθούν αυτές οι δυνάμεις, καθώς αποτελούν έμφυτα χαρακτηριστικά της ροής του διαλύτη. Αυτές οι δυνάμεις δεν έχουν ακόμα χαρακτηριστεί ικανοποιητικά. Καθίσταται, λοιπόν, δύσκολο, αν όχι αδύνατο, να εξάγουμε γι' αυτές έναν τρόπο επεξεργασίας δεδομένων για το χαρακτηρισμό των σωματιδίων. Καθώς αυτές οι δυνάμεις γενικώς αυξάνουν ραγδαία με την αύξηση της ροής και ειδικά με την αύξηση του μεγέθους των σωματιδίων, η επίδρασή τους στη συγκράτηση των σωματιδίων γίνεται γενικά αμελητέα για σχετικά μικρά σωματίδια διαμέτρου μικρότερης από 1μm που εκκλύονται σε σχετικά χαμηλές ή μέτριες ροές. Παρ' όλα αυτά, όταν εκτελούνται γρήγοροι διαχωρισμοί σωματιδίων διαμέτρου της τάξης του 1μm, υπάρχει ισχυρή πιθανότητα επίδρασης αυτών των δυνάμεων ανύψωσης στη συγκράτηση των σωματιδίων. Για ακόμα μεγαλύτερα σωματίδια, αυτές οι δυνάμεις γίνονται καθοριστικές ως προς τον τρόπο κίνησης των σωματιδίων στο εσωτερικό της στήλης κατά τέτοιο τρόπο ώστε η διαδικασία συγκράτησης είναι εντελώς διαφορετική από αυτή που ισχύει στην κανονική κατάσταση λειτουργίας. Στην περίπτωση αυτή, τα σωματίδια μεγαλύτερου μεγέθους εξέρχονται πρώτα της στήλης της ΜΧΠ.

3.3.2 Ολίσθηση σωματιδίου

Όλες οι εξισώσεις για τη συγκράτηση ή τη διασπορά που έχουν διατυπωθεί βιβλιογραφικά ακολουθούν την υπόθεση ότι δεν υπάρχει καμία διολίσθηση των σωματιδίων. Θεωρούμε, δηλαδή, ότι η ταχύτητα του σωματιδίου είναι ίση με την αδιατάραχτη ταχύτητα του διαλύτη στη θέση του κέντρου βάρους του σωματιδίου οπουδήποτε κι αν αυτή βρίσκεται. Αν a το αποτελεσματικό μέγεθος ενός σωματιδίου, η υπόθεση αποκτά αυξανόμενη ισχύ καθώς το a μειώνεται. Αυτό δικαιολογεί την παραμέληση αυτού του φαινομένου στις περιπτώσεις όπου τα σωματίδια του δείγματος έχουν μικρό αποτελεσματικό μέγεθος. Πολλές προσπάθειες επίλυσης του συγκεκριμένου προβλήματος έχουν γίνει. Ωστόσο, καμία δεν μπορεί να αποτελέσει μία γενική μορφή που να καλύπτει όλες τις περιπτώσεις. Έτσι, έχουν δοθεί λύσεις είτε για αποστάσεις σχετικά μακριά από τα τοιχώματα της στήλης ή υποθέτοντας μία απλή ροή διάτμησης. Παρ' όλα αυτά, η ταχύτητα ώθησης σωματιδίων διαμέτρου μεγαλύτερης από $1\mu\text{m}$ σε κατεύθυνση κάθετη στο τοίχωμα λόγω της επίδρασης αυτής της αδράνειας είναι αρκετά σημαντική για να ελέγξει τον τρόπο συγκράτησης αυτών των σωματιδίων.

3.3.3 Δυνάμεις Van der Waals

Οι διάφοροι τύποι αλληλεπιδράσεων οι οποίοι, σε μοριακό επίπεδο, οδηγούν σε έλξη ανάμεσα σε μόρια και είναι υπεύθυνοι για τη συνοχή των συμπυκνωμένων φάσεων, αποτελούν μία πηγή αλληλεπιδράσεων μεταξύ μακροσκοπικών σωμάτων και είναι μεγάλου ενδιαφέροντος για τη συμπεριφορά των μακρομορίων στη ΜΧΠ. Αν και είναι ουσιαστικά ηλεκτρικής προέλευσης, αυτές οι αλληλεπιδράσεις εμφανίζονται μεταξύ αφόρτιστων μορίων καθώς τα μόρια είναι πολωμένα και ίσως κατέχουν θέσεις μόνιμων διπόλων. Αυτές οι δυνάμεις συνοχής γενικά καλούνται αλληλεπιδράσεις Van der Waals και

περιλαμβάνουν κυρίως αλληλεπιδράσεις μεταξύ δύο μόνιμων διπόλων (δυνάμεις Keesom) και μεταξύ δύο επαγόμενων διπόλων (δυνάμεις London ή διασποράς).

Για όλες αυτές τις δυνάμεις, η δυναμική ενέργεια αλληλεπίδρασης μειώνεται πολύ γρήγορα με την απόσταση μεταξύ των μορίων. Το άθροισμα όλων των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των ανεξάρτητων μορίων που είναι μέρη δύο μακροσκοπικών σωμάτων αυξάνει την ολική δύναμη μεταξύ αυτών των σωμάτων, η οποία ονομάζεται δύναμη Van der Waals, και η οποία έχει πολύ μεγαλύτερη ακτίνα δράσης από τις ενδομοριακές δυνάμεις. Στη ΜΧΠ, αυτή η δύναμη αναπτύσσεται μεταξύ του τοιχώματος συσσώρευσης και των σωματιδίων του δείγματος (Buffham, 1996).

3.3.4 Ηλεκτροστατικές δυνάμεις

Όταν ένα σώμα εμβαπτίζεται σε ένα ηλεκτρολυτικό διάλυμα, η επιφάνειά του γίνεται αυθόρμητα φορτισμένη για διάφορους λόγους, όπως π.χ. ιοντισμός επιφανειακών ομάδων, επιλεκτική προσρόφηση συγκεκριμένων ιόντων ή ακόμα, επαναπροσανατολισμός διπόλων στην περιοχή της διεπιφάνειας. Η φορτισμένη διεπιφάνεια προσελκύει επιλεκτικά ιόντα αντίθετου φορτίου που οδηγεί στο σχηματισμό μιας ηλεκτρικής διπλοστοιβάδας στην περιοχή της διεπιφάνειας. Όταν δύο στερεά σώματα είναι σχετικά κοντά το ένα στο άλλο, υπάρχει μία διπλοστοιβάδα γύρω από κάθε σώμα και αυτές οι διπλοστοιβάδες ίσως αλληλεπιδρούν για να δώσουν ένα δίκτυο δυνάμεων αλληλεπιδράσεων μεταξύ αυτών των σωμάτων.

Στη ΜΧΠ, αυτό που ενδιαφέρει είναι οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στο τοίχωμα συσσώρευσης της στήλης και τα σωματίδια του δείγματος (σ' αυτή την περίπτωση τα σωματίδια αντιμετωπίζονται με την κλασική έννοια των σωμάτων που διατηρούν μία επιφάνεια διεπαφής με το φέροντα διαλύτη). Ίσως υπάρχουν και ηλεκτροστατικές δυνάμεις (καθώς και δυνάμεις Van der Waals) μεταξύ των σωματιδίων του δείγματος, αλλά η επίδρασή τους αυξάνει

με τη συγκέντρωση του δείγματος και εκμηδενίζεται σε αραιωμένα αιωρήματα. (Messaud *et al*, 2009), (Jussila *et al*, 1997).

3.3.5 Επίδραση του ιξώδους στο μέτωπο ροής του διαλύτη

Η κλασική εξίσωση συγκράτησης βασίζεται στην υπόθεση ότι η εγκάρσια συγκέντρωση του δείγματος είναι εκθετική και ότι το μέτωπο της ροής είναι παραβολικό δύο διαστάσεων. Η τελευταία συνθήκη προϋποθέτει ότι το ιξώδες του διαλύτη είναι σταθερό κατά μήκος του πάχους της στήλης. Εντούτοις, σε μερικές περιπτώσεις το ιξώδες του διαλύτη δεν είναι σταθερό αλλά μεταβάλλεται εντός της στήλης. Αυτό συμβαίνει όταν η θερμοκρασία δεν είναι ομοιόμορφη ή όταν ο φέρον διαλύτης είναι ένα μη ομογενοποιημένο πολυσυστατικό ή πολυφασικό σύστημα. Τότε, το μέτωπο της ροής δεν είναι πια παραβολικό και οι εκφράσεις για το λόγο συγκράτησης και την υδροδυναμική διασπορά διαφέρουν από εκείνες του κλασικού μοντέλου συγκράτησης (Kang *et al*, 2011).

3.3.6 Επίδραση των τοιχωμάτων στο μέτωπο ροής του διαλύτη

Στην πράξη, η στήλη της μονοφασικής χρωματογραφίας πεδίου δεν μπορεί να αποτελείται από παράλληλες πλάκες απεριόριστου μεγέθους, αλλά έχει μικρά πλευρικά τοιχώματα που συνεισφέρουν στην ανάπτυξη τριβής ιξώδους στο ρευστό.

3.3.7 Χρόνος εξισορρόπησης του δείγματος

Κατά την περίοδο της εξισορρόπησης του δείγματος αμέσως μετά την είσοδό του στη στήλη, η συγκέντρωση κατά μήκος του πάχους της στήλης

εξαρτάται από την απόσταση από το τοίχωμα συσσώρευσης και το χρόνο από την είσοδο του δείγματος στη στήλη της ΜΧΠ και δίνεται από τη σχέση

$$\frac{\partial c}{\partial t} = -U_f \frac{\partial c}{\partial x} + D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2}$$

Η επίλυση αυτής της εξίσωσης οδηγεί στο χαρακτηριστικό χρόνο έκλουσης:

$$t_c = \frac{w^2}{D \left(\pi^2 + \frac{1}{4} \lambda^2 \right)}$$

3.3.8 Αλληλεπιδράσεις σωματιδίων – Φαινόμενο υπερκορεσμού

Όταν η συγκέντρωση του δείγματος είναι σχετικά μεγάλη, το κλασικό μοντέλο συγκράτησης δεν μπορεί να εφαρμοστεί λόγω αλληλεπιδράσεων μεταξύ γειτονικών σωματιδίων που οδηγούν σε ανατροπή της εκθετικής κατανομής της συγκέντρωσης κατά μήκος του πάχους της στήλης της ΜΧΠ. Ακόμη κι αν η μέση συγκέντρωση του δείγματος δεν είναι μεγάλη, η τοπική συγκέντρωση μπορεί να γίνει ιδιαίτερα μεγάλη κοντά στο τοίχωμα συσσώρευσης.

Η επίδραση του φαινομένου των αλληλεπιδράσεων των σωματιδίων είναι να απωθεί το μέσο πάχος της στοιβάδας του σωματιδίου σε μεγαλύτερες αποστάσεις από το τοίχωμα συσσώρευσης και έτσι σε ρεύματα διαλύτη υψηλότερης ταχύτητας. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του λόγου συγκράτησης για αιωρήματα μεγάλης συγκέντρωσης από ότι για αραιά αιωρήματα. Εντούτοις, επειδή το ιξώδες ενός αιωρήματος εξαρτάται από το κλάσμα όγκου αυτού, η κλασμάτωση του δείγματος εντός της στήλης οδηγεί στην ανάπτυξη μιας κλασμάτωσης του ιξώδους, η οποία με τη σειρά της προκαλεί διαταραχή του παραβολικού μετώπου της ροής του φέροντος διαλύτη. Καθώς το ιξώδες ενός αιωρήματος αυξάνει με την αύξηση της συγκέντρωσης, η σχετική ταχύτητα μειώνεται στην περιοχή όπου η συγκέντρωση του δείγματος

γίνεται μέγιστη κοντά στο τοίχωμα συσσώρευσης. Αυτή η επίδραση των αλληλεπιδράσεων των σωματιδίων στο ιξώδες, προκαλεί μείωση του λόγου συγκράτησης για αιωρήματα μεγάλης συγκέντρωσης. Οι δύο επιδράσεις, στο μέσο πάχος και στο ιξώδες, των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των σωματιδίων δρουν συμπληρωματικά στον καθορισμό του λόγου συγκράτησης (Messaud *et al*, 2009).

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι το κλάσμα όγκου κατά μήκος της εγκάρσιας διατομής της στήλης στη διάρκεια μιας πειραματικής ανάλυσης με μονοφασική χρωματογραφία σε συνθήκες υπερκορεσμού, δεν παραμένει σταθερό κατά μήκος της στήλης, αλλά μειώνεται λόγω της διαδικασίας της αξονικής διασποράς κατά την κίνηση της ζώνης έκλουσης κατά μήκος της στήλης (Shiowatana *et al*, 2006), (Buffham, 1996).

3.4 Είδη και διαφορετικές τεχνικές της μονοφασικής χρωματογραφίας πεδίου

Όπως έχει προαναφερθεί ο διαχωρισμός στη μονοφασική χρωματογραφία βασίζεται στην εφαρμογή ενός εξωτερικού πεδίου, το οποίο αλληλοεπιδρά με τη διαλυμένη ουσία έτσι ώστε να σχηματιστεί η στοιβάδα της στατικής κατάστασης. Ανάλογα με το πεδίο που εφαρμόζουμε σε κάθε τεχνική έχουμε και μια διαφορετική κατηγορία χρωματογραφίας. Μέχρι σήμερα έχουν χρησιμοποιηθεί πολλά είδη πεδίων όπως φυγοκεντρικά ή βαρύτητας, κάθετης ροής, θερμικά και ηλεκτρικά. Οι αντίστοιχες υποκατηγορίες χρωματογραφίας είναι η μονοφασική χρωματογραφία φυγοκεντρικού πεδίου, η μονοφασική χρωματογραφία διασταυρούμενου πεδίου ροής, η ασύμμετρου πεδίου ροής, η μονοφασική χρωματογραφία ηλεκτρικού πεδίου και η μονοφασική χρωματογραφία θερμικού πεδίου και άλλες λιγότερο γνωστές υποτεχνικές.

3.4.1 Ασύμμετρη μονοφασική χρωματογραφία πεδίου

Η ασύμμετρη μονοφασική χρωματογραφία πεδίου ή αλλιώς Asymmetrical field flow fractionation (AF4) είναι η τεχνική που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία για τη μελέτη του μεγέθους και τη διασπορά κολλοειδών σωματιδίων του γάλακτος. Η AF4 είναι ικανή να διαχωρίζει σωματίδια μεγέθους 2nm-50μm και μακρομόρια (10^3 - 10^{10} g/mol) έχει δηλαδή ευρύ φάσμα εφαρμογής δίνοντας την δυνατότητα χαρακτηρισμού και μελέτης μια κολλοειδούς διασποράς. Έχει πολλές ομοιότητες με την κλασική χρωματογραφία αλλά μια βασική διαφορά ότι αντί για μια ενιαία στήλη χρησιμοποιεί ένα κανάλι διαχωρισμού στο οποίο υπάρχουν σχετικά χαμηλές πιέσεις, χαμηλή διάτμηση και απαλή επεξεργασία του δείγματος κατά την διάρκεια της κλασματοποίησης (Runyon *et al*, 2014).

Η ασύμμετρη χρωματογραφία πεδίου επιτρέπει την κλασματοποίηση από πολύ μεγάλα σωματίδια και υλικά μέχρι και πολύ μικρά σωματίδια (μικρόμετρα),

συνδυάζοντας τη διαχωριστική ικανότητα της επίπεδης ροής και τη συγκεντρωτική ικανότητα της κάθετης ροής. Αυτή η τεχνική είναι βασισμένη σε ένα απαλό για τα μόρια διαχωριστικό μηχανισμό, ο οποίος είναι θεωρητικά ικανός να διατηρεί την αρχική δομή των πρωτεϊνών ανέπαφη (Kang *et al*, 2011).

Εν συντομία ο πυθμένας της AF4 αποτελείται από μια υπερδιηθητική μεμβράνη με ένα μηχανισμό που επιτρέπει ένα μέρος του υγρού φορέα να εισέρχεται στο κανάλι εσόδου και να βγαίνει μέσα από τον τοίχο συσσώρευσης (accumulation wall). Αυτή είναι η λεγόμενη κάθετη ροή ή αλλιώς cross flow, που μας βοηθάει στο να συγκεντρώνουμε τα σωματίδια σε ένα μέρος της στήλης. Το «πεδίο» που προκύπτει συσσωρεύει τα συστατικά του δείγματος προ το τοίχωμα. Το πεδίο που προκαλείται από τις μετακινήσεις αυτές με τη σειρά του αντισταθμίζεται από την κίνηση Brown (Runyon *et al*, 2014), (Guyomarch *et al*, 2010).

Η κάθετη ροή έρχεται σε σύγκρουση με τη διάχυση των εναποθέτων διαλυτών εμποδίζοντας την υπερβολική διασπορά κατά τον χρόνο παραμονής τους. Εξαιτίας της περιορισμένης διάτμησης που εφαρμόζεται σε αυτά, η απουσία στατικής φάσης και το πολύ μεγάλο εύρος διαχωρισμού του κάνουν την FFF ικανή να προσαρμοστεί στο διαχωρισμό μακρομορίων, μοριακών συμπλόκων και σωματιδίων σε μια μόνο μέτρηση. Σε σύγκριση με άλλες μεθόδους της μονοφασικής χρωματογραφίας όπως η θερμική και η καθιζηματική μονοφασική χρωματογραφία, η ασύμμετρη είναι πιο αποτελεσματική και διαδεδομένη με μεγαλύτερο εύρος εφαρμογών. Πολλές φορές έχει επιτυχημένα χρησιμοποιηθεί η AF4 για τη μελέτη της κατανομής μεγεθών διαφόρων συστατικών των γαλακτοκομικών προϊόντων όπως σφαιρίδια λίπους, μικκύλια καζεΐνης, πρωτεΐνες και βακτήρια. Παρόλαυτα όμως δεν είχε αναπτυχθεί κάποια μέθοδος διαχωρισμού όλων αυτών των συστατικών μέχρι την πρόσφατη εφαρμογή (το 2010) της AFIFFF στην απομόνωση καζεϊνικών μικκυλίων με σκοπό το χαρακτηρισμό της δομής τους (Guyomarch *et al*, 2010), (Buffham, 1996).

Τα μακρομόρια συχνά εμφανίζουν εκτεταμένη διασπορά και την τάση να σχηματίζουν συσσωματώματα. Έτσι η κλασματοποίηση του μεγέθους και ο χαρακτηρισμός των σωματιδίων είναι απαραίτητος. Η AF4 μπορεί να κλασματοποιήσει και να χαρακτηρίσει μακρομόρια και κολλοειδή σε ευρύ φάσμα μεγεθών. (Nilsson, 2013)

Συνδυάζοντας τα δεδομένα που λαμβάνει ο ανιχνευτής της ασύμμετρης χρωματογραφίας με άλλες μεθόδους μπορούμε να ανιχνεύσουμε πολλές ιδιότητες των μορίων. Λειτουργεί συνδυάζοντας της διαχωριστική επίδραση μιας laminar flow (στρωτή ροή) και τη συμπυκνωτική επίδραση της κάθετης (εγκάρσιας) ροής. Συνδυασμός MALS με AF4 μπορεί να μας δώσει σημαντικές πληροφορίες για τη διάπλαση και το σχήμα των σωματιδίων και μακρομορίων ως συντήρηση του μεγέθους η της μοριακής μάζας (Runyon et al, 2014).

Η Jussila *et.al*/ χρησιμοποίησε με επιτυχία την FFF για τη μελέτη της κατανομής μεγέθους ενός μεγάλου εύρους διάφορων συστατικών γαλακτοκομικών προϊόντων όπως σφαιρίδια λίπους καζεϊνικά μικκύλια, φυσικές ή τεχνητές πρωτεΐνες του ορού γάλακτος καθώς και βακτήρια. Ωστόσο δεν ανέπτυξαν κάποια μέθοδος όπου αυτά τα συστατικά να μπορούν να διαχωριστούν μεταξύ τους . Μόνο πρόσφατα με την AFIFFF έγινε εφαρμογή στο γάλα ως σύνολο και έγινε απομόνωση και μελέτη των καζεϊνικών μικκυλίων. (Guyomarch *et al*, 2010).

Η βασική διαμόρφωση των πιο κοινών συσκευών την μονοφασικής χρωματογραφίας πεδίου βασίζεται σε ένα ορθογώνιο, επίπεδου τύπου καναλιού που δημιουργείται με την κοπή ενός λεπτού πλαστικού φύλλου το οποίο έχει τοποθετηθεί ανάμεσα σε δύο επίπεδα τοιχώματα. Η χρήση ενός δευτέρου ρεύματος ροής όπως το υδροδυναμικό πεδίο για να επιτευχθεί διαχωρισμός είναι αυτή που πραγματοποιεί την κλασματοποίηση σε αυτή τη μέθοδο χρωματογραφίας. (Roda *et al*, 2009).

Η ασύμμετρη χρωματογραφία χαρακτηρίζεται από ένα μόνο διαπερατό τοίχωμα, το οποίο αποτελεί πλεονέκτημα από άποψη απλότητας χρήσης και κόστους. Η AF4 χρησιμοποιεί μόνο μια αντλία για να δημιουργήσει τόσο τα

διαμήκη ρεύματα όσο και την κάθετη ροή της και επιτρέπει τη συγκέντρωση του δείγματος πριν από την έκλυση, που είναι πλεονέκτημα όσον αφορά την ικανότητα διαχωρισμού. (Roda *et al*,2009). Άλλα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι:

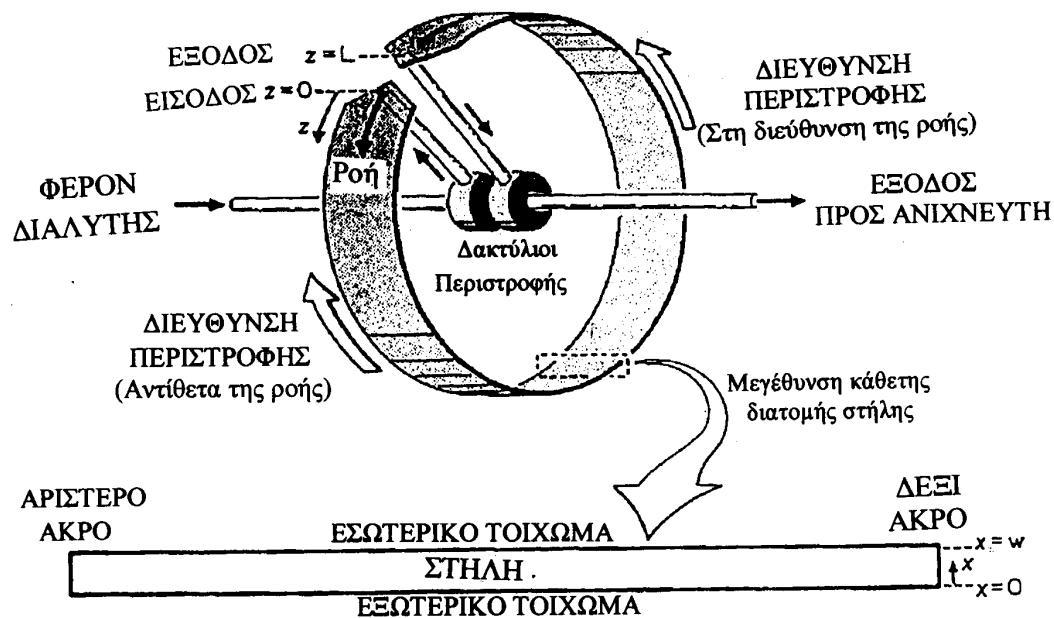
- Ήπιος μηχανισμός διαχωρισμού, ιδανικός για να διατηρεί ανέπαφη τη φυσική δομή των ακέραιων πρωτεϊνών .
- Δεν βασίζεται σε μια στατικά φάση όπως μια κλασική μέθοδος χρωματογραφίας κατά συνέπεια οι δυνάμεις διάτμησης κατά τη διαδικασία διαχωρισμού είναι μικρές.
- Δεν χρειάζεται φιλτράρισμα το δείγμα πριν την ένεση στο μηχάνημα (Nilsson, 2013).
- Λόγω έλλειψης της στατικής φάσης δεν υπάρχουν απώλειες στο δείγμα λόγω απορρόφησης του από αυτήν.
- Πολυμερή μπορούν να κλασματοποιηθούν ταυτόχρονα βασιζόμενα σε διαφορετικά χαρακτηριστικά όπως το μέγεθος και η σύνθεση τους.
- Παρέχει αποτελεσματικό διαχωρισμό των συστατικών μικροπήγματος (microgel) με διαλυτοποιημένα πολυμερή ταυτόχρονα από το ίδιο διάλυμα.
- Η αποδόμηση των μορίων κατά τη διάτμηση είναι ελάχιστη.
- Τα υλικά μπορούν να διαχωριστούν με υψηλή ανάλυση σε ένα ευρύ φάσμα μεγέθους από 1nm έως 100μm.
- Οι ήπιες συνθήκες λειτουργίας επιτρέπουν την ανάλυση εύθραυστων ουσιών όπως πρωτεΐνες, μοριακά σύμπλοκα μέχρι και ολόκληρα κύτταρα (Messaud *et al*, 2009).

3.4.2 Μονοφασική Χρωματογραφία Φυγοκεντρικού Πεδίου

Στην περίπτωση της Μονοφασικής Χρωματογραφίας Φυγοκεντρικού Πεδίου (ΜΧΦΠ) ή Sedimentation field flow fractionation (SdFFF) μία δύναμη πολλαπλάσια της βαρύτητας ελευθερώνεται με τη χρήση φυγοκέντρου. Τότε,

η στήλη δεν έχει μια επίπεδη γεωμετρία, όπως συμβαίνει στις περισσότερες από τις άλλες επιμέρους τεχνικές της ΜΧΠ, αλλά είναι καμπυλωμένη εντός ενός καλαθιού μιας φυγοκέντρου με μία σταθερή ακτίνα περιστροφής, σε μία σταθερή απόσταση από το άξονα περιστροφής, όπως φαίνεται στην εικόνα 3. (Roda *et al*,2009), (Saeseaw *et al*, 2005).

Η δύναμη του πεδίου που ασκείται στα σωματίδια του δείγματος είναι, σε όλες τις θέσεις εντός της στήλης, απευθείας κάθετη στις συντεταγμένες της ροής.



Εικόνα 16. Σχηματικό διάγραμμα ενός συστήματος ΜΧΦΠ

Ο χαρακτηρισμός με μονοφασική χρωματογραφία φυγοκεντρικού πεδίου είναι πολύ αποτελεσματικός δεδομένου ότι ξέρουμε την πυκνότητα των εξεταζόμενων σωματιδίων. Αν είναι γνωστή η ακριβής γεωμετρία του καναλιού, η ροή και η διαφορά πυκνότητας μεταξύ των σωματιδίων και του διαλύτη, η διάμετρος των σωματιδίων μπορεί να υπολογιστεί άμεσα από τον χρόνο έκλυσης, retention time. (Shiowatana *et al*, 2006).

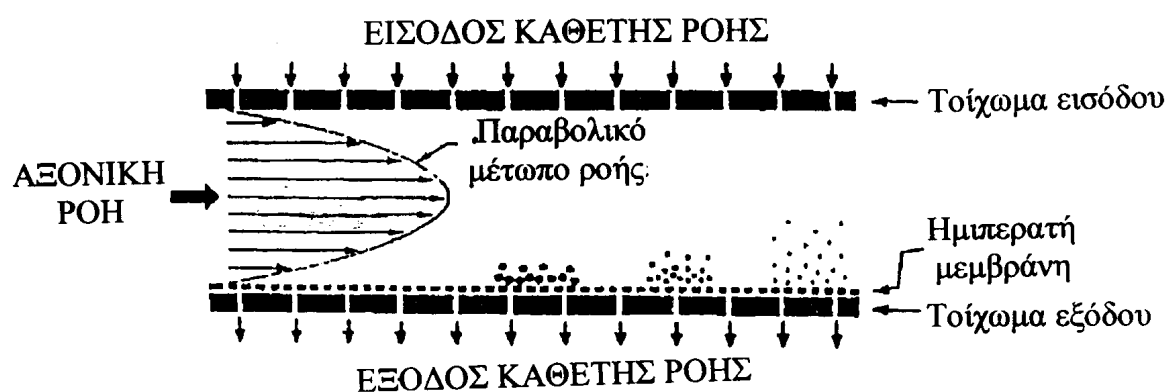
Η κλασματική καθίζηση SdFFF η οποία όπως είπαμε χρησιμοποιεί την φυγόκεντρο δύναμη αντί για κάθετη (cross flow), εφαρμόστηκε με επιτυχία στο

γάλα για να παρατηρήσει τις αλλαγές στα μικκύλια καζεΐνης αν αλλάζει το περιβάλλον ως προς τα ιόντα ή με τη θέρμανση (Guyomarch *et al*,2010).

3.4.3 Μονοφασική Χρωματογραφία Διασταυρούμενου Πεδίου Ροής

Στη Μονοφασική Χρωματογραφία Διασταυρούμενου Πεδίου Ροής (ΜΧΔΠΡ), μία κάθετη ροή φέροντος διαλύτη παίζει το ρόλο του πεδίου. Σε αυτή την τεχνική, τα βασικά πλευρικά τοιχώματα δεν είναι αδιαπέραστα, αλλά αποτελούνται από πορώδη υλικά που επιτρέπουν την κάθετη αυτή ροή. Επιπρόσθετα, το κάτω τοίχωμα της στήλης φέρει ημιπερατή μεμβράνη που επιτρέπει το διαχωρισμό-χαρακτηρισμό των συστατικών του δείγματος εντός της αναλυτικής στήλης στην αξονική διεύθυνση της οποίας γίνεται η μεταφορά τους. Ένα σχηματικό διάγραμμα της στήλης της ΜΧΔΠΡ δίνεται στην εικόνα 4.

Στη ΜΧΔΠΡ η ταχύτητα των σωματιδίων λόγω του πεδίου είναι απλά η ταχύτητα της κάθετης ροής. Υπό συνθήκες μηδενικής διολίσθησης, τα σωματίδια οποιουδήποτε δείγματος μεταφέρονται εγκάρσια από την κάθετη ροή με αυτή την ταχύτητα (Buffham, 1996).



Εικόνα 17. Σχηματική παράσταση της στήλης της ΜΧΔΠΡ

3.4.4 Μονοφασική Χρωματογραφία Θερμικού Πεδίου

Όταν σε ένα διάλυμα υπάρχει διαφορά θερμοκρασίας, εμφανίζεται και μεταβολή στη συγκέντρωση στα διάφορα σημεία του διαλύματος. Σε ένα μίγμα, ένα από τα συστατικά είναι πλούσιο στις ψυχρές περιοχές και κάποιο άλλο στις θερμές περιοχές. Αυτό το φαινόμενο, που ανακαλύφθηκε από τον Ludwig και τον Soret, ονομάζεται φαινόμενο Soret. Ονομάζεται επίσης θερμική διάχυση ή θερμοφόρηση. Αυτή η επίδραση είναι γενικά μικρή για μοριακά είδη χαμηλού μοριακού βάρους, αλλά μπορεί να είναι σημαντική για πολυμερή. Μία τέτοια διαβάθμιση της θερμοκρασίας μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μία εξωτερική δύναμη για την επίτευξη διαχωρισμού με τη ΜΧΠ. Η αντίστοιχη τεχνική ονομάζεται Μονοφασική Χρωματογραφία Θερμικού Πεδίου (ΜΧΘΠ) και ήταν η πρώτη μέθοδος που εφαρμόστηκε για την επίτευξη διαχωρισμού με τη μονοφασική χρωματογραφία πεδίου. Η στήλη είναι οριζόντια (π.χ. το πλάτος και το μήκος είναι σε οριζόντια επίπεδα). Το επάνω τοίχωμα είναι συνήθως το θερμό και το κάτω τοίχωμα το ψυχρό, προκειμένου να αποφευχθούν πιθανές αστάθειες τύπου Rayleigh – Bénard (εγκάρσια περιστροφή που προκαλείται από τη μεταβολή πυκνότητας) (Messaud *et al*,2009).

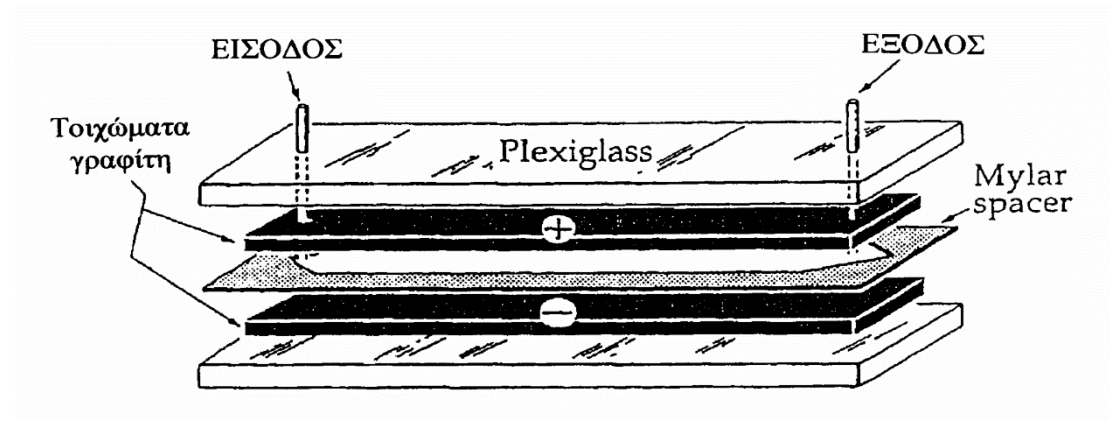
3.4.5 Μονοφασική Χρωματογραφία Ηλεκτρικού Πεδίου

Στη Μονοφασική Χρωματογραφία Ηλεκτρικού Πεδίου (ΜΧΗΠ) ένα ηλεκτρικό πεδίο, E , εφαρμόζεται ανάμεσα στα δύο κύρια τοιχώματα της στήλης με τη χρήση μιας διαφοράς δυναμικού μεταξύ δύο ηλεκτροδίων. Στην αρχική μορφή του συστήματος της ΜΧΗΠ, προκειμένου να αποφευχθούν διαταράξεις του μετώπου της ροής που θα οφείλονταν σε φυσαλίδες από την ηλεκτρόλυση του νερού, τα ηλεκτρόδια ήταν τοποθετημένα σε θαλάμους που διαχωρίζονταν από τη στήλη με ημιπερατές μεμβράνες που αποτελούσαν τα τοιχώματα της στήλης, τα οποία ήταν ελαστικά ή μετατρέπονταν σε στερεά με την υποστήριξη

ενός πορώδους υλικού. Εντούτοις, αυτή η κατασκευή είχε ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά και η τεχνική δεν εξελίχθηκε περισσότερο.

Εναλλακτικές πειραματικές διευθετήσεις με τα ηλεκτρόδια τοποθετημένα εκτός της στήλης χρησιμοποιώντας είτε μία κοίλη ινώδη στήλη ή μία δακτυλιοειδή στήλη μεταξύ δύο ομόκεντρων πορωδών τοιχωμάτων δεν έδειξαν μεγάλη βελτίωση.

Πρόσφατα, το ενδιαφέρον για τη ΜΧΗΠ έχει αναζωογονηθεί με εργασίες στις οποίες τα στερεά τοιχώματα της ίδιας της στήλης, φτιαγμένα από γραφίτη ή επιχρυσωμένο γυαλί, λειτουργούσαν ως ηλεκτρόδια. Μία τέτοια διάταξη δεν επιτρέπει τη χρήση υψηλής τάσης χωρίς την παραγωγή αερίων προϊόντων της ηλεκτρόλυσης. Παρ' όλα αυτά, η δύναμη του πεδίου που προκαλείται είναι αρκετά μεγάλη για να προκαλέσει συγκράτηση και διαχωρισμό σωματιδίων διαμέτρου μικρότερης από 1 μ m.

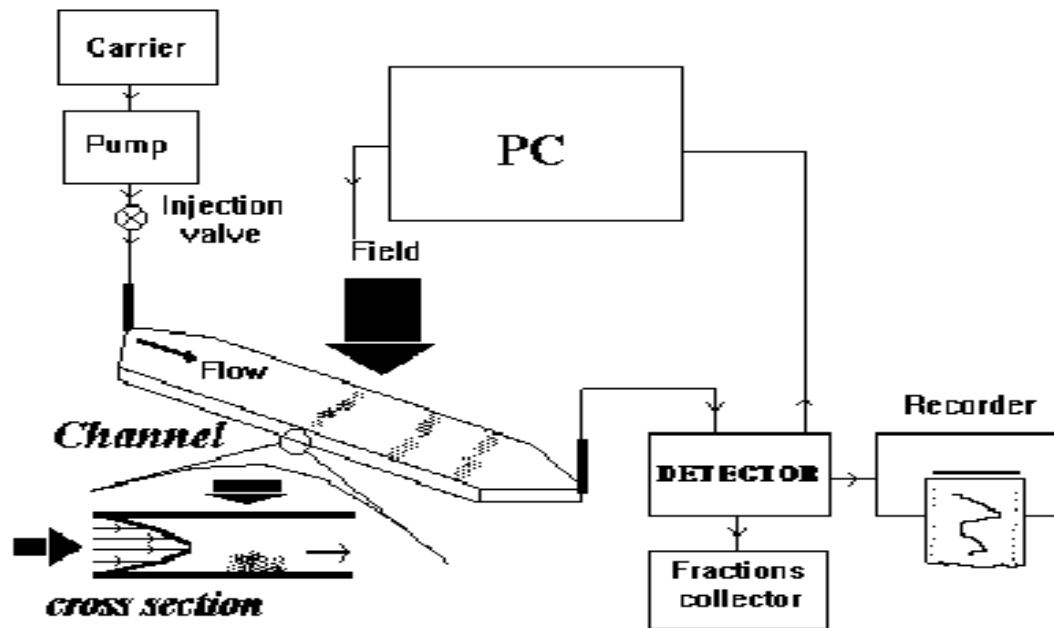


Εικόνα 18. Σχηματικό διάγραμμα της στήλης της ΜΧΗΠ με ηλεκτρόδια γραφίτη να αποτελούν τα κύρια τοιχώματα.

3.5 Γενική Οργανολογία της Μονοφασικής Χρωματογραφίας πεδίου και περιγραφή της διαδικασίας διαχωρισμού των κολλοειδών

Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω η Ασύμμετρη Μονοφασική χρωματογραφία AsFiFFF, όπως και όλες οι τεχνικές της μονοφασικής χρωματογραφίας διαφέρουν από τον κλασική χρωματογραφία και δεν διαθέτουν κάποια στατική φάση. Ο διαχωρισμός γίνεται από ένα εξωτερικό πεδίο που εφαρμόζει μια καθετή ροή γνωστή και ως cross flow.

Η οργανολογία είναι αρκετά απλή και εύκολη στη λειτουργία. Υπάρχει ένας φορέας που τοποθετείται το δείγμα μας στην επιθυμητή συγκέντρωση, μια αντλία η οποία τραβάει το δείγμα από τη σύριγγα στο κανάλι αλλά και δημιουργεί τα ρεύματα και της ροές που έχουν ρυθμιστεί στην κάθε μέτρηση. Υπάρχει η βαλβίδα της ένεσης και το κυρίως κανάλι που έχει το ρόλο της στήλης σε αυτού του τύπου χρωματογραφία. Η στήλη μας είναι συνδεδεμένη με έναν υπολογιστή που τρέχει το κατάλληλο πρόγραμμα και δίνει εντολές για την ταχύτητα ροής, τον χρόνο έκλουσης κ.α.. Στο τέλος της στήλης υπάρχει ένας ανιχνευτής σήματος και ένας καταγραφέας που καταγράφει τα σωματίδια κατά την έξοδο τους. Τέλος, υπάρχει και ένας συλλέκτης που μαζεύει το διαλύτη και τα κλασματοποιημένα σωματίδια του διαλύματος (Messaud *et al*,2009), (Jussila *et al*,1997).

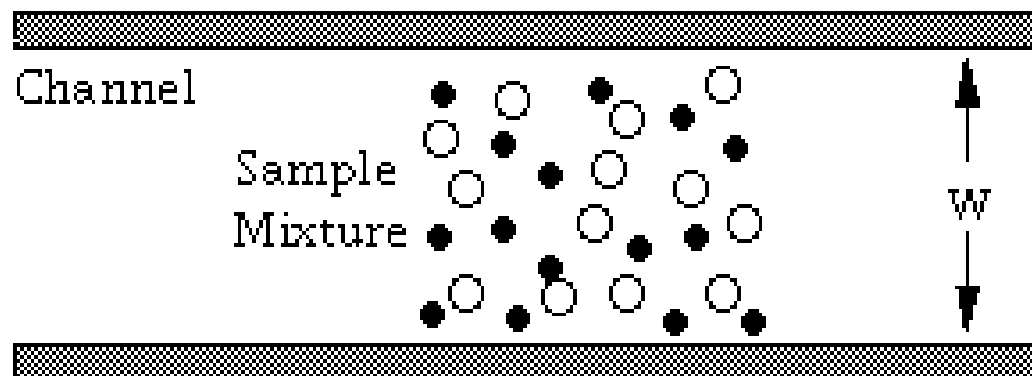


Εικόνα 18. Απεικόνιση της συνδεσμολογίας ενός τυπικού μονοφασικού χρωματογράφου

3.5.2 Διαδικασία κλασματοποίησης

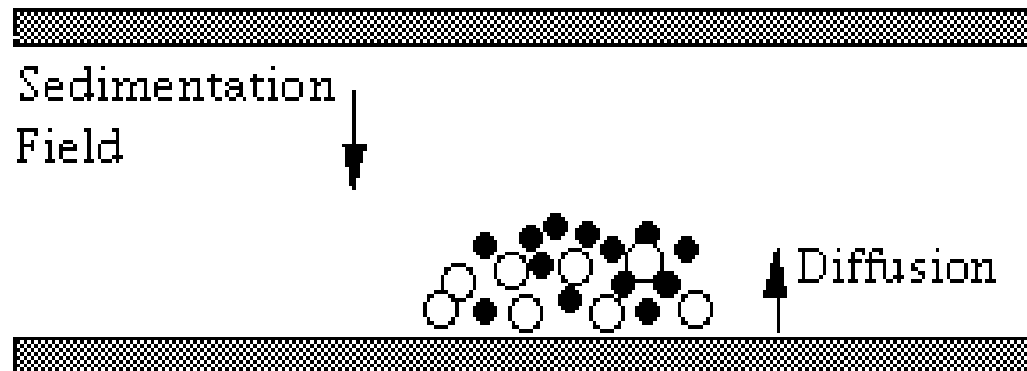
Σε πρώτο στάδιο κάνοντας την ένεση τα σωματίδια μπαίνουν στην στήλη ανακατεμένα μικρά/μεγάλα χωρίς να εφαρμόζεται σε αυτά κάποιο πεδίο ή ροή και μοιράζονται ισότιμα μέσα στην στήλη.

A. INJECTION



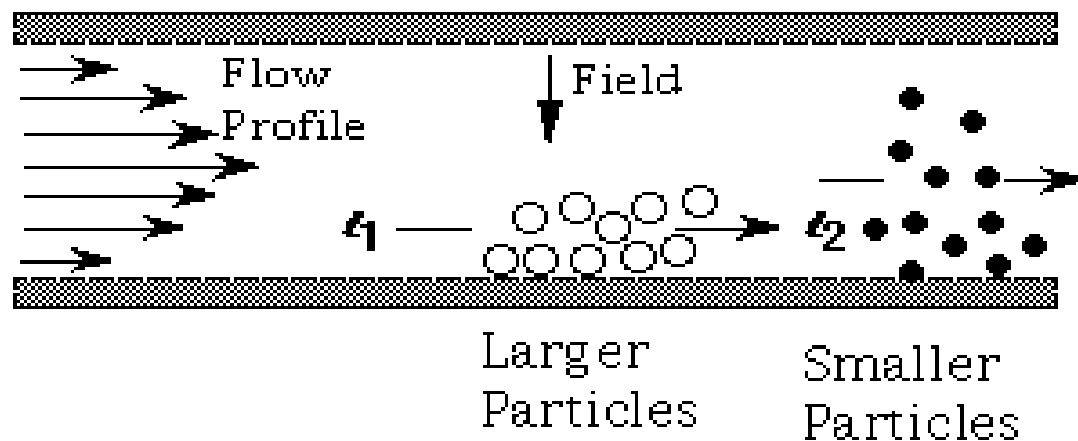
Μετά εφαρμόζεται ένα πεδίο και τα σωματίδια συγκεντρώνονται σε ένα σημείο κολλητά στο τοίχωμα της στήλης. Σε αυτό το σημείο μπορούμε να τα τοποθετήσουμε εμείς στην αρχή της στήλης με κάποια ροή.

B. RELAXATION



Μετά εφαρμόζεται η κάθετη ροή και το ρεύμα διαλύτη με αποτέλεσμα τα σωματίδια αρχικά να χωριστούν ανά μέγεθος τα μικρά πάνω και τα μεγάλα κάτω και στη συνέχεια ο διαλύτης περνώντας παρασέρνει πρώτα τα μικρά και μετά τα μεγάλα σωματίδια όπου εξέρχονται τελικά από τη στήλη με αυτή την σειρά και δίνουν στον ανιχνευτή το σήμα από το οποίο υπολογίζεται το ακριβές μέγεθος τους.

C. SEPARATION



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Δείγματα και όργανα του πειράματος

Μελετήθηκαν 12 δείγματα αγελαδινού γάλακτος στα οποία είχαν προστέθει στο καθένα κάποια γαλακτωματοποιητική ουσία ή συνδυασμός περισσοτέρων και ένα είδος ελαίου.

Αναλυτικά, χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω γαλακτωματοποιητές :

- Casein: άλας καζεϊνικού νατρίου από αγελαδινό γάλα της Sigma-Aldrich, New Zealand.
- Whey: Σκόνη πρωτεϊνών ορού γάλακτος της Solgar, USA.
- Tween (tween 80 γαλακτωματοποιητής) της BioChemica Applichem, UK.

Και ως φάση ελαίου το corn oil (αραβοσιτέλαιο), palm oil (φοινικέλαιο) και sesame oil (σησαμέλαιο).

Τέλος, ως συνεχή φάση στο μείγμα χρησιμοποιήθηκε τριπλά απεσταγμένο νερό.

Τα δείγματα αυτά ομογενοποιήθηκαν υπό πίεση 300 bar και θερμοκρασία 60-70 °C. Η διεργασία αυτή επιτυγχάνεται σε δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο, η πίεση ρυθμίζεται στο 20% της τελικής τιμής και στο δεύτερο στάδιο στο υπόλοιπο 80%. Τα γαλακτώματα, κατά τη διαδικασία της ομογενοποίησης, ανακυκλώνονται 10 φορές, διαδικασία η οποία διαρκεί περίπου 16 λεπτά.

Αναλυτικά, το **δείγμα 1** εμπεριέχει **2% tween** και corn oil.

Το **δείγμα 2** εμπεριέχει **1% tween και 2% casein** και για φάση ελαίου palm oil.

Το **δείγμα 3** εμπεριέχει **2% whey** και για φάση ελαίου corn oil.

Το **δείγμα 4** εμπεριέχει **4% tween** και για φάση ελαίου corn oil.

Το **δείγμα 5** εμπεριέχει **3% casein** και για φάση ελαίου palm oil.

Το **δειγμα 6** εμπεριέχει **3% tween** και για φάση ελαίου palm oil.

Το **δειγμα 7** εμπεριέχει **1% whey και 2% casein** και για φάση ελαίου palm oil.

Το **δειγμα 8** εμπεριέχει **4% whey** και για φάση ελαίου corn oil.

Το **δειγμα 9** εμπεριέχει **1% tween- 1% whey- 1% casein** και για φάση ελαίου sesame oil.

Το **δειγμα 10** εμπεριέχει **1% whey** και για φάση ελαίου corn oil.

Το **δειγμα 11** εμπεριέχει **2% casein και 1% tween** και για φάση ελαίου corn oil.

Το **δειγμα 12** εμπεριέχει **2% casein και 1% whey** και για φάση ελαίου corn oil.

Για τη μέτρηση του μεγέθους των σωματιδίων των 12 αυτών δειγμάτων και για να δούμε πως επηρεάστηκαν τα σωματίδια του γάλακτος με τον καθένα από αυτούς τους γαλακτωματοποιητές, μετρήσαμε τα δείγματα με έναν Μονοφασικό Χρωματογράφο πεδίου (Asymmetrical Field Flow Fractionation) που έχει αναλυθεί πλήρως ο τρόπος λειτουργίας του στο ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.

Για τις μετρήσεις με τον Μονοφασικό Χρωματογράφο χρησιμοποιήθηκε διαλύτης 4,25 gr NaNO₃ σε 1 L τριπλά απιονισμένου νερού.

Οι άμεσες μέθοδοι σκέδασης φωτός δίνουν μια γρήγορη μέτρηση του πραγματικού μεγέθους των σωματιδίων σε μη επεξεργασμένες συνθήκες αλλά σπάνια μπορούν να δώσουν μια αντικειμενική κατανομή θερμικά επεξεργασμένων συστημάτων γάλακτος, επειδή τα καζεϊνικά μικκύλια διαφέρουν κατά πολύ από το σήμα σκέδασης των μικρότερων οντοτήτων. Για αυτόν ακριβώς το λόγο θεωρήθηκε σωστό η σύζευξη μιας διαχωριστικής μεθόδου όπως είναι η μονοφασική χρωματογραφία πεδίου με τη μέθοδο σκέδασης φωτός με λέιζερ (MALLS Multiangle Laser Light Scattering). (Guyomarch, *et al*, 2010).

Οποτε ως συμπληρωματική μέθοδος μέτρησης χρησιμοποιηθηκε και το Zetasizer Nano της Malvern όπου μετρηθηκε η δυναμική σκέδαση του φωτός πάνω στα μόρια των 12 δειγμάτων. Η δυναμική σκέδαση φωτός/Dynamic light Scattering γνωστή και ως PCS-Photon Correlation Spectroscopy μετρά όπως είπαμε την κίνηση Brown και τη συσχετίζει με το μέγεθος των σωματιδίων. Αυτό επιτυγχάνεται με το να φωτίζει τα σωματίδια με ένα Laser και αναλύοντας τις διακυμάνσεις της έντασης στο διεσπαρμένο φως. Η αρχή λειτουργίας του μηχανήματος και της μεθόδου περιγράφονται αναλυτικά στο ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.

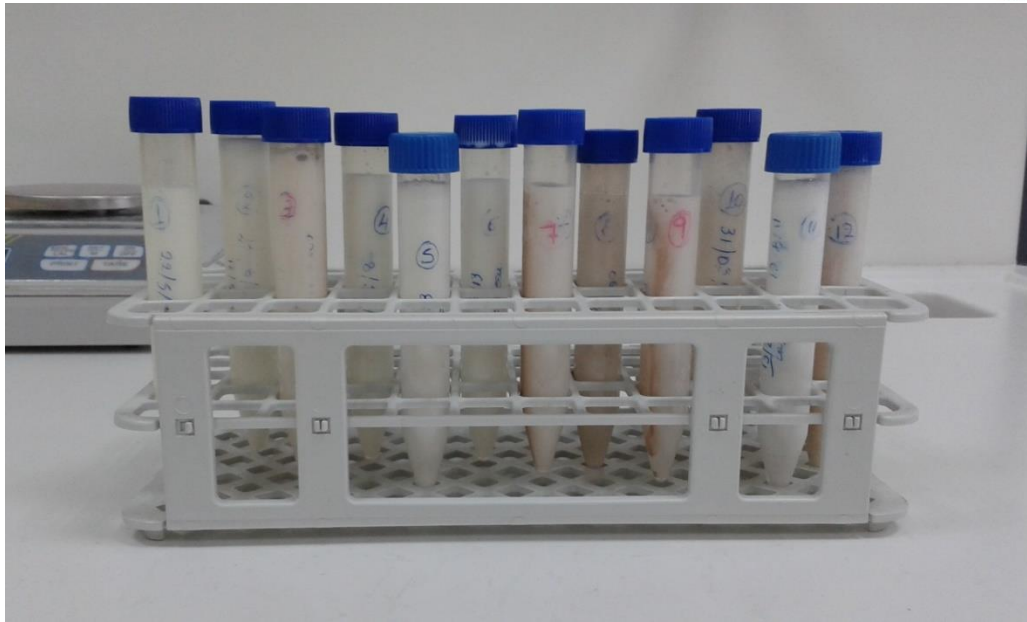
4.2 Πειραματική πορεία

Για την ΜΧΠ:

Η μέθοδος λειτουργίας που επιλέχθηκε τελικώς στην Μονοφασική Χρωματογραφία Πεδίου είναι η εξής:

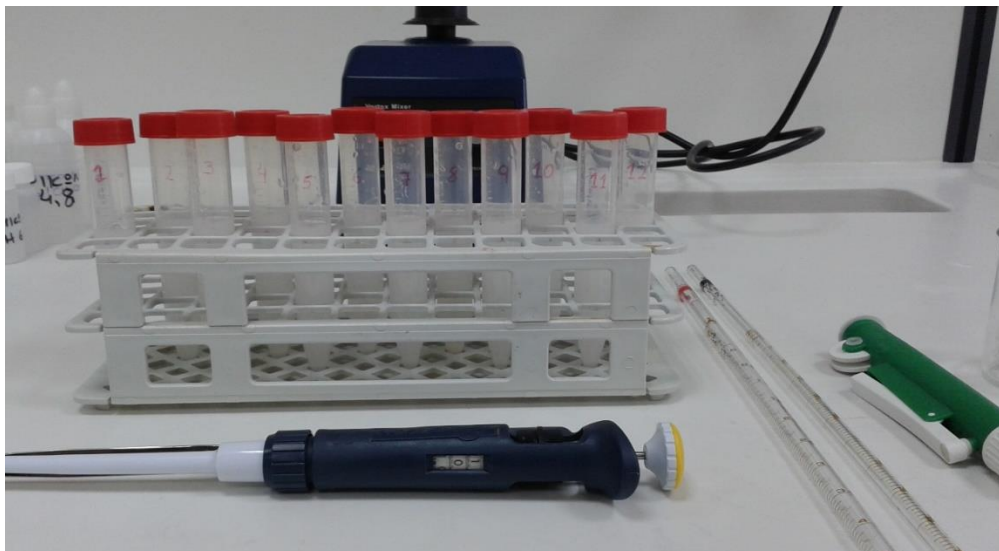
Start time	End time	Duration	Mode	X start	X end
0.00	1.00	1.00	Elution	1.00	1.00
1.00	3.00	2.00	Elution	1.00	1.00
3.00	5.00	2.00	Elution + injection	1.00	1.00
5.00	7.00	2.00	Elution	1.00	1.50
7.00	13.00	6.00	Elution	1.50	2.00

Με detector flow: 2.00, focus flow: 1.50 και inject flow: 0.30 και συνολικό χρόνο ροής στα 14 περίπου λεπτά το κάθε δείγμα.



Εικόνα 19: Τα αρχικά δείγματα

Τα δείγματα όλα αραιώθηκαν στο 1% του αρχικού διαλύματος (δηλαδή βάλαμε 0.1 ml δείγματος σε 9.9 ml 3D (τριπλά απιονισμένου νερού)).



Εικόνα 20: Τα δείγματα μετά την αραιωσή τους

Για την Δυναμική σκεδασή φωτός:

Τα δείγματα και εδώ μετρήθηκαν αραιωμένα 1% (0,1 ml δειγματος + 9,9 ml 3D νερού).

Ρυθμίσεις:

Υλικό : γάλα

Μέσο διασποράς : νερό

Θερμοκρασία θαλάμου μέτρησης: 25 ° C

Equilibration (εξισορρόπηση δείγματος): 120 sec

Ιξώδες: 0,8872 cP

R.I: 1,330

Τύπος κυψέλης DT50012

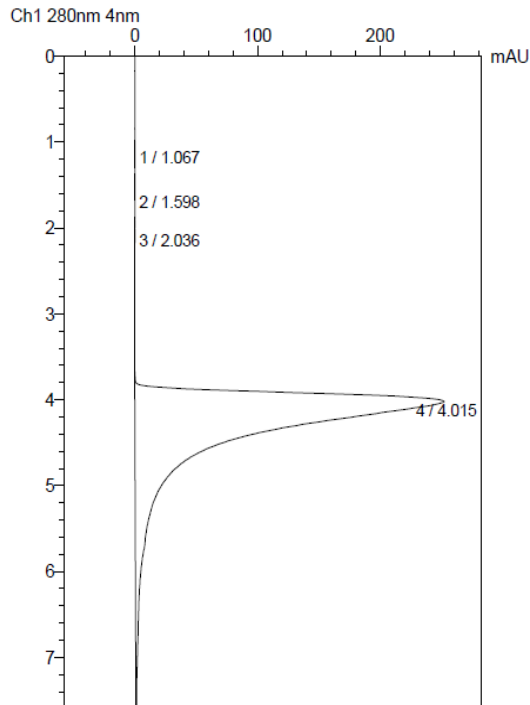
Γωνιά μέτρησης: 173 ° backscatter

Αριθμός επαναλήψεων ανά μέτρηση: 3

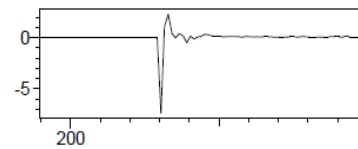
Μηδενική καθυστέρηση ανάμεσα στις μετρήσεις

4.3 Αποτελέσματα μετρήσεων

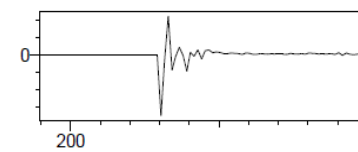
Δείγμα 1 (2% tween / corn oil)



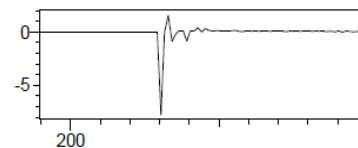
Peak# : 1
Retention Time : 1.067



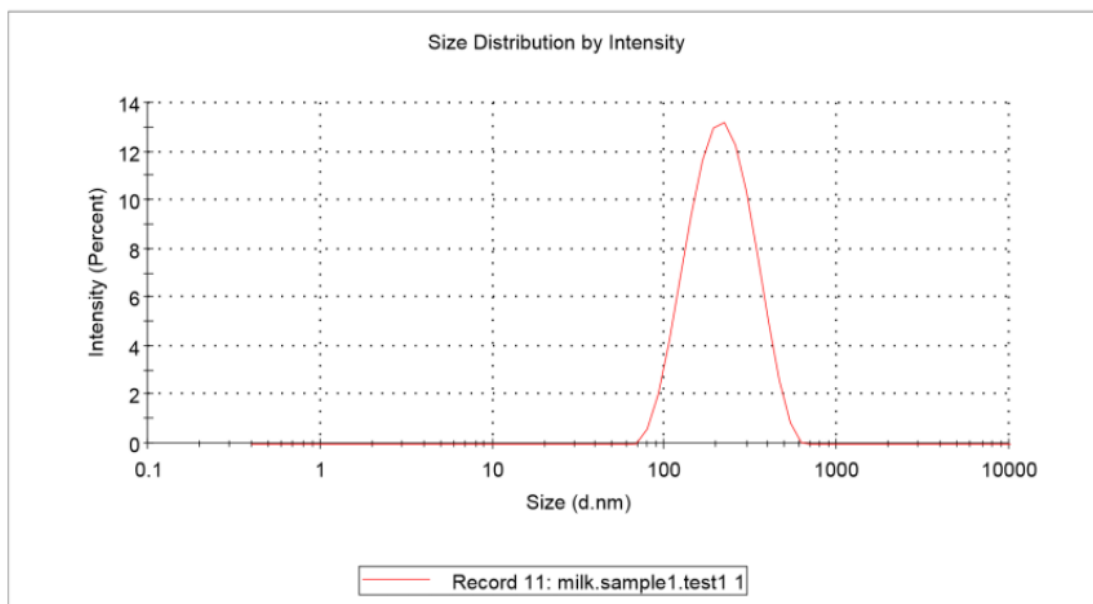
Peak# : 2
Retention Time : 1.598



Peak# : 3
Retention Time : 2.036

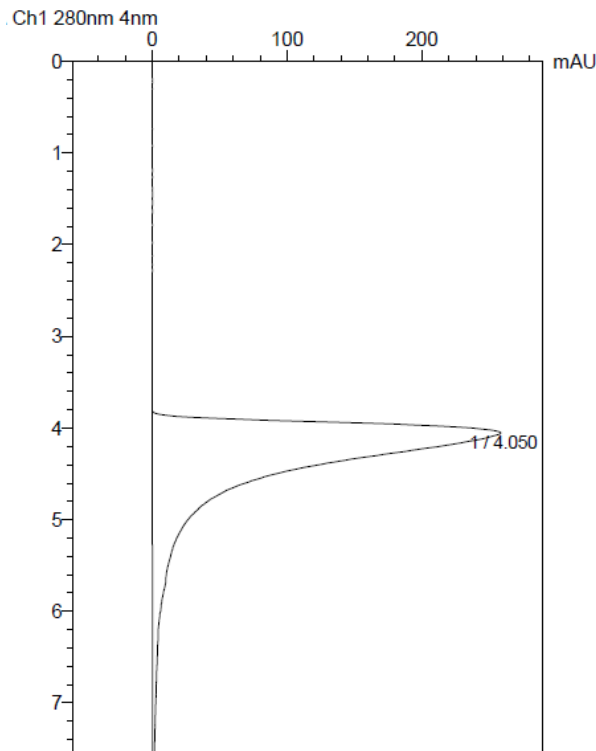


Αποτέλεσμα δείγματος από AsyFFF.

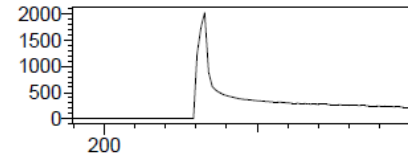


Αποτέλεσμα δείγματος από την DLC.

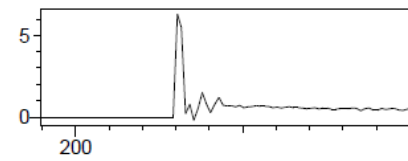
Δείγμα 2 (1 tween-2 casein / palm oil)



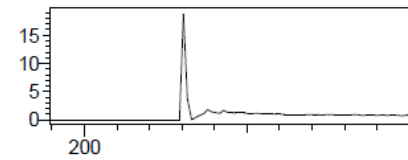
Peak# : 1
Retention Time : 4.050



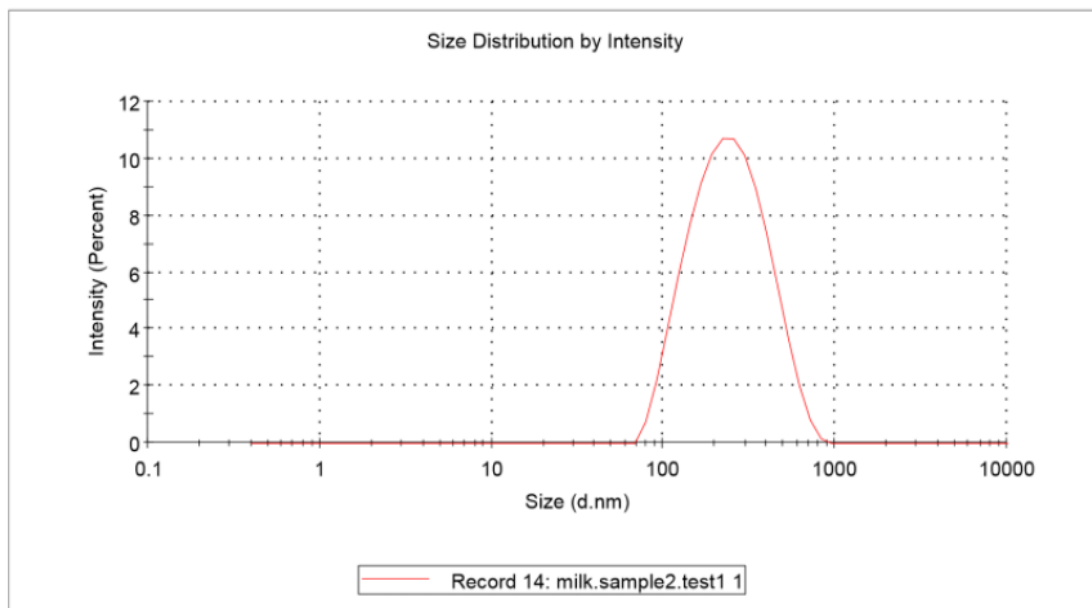
Peak# : 2
Retention Time : 10.912



Peak# : 3
Retention Time : 12.144

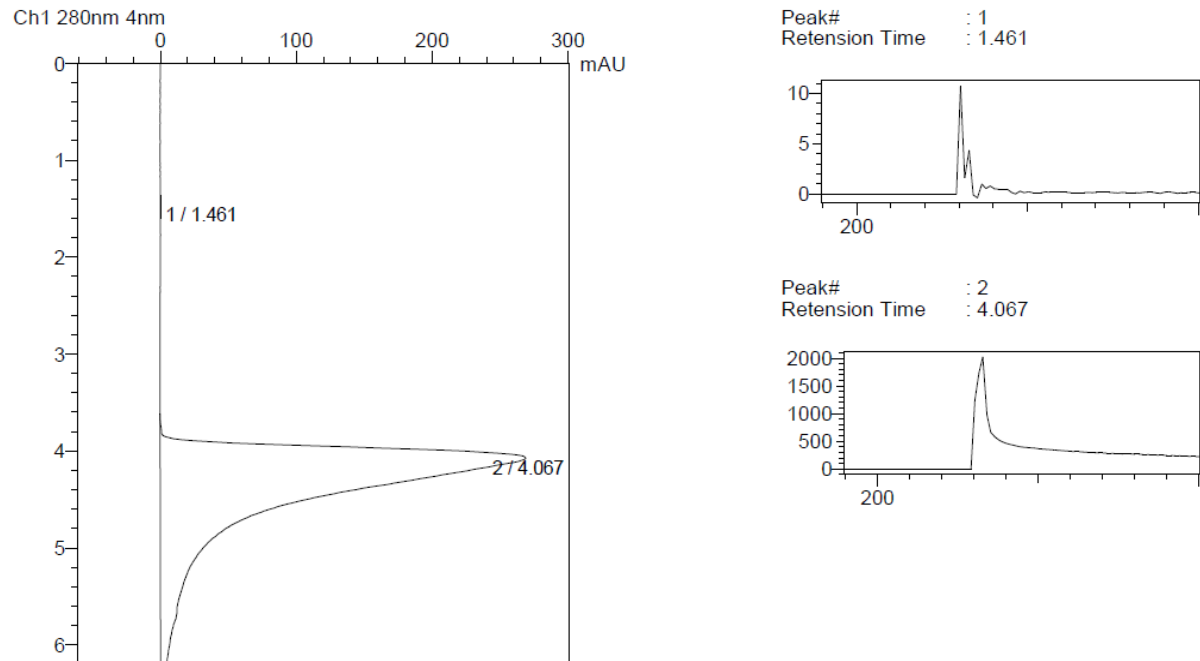


Αποτέλεσμα δείγματος από AsyFFF.

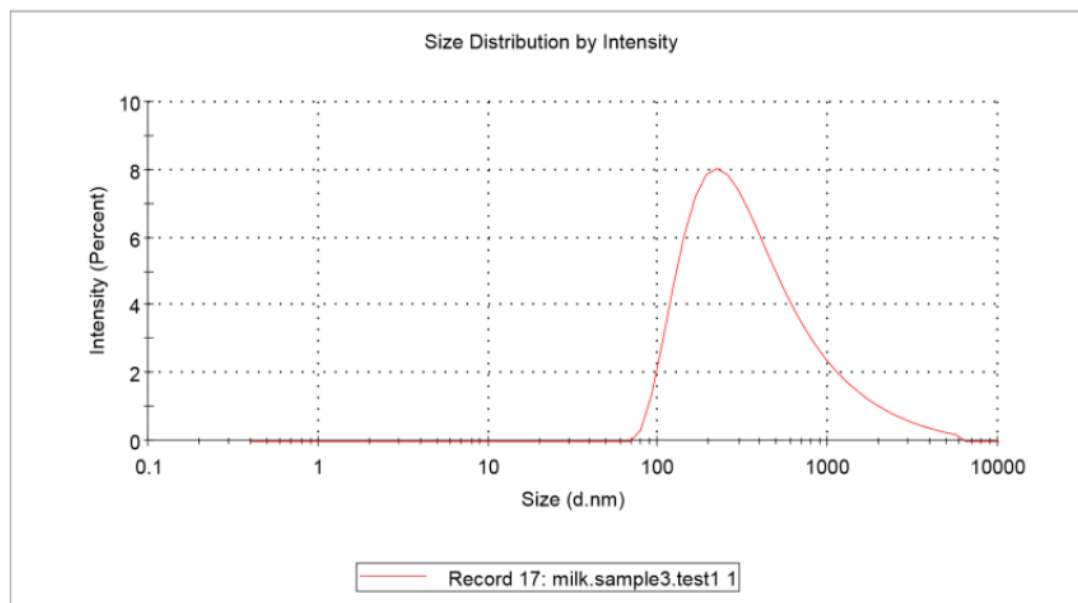


Αποτέλεσμα δείγματος από την DLC.

Δείγμα 3 (2% whey / corn oil)

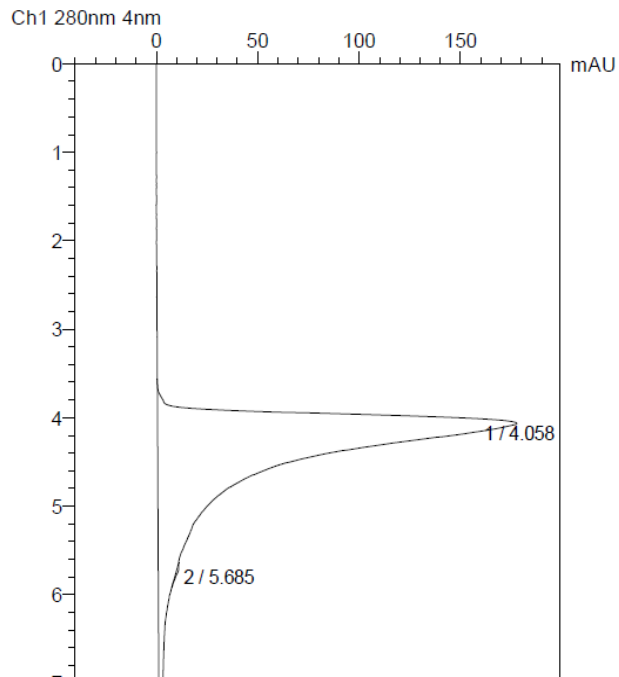


Αποτέλεσμα δείγματος από AsyFFF.

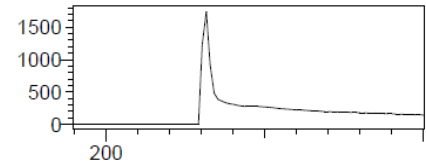


Αποτέλεσμα δείγματος από την DLC.

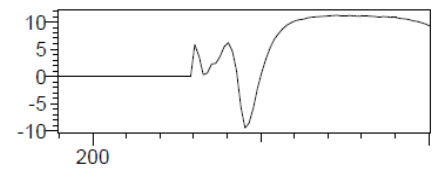
Δείγμα 4 (4 % tween / corn oil)



Peak# : 1
Retention Time : 4.058



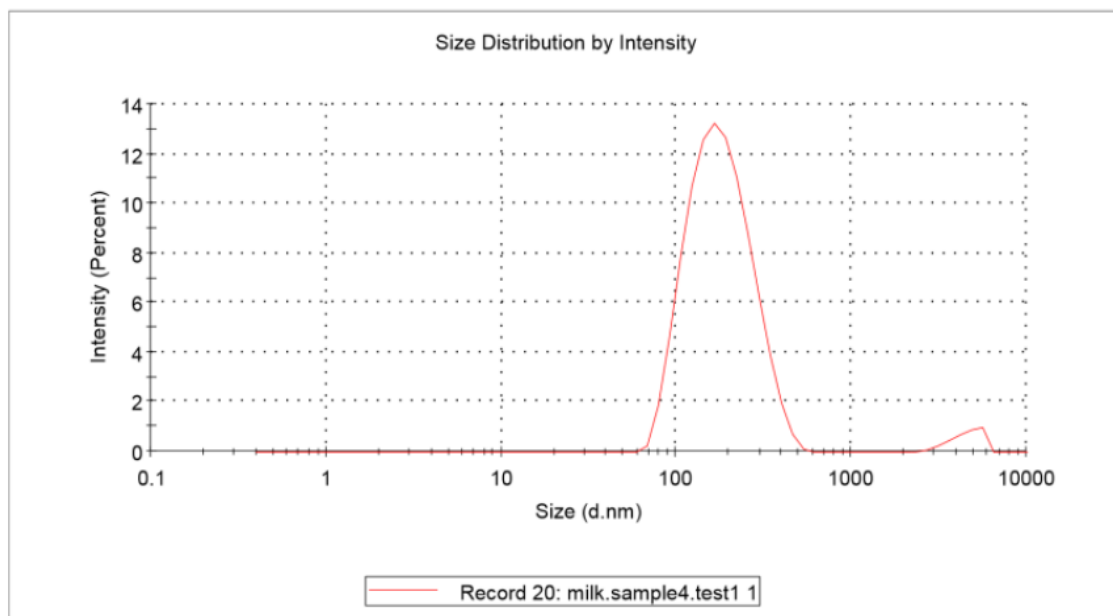
Peak# : 2
Retention Time : 5.685



Peak# : 3
Retention Time : 7.790

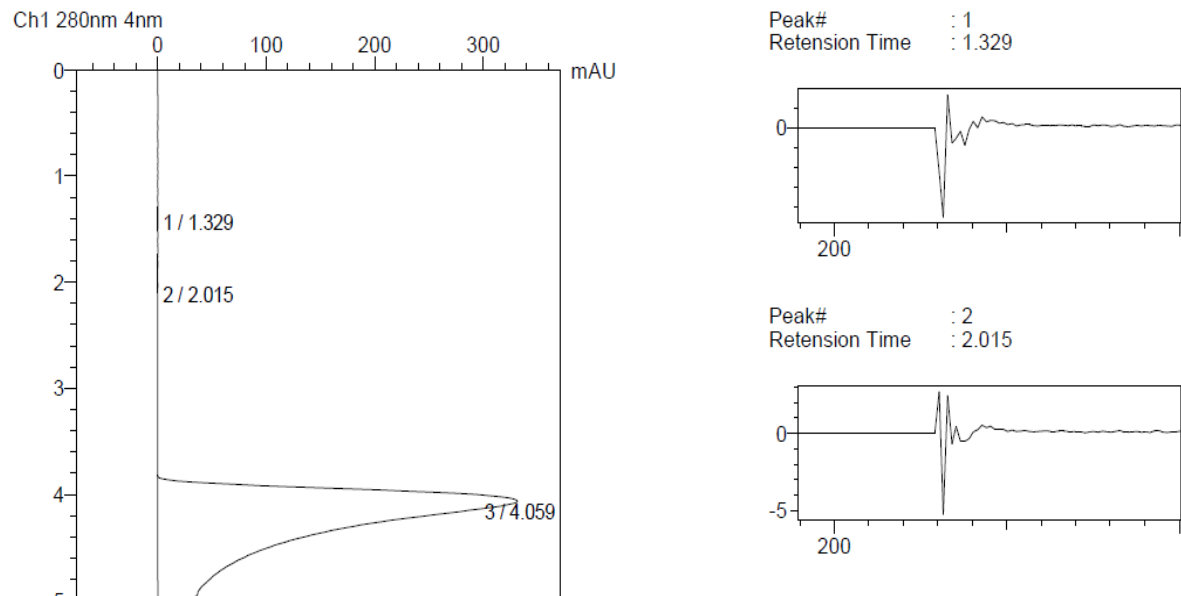


Αποτέλεσμα δείγματος από AsyFFF.

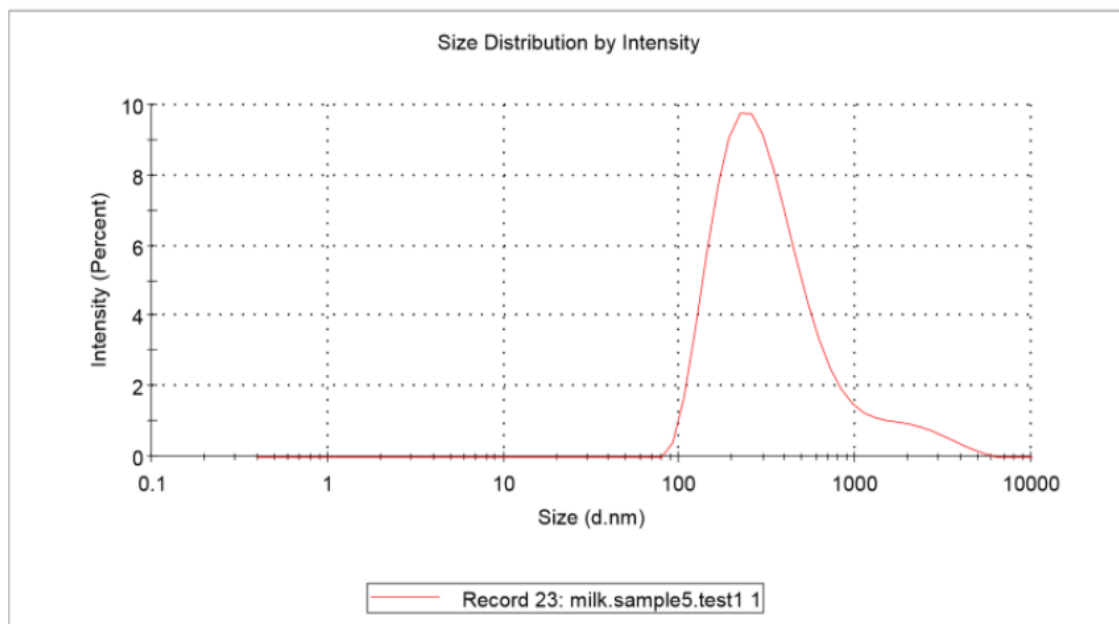


Αποτέλεσμα δείγματος από την DLC.

Δείγμα 5 (3% casein / palm oil)

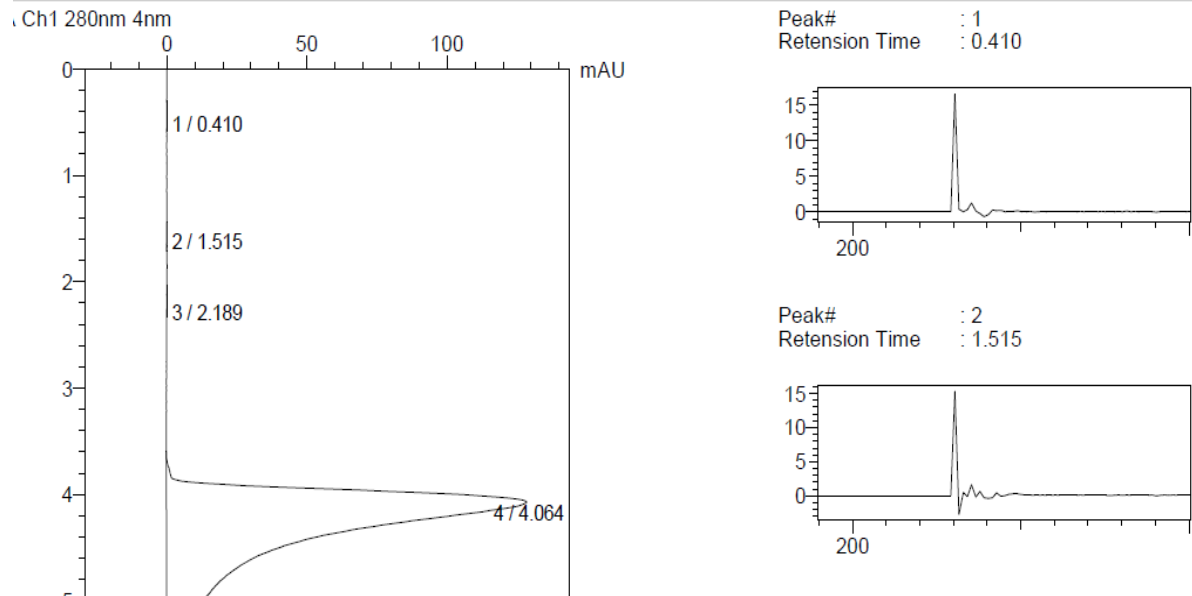


Αποτέλεσμα δείγματος από AsyFFF.

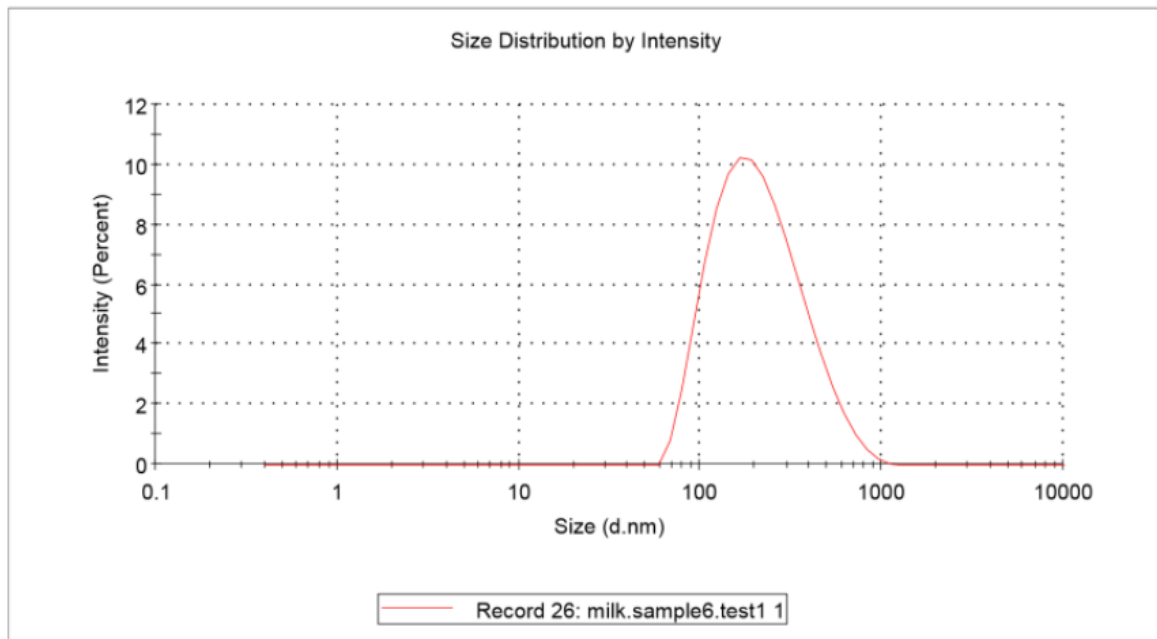


Αποτέλεσμα δείγματος από την DLC.

Δείγμα 6 (3% tween / palm oil)

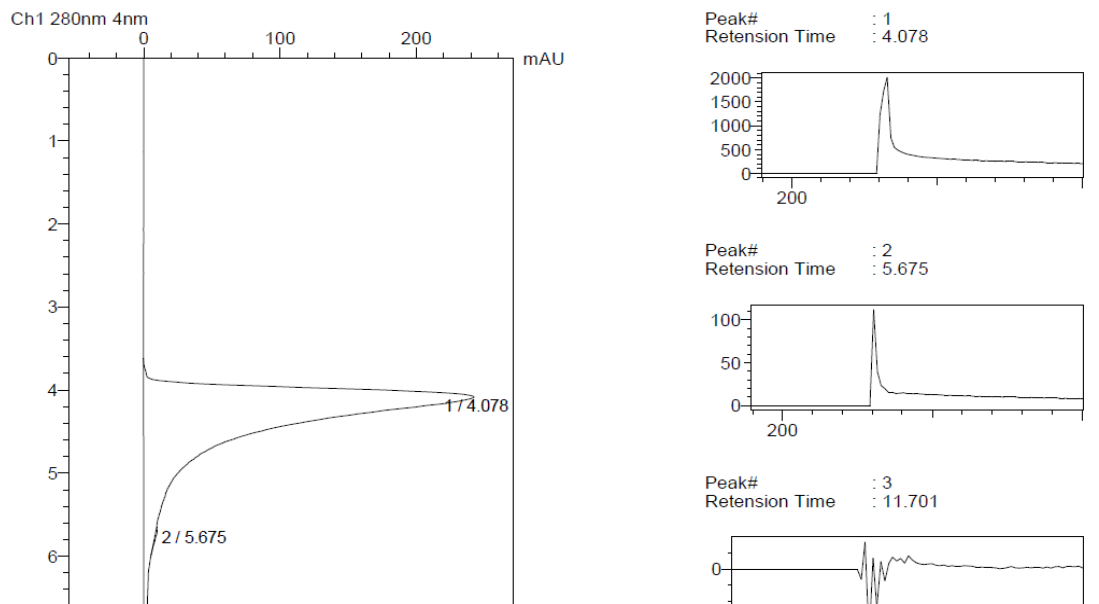


Αποτέλεσμα δείγματος από AsyFFF.

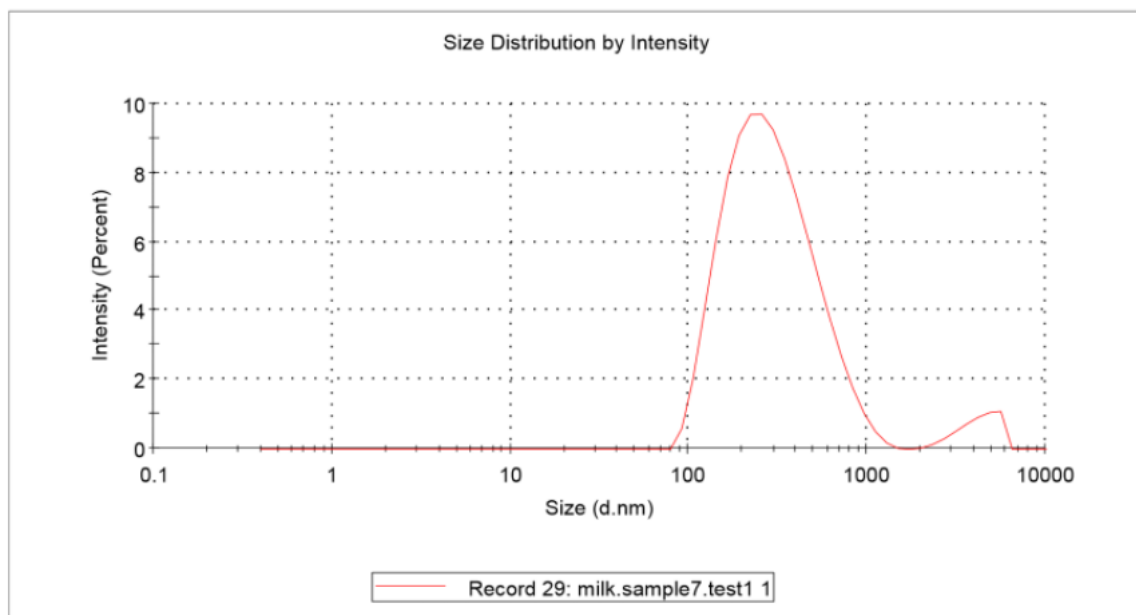


Αποτέλεσμα δείγματος από την DLC.

Δείγμα 7 (1 whey-2 casein / palm oil)

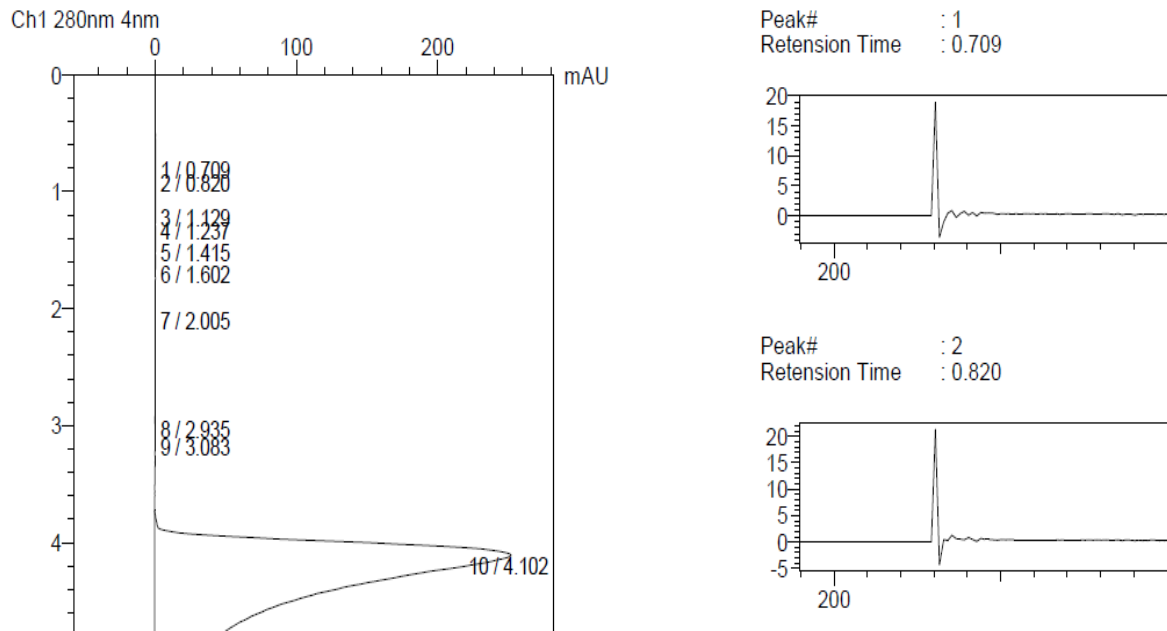


Αποτέλεσμα δείγματος από AsyFFF.

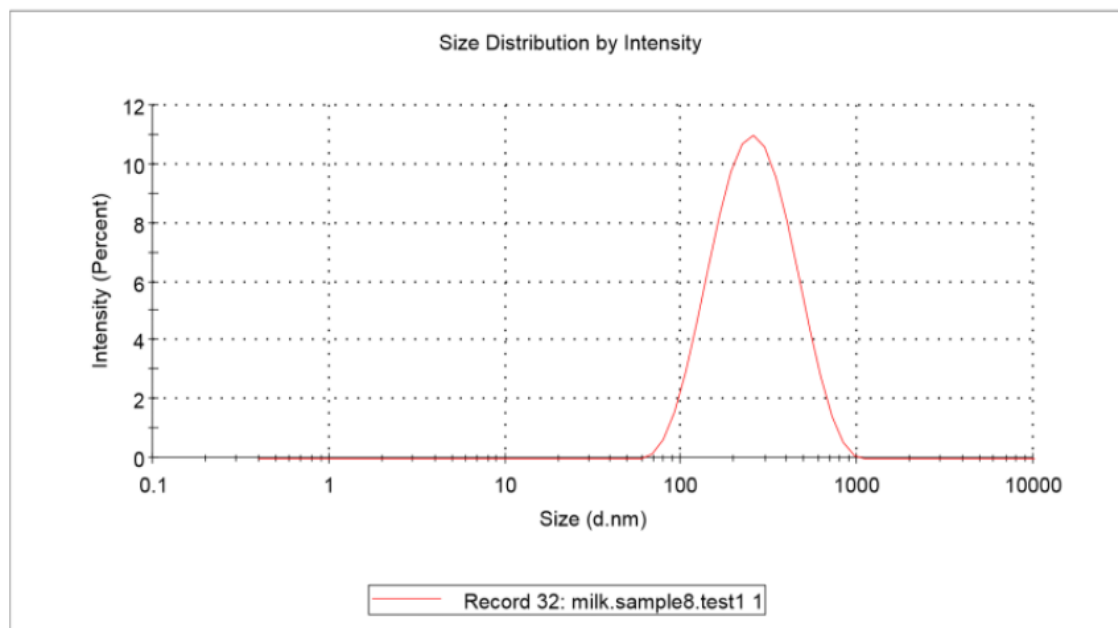


Αποτέλεσμα δείγματος από την DLC.

Δείγμα 8 (4% whey / corn oil)

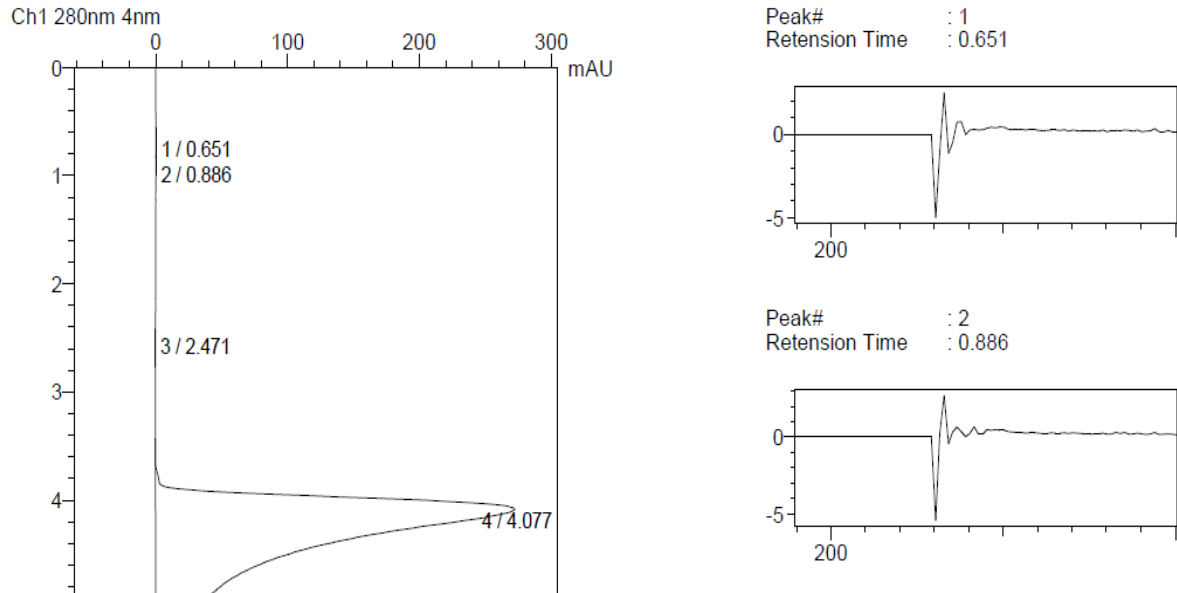


Αποτέλεσμα δείγματος από AsyFFF.

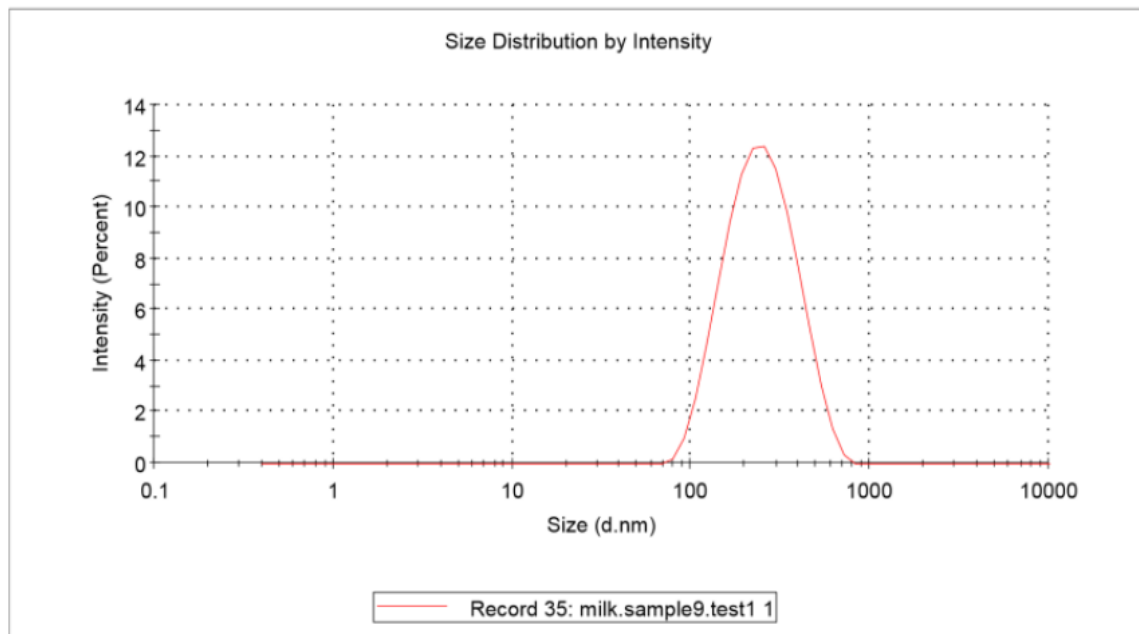


Αποτέλεσμα δείγματος από την DLC.

Δείγμα 9 (1 tween-1 whey-1 casein / sesame oil)

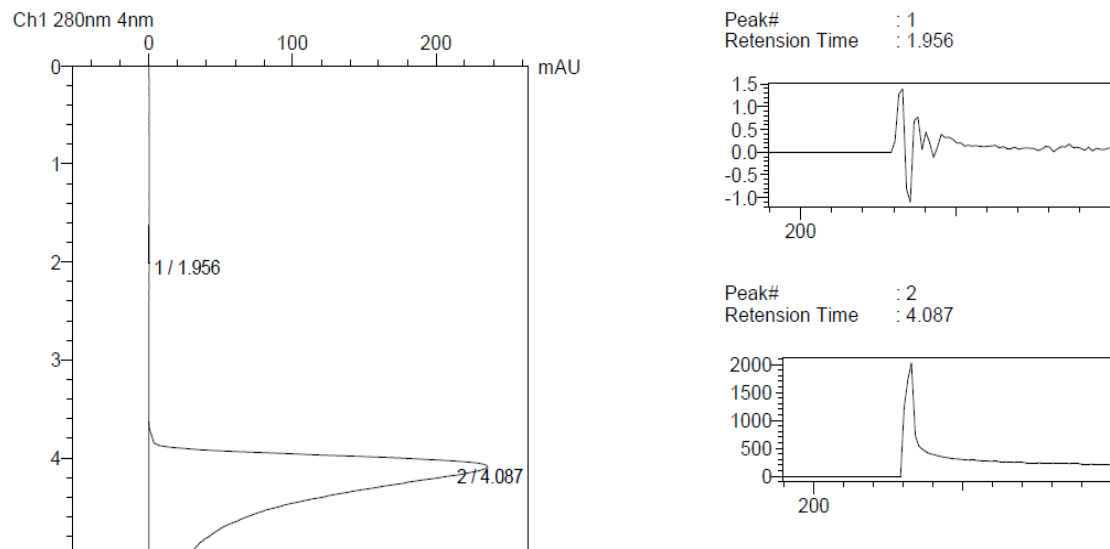


Αποτέλεσμα δείγματος από AsyFFF.

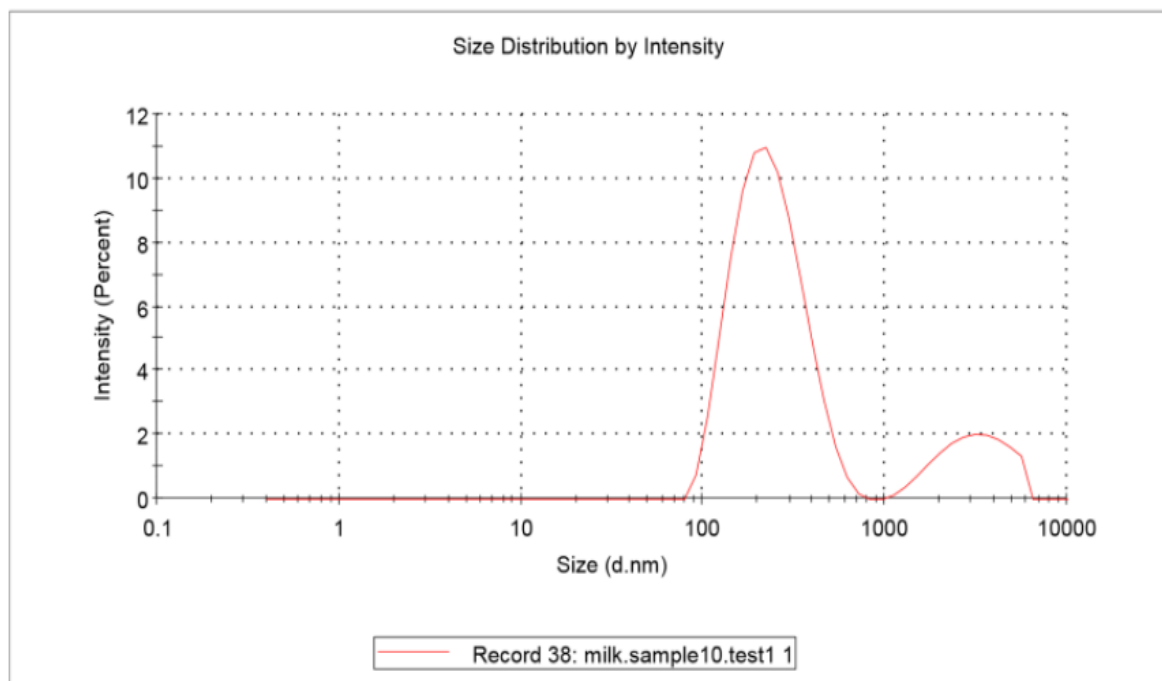


Αποτέλεσμα δείγματος από την DLC.

Δείγμα 10 (1 whey / corn oil)

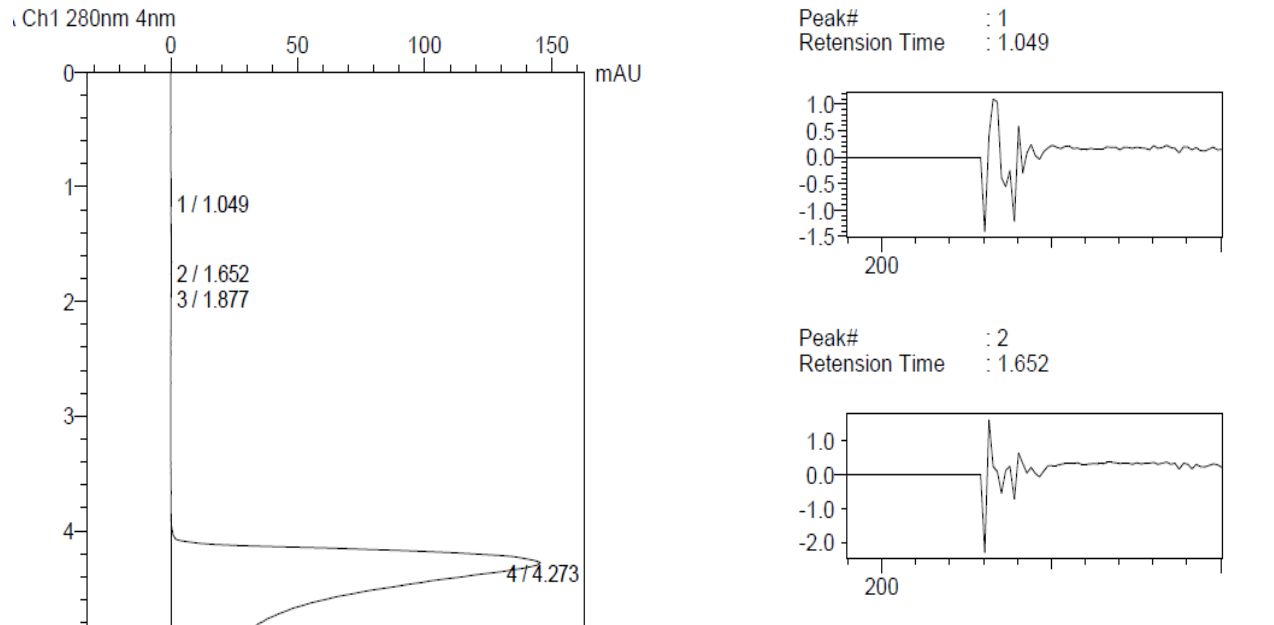


Αποτέλεσμα δείγματος από AsyFFF.

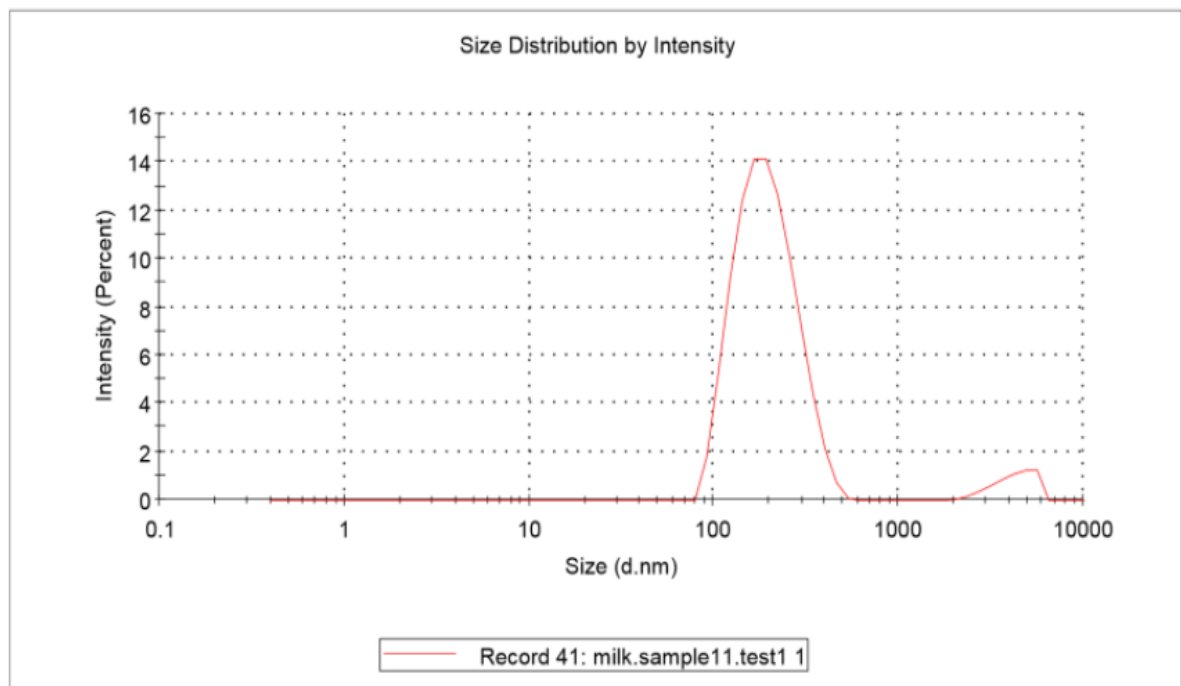


Αποτέλεσμα δείγματος από την DLC.

Δείγμα 11 (2 casein -1 tween / corn oil)

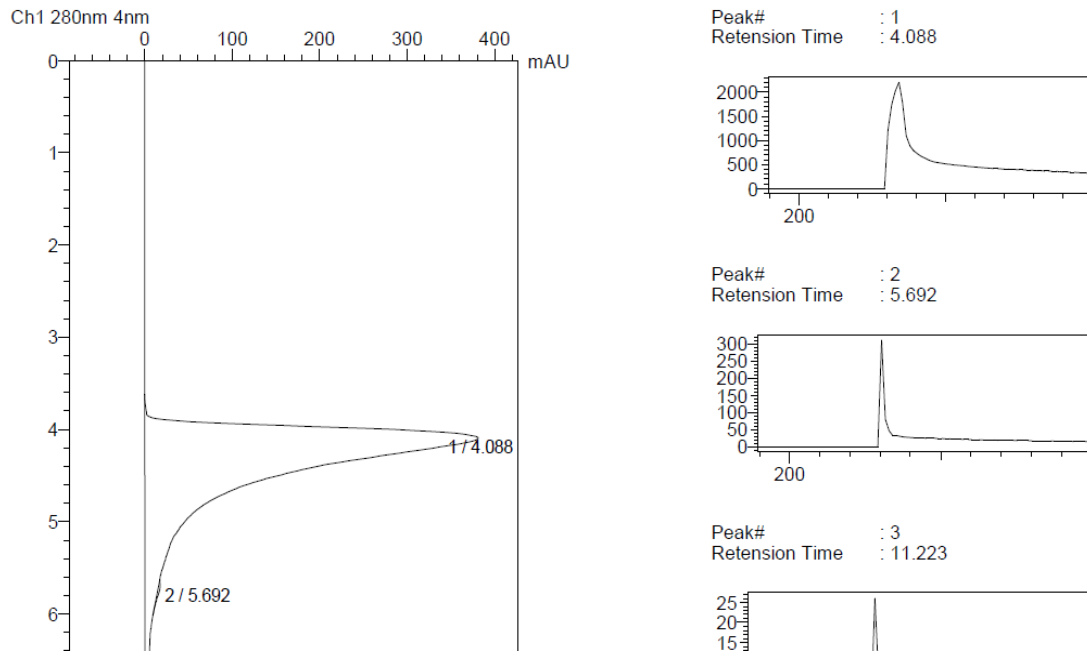


Αποτέλεσμα δείγματος από AsyFFF.

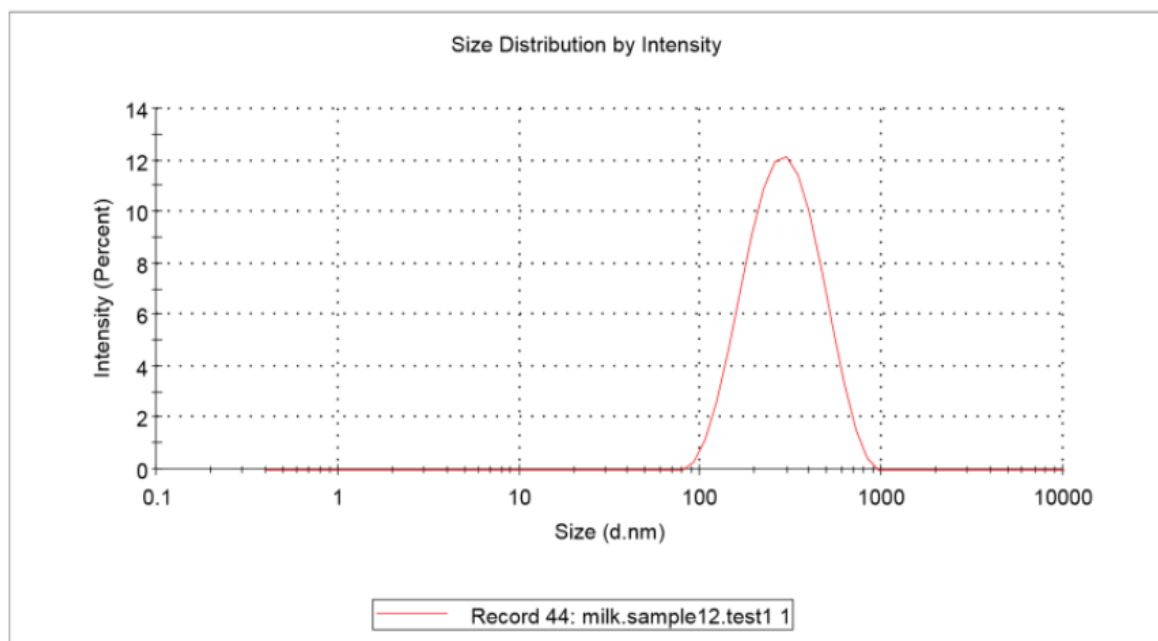


Αποτέλεσμα δείγματος από την DLC.

Δείγμα 12 (1 whey – 2 casein / corn oil)



Αποτέλεσμα δείγματος από AsyFFF.



Αποτέλεσμα δείγματος από την DLC.

Για τον υπολογισμό της διαμέτρου d χρησιμοποιούνται ο χρόνος εμφάνισης της πρώτης και της δεύτερης κορυφής στο χρωματογράφημα από το Μονοφασικό Χρωματογράφο εφαρμόζοντας την εξίσωση που ακολουθεί:

$$\text{Ισχύει : } d = \frac{2 \times k \times T \times V_0 \times t_R}{\pi \times n \times F_{cr} \times w^2 \times t_0}$$

όπου $k = 1,23 \times 10^{-23}$ J/K

$T = 300$ K

$V_0 = 1.5$ cm³

$n = 0.85 \times 10^{-3}$ Pa \times s

$F_{cr} = 1$ cm³/min

$w = 350 \times 10^{-6}$ m

t_R = ο χρόνος της δεύτερης κορυφής

t_0 = ο χρόνος της πρώτης κορυφής

Για το πρώτο δείγμα $d_1 = 3,40 \times 10^{-8}$ m

Για το δεύτερο δείγμα $d_2 = 6,14 \times 10^{-8}$ m

Για το τρίτο δείγμα $d_3 = 6,35 \times 10^{-8}$ m

Για το τέταρτο δείγμα $d_4 = 3,19 \times 10^{-8}$ m

Για το πέμπτο δείγμα $d_5 = 3,46 \times 10^{-8}$ m

Για το έκτο δείγμα $d_6 = 8,44 \times 10^{-8}$ m

Για το έβδομο δείγμα $d_7 = 3,20 \times 10^{-8}$ m

Για το όγδοο δείγμα $d_8 = 2,63 \times 10^{-8}$ m

Για το ένατο δείγμα $d_9 = 3,10 \times 10^{-8}$ m

Για το δέκατο δείγμα $d_{10} = 4,76 \times 10^{-8}$ m

Για το ενδέκατο δείγμα $d_{11} = 3,60 \times 10^{-8}$ m

Για το δωδέκατο δείγμα $d_{12} = 3,17 \times 10^{-8}$ m

Πίνακας 4: Αποτελέσματα μετρήσεων και των δύο μεθόδων

	Επιφανειοδραστική ουσία/είδος ελαίου	size /nm	t ₀ /min 1 ^η κορυφή	t ₁ /min 2 ^η κορυφή	Διάμετρος d/nm
Δείγμα 1	2% tween / corn oil	190,1	1,067	1,598	34,0
Δείγμα 2	1% tween-2% casein /palm oil	217	4,050	10,912	61,4
Δείγμα 3	2% whey / corn oil	268,9	1,461	4,067	63,5
Δείγμα 4	4% tween /corn oil	171,4	4,058	5,685	31,9
Δείγμα 5	3% casein / palm oil	269,3	1,329	2,015	34,6
Δείγμα 6	3% tween /palm oil	180,9	0,410	1,515	84,4
Δείγμα 7	1% whey - 2% casein /palm oil	265,5	4,078	5,675	32,0
Δείγμα 8	4% whey / corn oil	227	0,709	0,820	26,3
Δείγμα 9	1% tween -1% whey-1% casein / sesame oil	223,2	0,651	0,886	31,0
Δείγμα 10	1% whey / corn oil	250,4	1,956	4,087	47,6
Δείγμα 11	2% casein -1% tween/ corn oil	192,9	1,049	1,652	36,0
Δείγμα 12	1% whey – 2% casein / corn oil	263,2	4,088	5,692	31,7

4.4 Γενικά συμπεράσματα

4.4.1 Βασικές παρατηρήσεις από αποτελέσματα μονοφασικού χρωματογράφου

Παρατηρούμε ότι όπου υπάρχει ένας γαλακτωματοποιητής (casein, tween, whey) μας δίνει μεγαλύτερα μεγέθη σωματιδίων απ' ότι αν συνδυάζαμε δυο ή περισσότερους μαζί.

Το palm oil δίνει σχετικά μεγαλύτερα μόρια στην FFF και μικρότερα το corn oil και τα πιο μικρά το sesame αν και ένα δείγμα δεν είναι αντιπροσωπευτικό.

Το tween όταν συνδυάζεται με palm oil μας δίνει μεγάλα σε μέγεθος μόρια ενώ με corn oil έχει καλύτερα αποτελέσματα (πιο μικρά μόρια) ειδικά σε μεγαλύτερη συγκέντρωση. Βέλτιστος συνδυασμός 4% tween με corn oil.

Το whey σε όλα τα παραδείγματα συνδυάστηκε με corn oil και έδωσε μικρότερα σε μέγεθος μόρια σε υψηλές συγκεντρώσεις. Το 4% whey με corn oil είναι το μικρότερο δείγμα από τα 12, ενώ σε συγκεντρώσεις 1% και 2% δώσανε αρκετά μεγάλα σε μέγεθος μόρια.

Οι συνδυασμοί tween με corn oil δίνουν μεγαλύτερα μόρια απ' ότι το whey με corn oil το οποίο έχει φανερά καλύτερα αποτελέσματα.

Η casein σκέτη με palm oil δίνει σχετικά μεγάλο μέγεθος.

Το sesame oil σε συνδυασμό και με τους τρεις γαλακτωματοποιητές έδωσε αρκετά καλά αποτελέσματα (τα δεύτερα πιο μικρά σε μέγεθος μόρια).

Το δείγμα 3 (2% whey, corn oil) και το δείγμα 10 (1% whey, corn oil) είχαν αρκετά υψηλές θέσεις και στις δυο μεθόδους μέτρησης άρα γενικά ο συνδυασμός αυτός δίνει μεγάλου μεγέθους σωματίδια.

4.4.2 Βασικές παρατηρήσεις από τα αποτελέσματα της δυναμικής σκέδασης φωτός

Εδώ πιο ξεκάθαρα παρατηρείται διαχωρισμός ως προς την λειτουργία του whey, της casein και του tween. Αρχικά το δείγμα που εμπεριέχει μόνο casein έχει το μεγαλύτερο μέγεθος μορίων άρα είναι το χειρότερο δείγμα από τις μετρήσεις.

Στην συνέχεια το whey είτε μόνο του είτε σε συνδυασμό με casein δίνει μεγάλα σε μέγεθος μόρια ενώ το δείγμα που περιέχει και whey και tween είναι το καλύτερο σε απόδοση από όλα τα δείγματα που έχουν whey.

Το tween δίνει τα πιο μικρά σε μέγεθος μόρια που σημαίνει ότι έχει και το καλύτερο αποτέλεσμα γιατί ανεξάρτητα από το εάν έχουμε χρησιμοποιήσει για φάση ελαίου palm ή corn oil, τα δείγματα με tween δείχνουν να μην έχουν την τάση για συσσωμάτωση και σχηματισμό μεγάλων μορίων.

Όταν το tween χρησιμοποιείται μόνο του δίνει καλύτερα αποτελέσματα από ότι όταν σε συνδυασμό με casein και ακόμα χειρότερο αποτέλεσμα όταν συνδυάζεται με whey.

Τέλος όσο πιο πολύ αυξάνει η συγκέντρωση του tween στο δείγμα, τόσο πιο μικρά είναι σε μέγεθος τα σωματίδια, δηλαδή το 2% tween > 3% tween > 4% tween.

Άρα ο καλύτερος συνδυασμός γαλακτωματοποιητικής ουσίας και ελαίου με την καλύτερη απόδοση σε επιθυμητό μέγεθος μορίων δίνεται από το **tween με corn oil** και όσο αυξάνουμε την συγκέντρωση του πρώτου έχουμε και καλύτερα ακόμα αποτελέσματα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Buffham B.A. (1996). Model-Independent Aspects of Field–Flow Fractionation Theory, Department of Chemical Engineering, Loughborough University of Technology, England. Journal of Colloid and Interface Science, 181, p. 490-502.

Giddings J.C. (1976). Field-flow fractionation: Extending the molecular weight range of liquid chromatography to one trillion (10^{12}). Journal of Chromatography 125, p. 3-16

Giddings J.C. (1990). Hydrodynamic relaxation and sample concentration in field-flow fractionation using permeable wall elements. Analytical Chemistry, 62, p. 2306-2312.

Glantz M., Hakansson A., Mansson H., Paulsson M., Nilsson L. (2010). Revealing the size, conformation and shape of Casein Micelles and Aggregates with Asymmetrical Flow Field Flow Fractionation and Multiangle Light Scattering. Langmuir, Lund, Sweden.

Guyomarch F., Violleau F., Surel O., Famelart M.H., (2010). Characterization of Heat-induced Changes in Skim Milk Using Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation Coupled with Multiangle Laser Light Scattering. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58, p. 12592-12601.

Hunter R.J. (2001) Foundations of Colloid Science, Oxford, University Press, New York.

Jussila M.A., Yohannes G., Riekkola M. (1997). Flow Field-Flow Fractionation in the Study of Dairy Products. Laboratory of Analytical Chemistry, Department of Chemistry, University of Helsinki, Finland.

Kang D.Y., Moon J., Lee S. (2011). Comparison of size-exclusion Chromatography and Flow Field-Flow Fractionation for Separation of Whey Proteins. Department of Chemistry, Hannam University, Korea.

Kenta S., Raikos V., Vagena A., Sevastos D., Kapolos J., Koliadima A., Karaiskakis G..(2013). Kinetic study of aggregation of milk protein and surfactant-stabilized oil-in-water emulsions by Sedimentation Field Flow Fractionation. Journal of Chromatography A, 1305, p.221-229.

Kruif C., Huppertz T., Urban V., Petukhov A. (2012). Advances in colloid and interface science, p. 36-52.

Liu L., Cai X., Zhang J., Xu C. (2015). Particle size measurements in a micro-channel with image Dynamic Light Scattering method. Procedia Engineering 102, p. 904-910.

www.malvern.co.uk, «Mastersizer 2000», Malvern instruments, 2009, Malvern, U.K.

Mulvihill D. M., & Murphy P. C., (1991). Surface active and emulsifying properties of caseins as influenced by state of aggregation. International Dairy Journal, p. 13-37.

Nilsson L. (2013). Separation and characterization of food macromolecules using field-flow fractionation: A review. *Food Hydrocolloids* 30, p. 1-11.

Swaisgood H.E. , (1996). Characteristics of milk. *Food Chemistry*, p. 841-873. New York.

Raikos V. (2009). Effect of heat treatment on milk protein functionality at emulsion interfaces, a Review. *Food hydrocolloids*, 24, p. 259-265.

Schimpf M.E., Caldwell K.D., Giddings J. (2000). *Field-flow Fractionation Handbook*. Wiley-Interscience, New York.

Raikos V., Kapalos J., Farmakis L., Koliadima A., Karaiskakis G. (2009). The use of sedimentation field-flow fractionation in the size characterization of bovine milk fat globules as affected by heat treatment. *Food Research International*, 42, p. 659-665.

Roda B., Zattoni A., Reschiglian P., Mirasoli M., Michelini E. (2009). Field-flow Fractionation in bioanalysis: A review of recent trends. *Analytica Chimica Acta*, 635, p. 132-143.

Runyon J.R., Ulmius M., Nilsson L. (2014). A perspective on the characterization of colloids and macromolecules using asymmetrical flow field-flow fractionation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 442, p. 25-33.

Saeseaw S., Shiowatana J., Siripinyanond A. (2005). Sedimentation field-flow fractionation: Size characterization of food materials. Food Research International p.777-786. Department of Chemistry, Mahidol University, Thailand.

Schimpf M., Caldwell K., Giddings J.C. (2000). Field-flow fractionation Handbook. John Wiley and sons, Canada.

Shiowatana J., Saeseaw S., Siripinyanond A. (2006). Observation of salt-induced β -lactoglobulin aggregation using sedimentation field-flow fractionation. Original paper, Department of Chemistry, Mahidol University, Thailand.

Xu Renliang. (2014). Light scattering: A review of particle characterization applications. Particology, micromeritics Instrument Corporation, USA.

Καμινारीδης Σ., Μοάτσου Γ.(2009). Γαλακτοκομία. Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα.

Κέντα Σ. (2011). Φυσικοχημική μελέτη της σταθερότητας γαλακτωμάτων πρωτεϊνών γάλακτος με την τεχνική της Μονοφασικές Χρωματογραφίας Πεδίου. Πανεπιστήμιο Πατρών, τμήμα Χημείας.

Παπαδοπούλου Χ., Πανακίδης Θ..(2009). Συγκριτική μελέτη κοσκίνησης και σκέδασης του φωτός, ως μέθοδοι προσδιορισμού μεγέθους σωματιδίων σε αλεύρι. ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης, τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων.

Παναγιώτου Κ. (1998). Διεπιφανειακά Φαινόμενα και Κολλοειδή Συστήματα. Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη.

Πετεκίδης Γ. (2005). Στοιχεία Κολλοειδών Διασπορών. Πανεπιστήμιο Κρήτης, τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Υλικών.

Πολίτη Κ., (2012). Μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας και του pH στην καταλυτική δραστηριότητα στελεχών ζύμης *Saccharomyces Cerevisiae*. Πανεπιστήμιο Πατρών.

Τσιπλακίδης Δ. (2006). Κολλοειδή. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, σχολή Θετικών Επιστημών, τμήμα Χημείας.

Φιωτάκης Κ.(2014). Στοιχεία χημείας, κεφάλαιο Γαλακτώματα, σελ. 23-26.

Χατζηϊωάννου Θ.Π. (2010), Ενόργανη Ανάλυση, Αθήνα, Πανεπιστήμιο Αθηνών