

# Γενικές οδηγίες

**Να φοράτε την εργαστηριακή ποδιά ανά πάσα στιγμή στο εργαστήριο.**

**Τα φαγητά και τα ποτά απαγορεύονται αυστηρά στο εργαστήριο.** Ρωτήστε έναν βοηθό εργαστηρίου, αν θέλετε να πιείτε ή να πάτε στην τουαλέτα.

Να μην κοιτάζετε απευθείας τη δέσμη του λέιζερ όσο δουλεύετε με αυτό.

Είναι ιδιαίτερα σκόπιμο να φοράτε γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά όταν χειρίζεστε χημικές ουσίες.

Ελαττωματικός και σπασμένος εξοπλισμός θα πρέπει να αντικατασταθεί από ένα βοηθό εργαστηρίου, αν του το ζητήσετε. Παρ' όλα αυτά αναμένεται χυμένα υγρά να καθαριστούν από εσάς.

Να συμπεριφέρεστε κατά τη διάρκεια των πειραμάτων φιλικά προς το περιβάλλον! Παρακαλώ βρείτε τους κατάλληλους κάδους για απόρριψη των παραγόμενων απόβλητων – για χαρτί, πλαστικό, μέταλλο, γυαλί ή υγρά απόβλητα!

Όλα τα χρησιμοποιημένα χαρτιά, συμπεριλαμβανομένων των πρόχειρων χαρτιών εργασίας, πρέπει να παραμείνουν πάνω στον πάγκο στο τέλος του πειράματος.

**Όλα τα αποτελέσματα πρέπει τελικά να γραφούν στο κίτρινο τετράδιο απαντήσεων σας (ή τα αρχεία Excel).**

Παρακαλούμε να αποθηκεύσετε όλα τα αρχεία με τα πειραματικά δεδομένα σας στην επιφάνεια εργασίας του φορητού υπολογιστή της ομάδας σας!

**Μόνο το κίτρινο φύλλο απαντήσεων και τα αρχεία Excel θα διορθωθούν.**

Το πείραμα αποτελείται από τρεις δραστηριότητες και μπορεί να ολοκληρωθεί είτε ατομικά είτε ομαδικά.

# Ημέρα Γάλακτος

Το γάλα είναι ένα φυσικό προϊόν το οποίο περιέχει πρωτεΐνες, λιπίδια και υδρογονάνθρακες (κυρίως λακτόζη) σε κολλοειδή διασπορά (αιωρούμενη μορφή). Σήμερα, η δραστηριότητά σας είναι να διερευνήσετε τα παραπάνω συστατικά του γάλακτος σε ένα εργαστήριο χρησιμοποιώντας φυσικές, χημικές και βιολογικές μεθόδους. Η εργασία σας χρηματοδοτείται από την εταιρία cowBOOM. Η cowBOOM προτίθεται να προωθήσει μια σειρά από ειδικευμένα προϊόντα γάλακτος. Οι μελέτες σας θα βοηθήσουν στην προσδιορισμό των διαφορετικών ιδιοτήτων από δείγματα γάλακτος ώστε να διατεθούν στην αγορά.

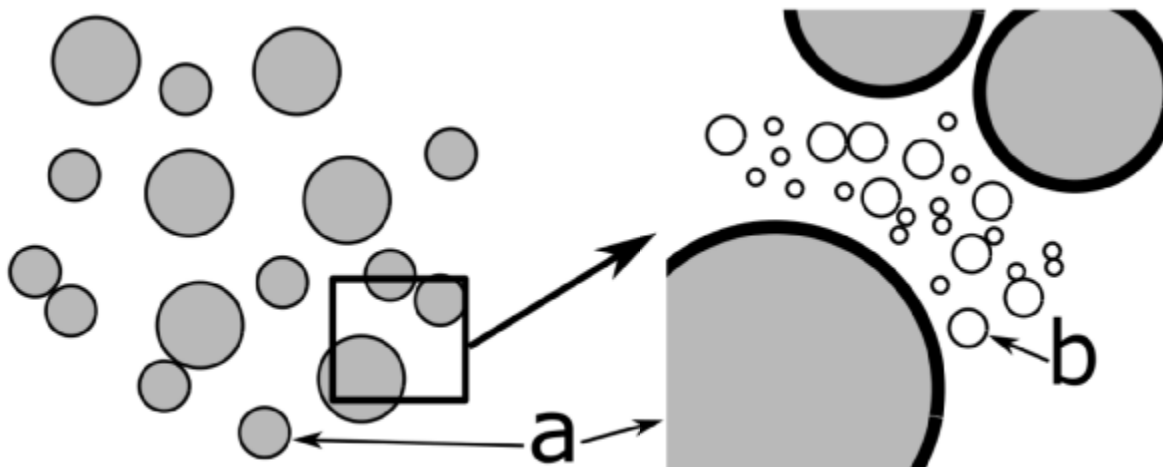
Προσοχή: Οι σελίδες 2, 14 και 30 είναι όμοιες.

## Γενικά υλικά:

- φορητός υπολογιστής
- στυλό
- 2 αδιάβροχοι μαρκαδόροι
- 2 μολύβια (το μηχανικό μολύβι είναι για τη Δραστηριότητα A.1)
- χάρακας
- ψαλίδι
- μεγάλη και μικρή τσιμπίδα
- Αυτοκόλλητα χαρτάκια (Post-it papers)
- ρολόι
- υπολογιστική μηχανή (κομπιουτεράκι)
- αποσταγμένο νερό water (μπουκάλι 500 mL)
- γυαλιά ασφαλείας
- χαρτομάντιλα
- κάδος για χαρτί (σηματοδοτημένος με μπλε χρώμα)
- κάδος για πλαστικά (σηματοδοτημένος με κίτρινο χρώμα)
- κάδος για γυαλί (σηματοδοτημένος με πράσινο χρώμα)
- κίτρινος κάδος για υγρά απορρίμματα

## Δραστηριότητα A.1 Λίπος στο γάλα

Το γάλα είναι ένα φυσικό κολλοειδές γαλάκτωμα από σφαιρίδια λίπους, καθώς επίσης και ένα υδροκολλοειδές εναιώρημα μικκυλίων καζεΐνης, διεσπαρμένο σε ένα υδατικό διάλυμα (Σχήμα 1.1). Κάθε σφαιρίδιο λίπους περιβάλλεται από μια μεμβράνη, η οποία εμποδίζει τα μεμονωμένα σφαιρίδια από το να ενωθούν. Η περιεκτικότητα όγκο κατ' όγκο, το περιεχόμενο και το μέγεθος αυτών των σωματιδίων επηρεάζουν σημαντικά τις ιδιότητες των γαλακτοκομικών προϊόντων.



**Σχήμα 1.1.** Σφαιρίδια λίπους (a) και μικκύλια καζεΐνης (b) στο γάλα.

Το μέγεθος των σφαιριδίων λίπους γάλακτος (τα μικροσκοπικά σταγονίδια λίπους) κυμαίνεται από 1 έως 15  $\mu\text{m}$ , ανάλογα με τη φυλή αγελάδας και την εποχή. Το γάλα εμπορίου είναι συνήθως ομογενοποιημένο – δηλαδή τα σφαιρίδια λίπους του φυσικού γάλακτος μηχανικά σπάζονται σε μικρότερα σταγονίδια, έτσι ώστε να μην μπορούν να επιπλέουν στην κορυφή και να σχηματίσουν ένα στρώμα κρέμας.

Όταν το φως περνά μέσα από το γάλα, διαχέεται από τα σφαιρίδια λίπους και από τα καζεϊνικά μικκύλια του γάλακτος μέσω της σκέδασης και της περίθλασης. Η σκέδαση μειώνει τη διαφάνεια του γάλακτος και αποδυναμώνει το φως που διέρχεται μέσα από ένα στρώμα γάλα. Σε αυτή τη δραστηριότητα, διαφορετικά φαινόμενα σκέδασης φωτός χρησιμοποιούνται για τη μελέτη του μεγέθους και της συγκέντρωσης των μικροσκοπικών σωματιδίων.

### **Δείγματα**

- Πρότυπα μικροσφαιρίδια γυαλιού σε ένα σωλήνα, με την ένδειξη " Glass"
- Δείγματα γάλακτος σε σωλήνες που επισημαίνονται με τα γράμματα «Κ», «L», «Μ» και «Ν».

Σωλήνες που περιέχουν γάλα με διαφορετικές ιδιότητες (με τυχαία σειρά):

φυσικό (μη ομογενοποιημένο) γάλα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 3,7%,

ομογενοποιημένο γάλα με περιεκτικότητα 3,7% σε λιπαρά

φυσικό (μη ομογενοποιημένο) γάλα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 2,0%

ομογενοποιημένο γάλα με περιεκτικότητα 2,0% λιπαρά

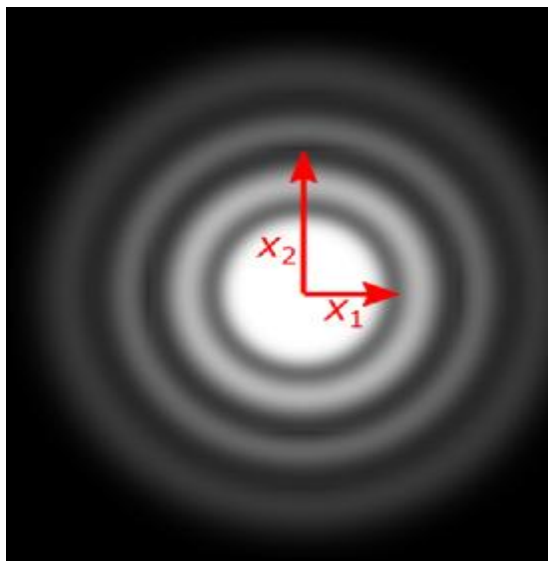
### **Λίστα απαραίτητου εξοπλισμού:**

- Στήριγμα με ένα πράσινο λέιζερ (μήκος κύματος  $\lambda = 532 \text{ nm}$ ), στήριγμα για το δείγμα, και μια οθόνη
- 14 αντικειμενοφόρες πλάκες μικροσκοπίου
- Αυτόματη πιπέτα και αναλώσιμες μύτες
- 4 συνδετήρες
- Χαρτί για κατασκευή οδηγών (για καθορισμό του πάχους στρώματος γάλακτος)
- Αντικείμενο για δοκιμή (ένα φύλλο χαρτί με τυπωμένο κείμενο)

## **Δραστηριότητα A.1.1 Εκτίμηση μεγέθους σωματιδίων με χρήση του φαινομένου της περίθλασης του φωτός**

### **A.1.1.1 Εκτίμηση του μεγέθους μικροσκοπικών γυάλινων σφαιρών**

Στη δραστηριότητα αυτή θα εκτιμηθεί το μέγεθος τυπικών γυάλινων σφαιρών (σφαιριδίων) με παρατήρηση της εικόνας περίθλασης (diffraction pattern) που δημιουργείται σε μια οθόνη. Όταν φως λέιζερ περνάει μέσα από μια ουσία που περιέχει μικρά σωματίδια και μετά πέφτει σε μια οθόνη, δημιουργείται μια εικόνα με ένα φωτεινό κεντρικό στίγμα που περιβάλλεται από ομόκεντρους κυκλικούς δακτυλίους (σχήμα 1.2).



**Σχήμα 1.2.** Περίθλαση του φωτός από μονοδιεσπαρμένες (δηλαδή ίσου μεγέθους) σφαίρες. Οι αποστάσεις από το κέντρο μέχρι το πρώτο και το δεύτερο ελάχιστο ονομάζονται  $x_1$  και  $x_2$  αντίστοιχα.

Η γωνιακή κατανομή του σκεδαζόμενου φωτός στην οθόνη εξαρτάται από το μέγεθος των σκεδαζόντων σωματιδίων στο δείγμα. Για μικρές γωνίες περίθλασης, η διάμετρος  $D$  των σφαιρικών σωματιδίων μπορεί να εκτιμηθεί από την εικόνα περίθλασης που προκαλούν χρησιμοποιώντας τον τύπο

$$x_k = k \lambda \frac{D}{2} \quad (\text{Τύπος 1.1})$$

όπου  $\lambda$  είναι το μήκος κύματος του λέιζερ,  $x_k$  είναι η απόσταση από το αντικείμενο (δείγμα) μέχρι την εικόνα περίθλασης πάνω στην οθόνη και  $x_0$  είναι η απόσταση (πάνω στην οθόνη) από το κέντρο της εικόνας περίθλασης μέχρι κάποιο ελάχιστο περίθλασης. Ο συντελεστής  $k_i$  είναι διαφορετικός για κάθε ελάχιστο περίθλασης: ο  $k_1$  ισούται με 1,22 για το πρώτο ελάχιστο περίθλασης (πρώτος σκοτεινός κύκλος από το κέντρο) και ο  $k_2$  ισούται με 2,23 για το δεύτερο ελάχιστο περίθλασης.

### **Πειραματική διαδικασία:**

1. Ευθυγραμμίστε το πράσινο λέιζερ, το στήριγμα του δείγματος και την οθόνη στην οπτική τράπεζα. Σύμφωνα με τον χάρακα της οπτικής τράπεζας, η κατά προσέγγιση αρχική θέση του ανοίγματος του λέιζερ (από το οποίο το φως εξέρχεται από το λέιζερ) πρέπει να είναι στα 40 cm, το δείγμα στα 48 cm και η οθόνη στα 80 cm.
2. Παρασκευάστε δείγμα τοποθετώντας την πούδρα από γυάλινες σφαίρες από τον σωλήνα με την ένδειξη "Glass" στο κέντρο μιας αντικειμενοφόρου πλάκας. Τοποθετήστε μια άλλη αντικειμενοφόρο πλάκα πάνω από την πρώτη και πιέστε τις πλάκες μεταξύ τους με δύο συνδετήρες.
3. Εισάγετε/Τοποθετήστε το δείγμα που παρασκευάσατε μέσα στο στήριγμα του δείγματος.
4. Ενεργοποιήστε το πράσινο λέιζερ. Βεβαιωθείτε ότι το φως περνά μέσα από το δείγμα και πέφτει πάνω στην οθόνη.

5. Μετακινήστε το λέιζερ και την οθόνη σχετικά μεταξύ τους ώστε να βλέπετε τα πιο ευκρινή μέγιστα και ελάχιστα περίθλασης. Εάν είναι απαραίτητο, χρησιμοποιήστε ένα φύλλο χαρτιού ως σκίαστρο για να βελτιώσετε τις συνθήκες παρατήρησης!
6. **Αν το φως του λέιζερ είναι πολύ αδύναμο για να παρατηρηθεί οποιαδήποτε εικόνα στην οθόνη, ένας βοηθός εργαστηρίου μπορεί να παράσχει μια νέα μπαταρία ή να αλλάξει το λέιζερ (δεν υπάρχουν μονάδες ποινής).**

**A.1.1.1.1** Παρατηρήστε την εικόνα περίθλασης στην οθόνη. Σχεδιάστε το κατά προσέγγιση διάγραμμα της έντασης του φωτός σε σχέση με τη μετατόπιση από το κέντρο της εικόνας. Επιπλέον, σημειώστε τις θέσεις των παρατηρούμενων ελαχίστων περίθλασης και στο διάγραμμα.

**A.1.1.1.2** Μετρήστε (3 φορές) την απόσταση από το κέντρο της δέσμης λέιζερ μέχρι το πρώτο και το δεύτερο ελάχιστο περίθλασης. Για μεγαλύτερη ακρίβεια στις μετρήσεις, μετρήστε τη διάμετρο των δακτυλίων που αντιστοιχούν στο πρώτο και δεύτερο ελάχιστο και διαιρέστε διά δύο. Μετρήστε επίσης την απόσταση  $L$  από το δείγμα μέχρι την οθόνη. (Κάθε φορά μπορείτε να αλλάζετε τις θέσεις του λέιζερ, του δείγματος και της οθόνης ώστε να επιτύχετε την καλύτερη εικόνα περίθλασης. Μπορείτε να επιλέξετε από ποια πλευρά της οθόνης θα μετρήσετε τις θέσεις των μεγίστων και των ελαχίστων περίθλασης.). Καταγράψτε τα αποτελέσματα στον πίνακα!

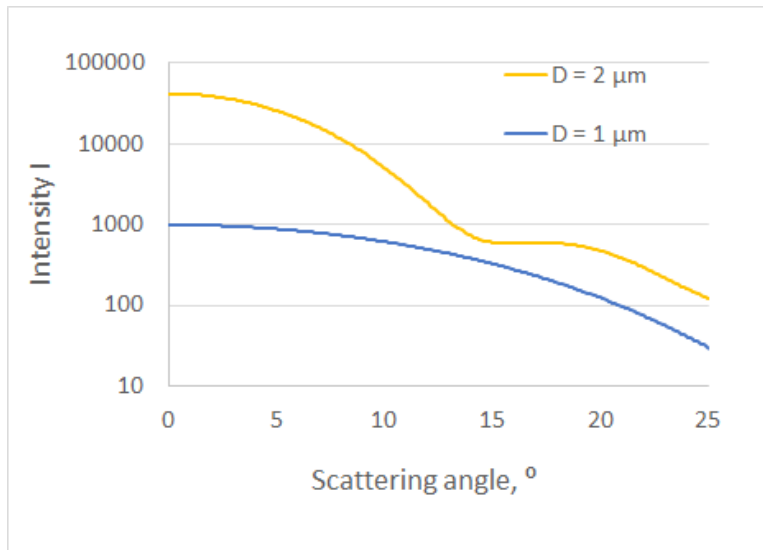
**ΝΑ ΑΠΕΝΕΡΓΟΠΟΙΕΙΤΕ ΤΟ LASER όποτε δεν το χρησιμοποιείτε!**

**A.1.1.1.3** Υπολογίστε τις τιμές της διαμέτρου των γυάλινων σφαιριδίων (χρησιμοποιώντας τον τύπο 1.1) που προκύπτουν από τις τρεις μετρήσεις του πρώτου και τις τρεις μετρήσεις του δεύτερου ελαχίστου περίθλασης.

**A.1.1.1.4** Υπολογίστε τη μέση διάμετρο των γυάλινων σφαιρών.

**A.1.1.2 Εκτιμώντας το κατά προσέγγιση μέγεθος σωματιδίων γάλακτος**

Σε αντίθεση με τις γυάλινες σφαίρες, ένα λεπτό στρώμα γάλακτος δεν σκεδάζει το φως με τρόπο που να δημιουργεί σαφείς δακτύλιους περίθλασης, διότι όλα τα σφαιρίδια λίπους του γάλακτος δεν είναι ίσου μεγέθους. Η ένταση του σκεδαζόμενου φωτός στην οθόνη θα εξασθενίσει ομαλά με την απόσταση από το κέντρο της δέσμης λέιζερ.



**Σχήμα 1.3.** Παράδειγμα της γωνιακής κατανομής της έντασης του σκεδαζόμενου φωτός για σωματίδια διαφορετικής διαμέτρου  $D$ .

Ακόμα, το πλάτος της φωτιζόμενης περιοχής και η μεταβολή της έντασης του φωτός με τη γωνία σκέδασης εξαρτώνται από τη διάμετρο των σφαιριδίων λίπους στο γάλα (βλέπε Σχήμα 1.3 για ένα δείγμα κατανομής).

#### **Πειραματική διαδικασία:**

1. Όπως περιγράφεται στα παρακάτω βήματα 2 έως 5, παρασκευάστε ένα δείγμα από γάλα στο σωλήνα «Κ», το οποίο είναι ένα φυσικό μη-ομογενοποιημένο γάλα με περιεκτικότητα 3,7% σε λιπαρά.
2. Αναστρέψτε τον σωλήνα απαλά για την ανάμειξη του γάλακτος (ώστε να μην δημιουργηθούν φυσαλίδες) πριν από τη μεταφορά του στην πιπέτα. Χρησιμοποιήστε την αυτόματη πιπέτα για να ρίξετε 10 μL γάλακτος από τον σωλήνα "Κ" στο κέντρο μιας αντικειμενοφόρου πλάκας που σημειώνεται με "Κ".
3. Θα χρησιμοποιήσετε χαρτί ως οδηγό για να καθορίσετε το πάχος του στρώματος του γάλακτος μεταξύ των αντικειμενοφόρων πλακών. Κόψτε κατάλληλες λωρίδες χαρτιού από ένα φύλλο και τοποθετήστε τις και από τις δύο πλευρές του σταγονιδίου του γάλακτος. (Το χαρτί (paper spacer) θα εμποδίσει τις πλάκες να έρθουν σε επαφή μεταξύ τους.)
4. Καλύψτε την αντικειμενοφόρο πλάκα με μια άλλη με την ένδειξη "Κ".
5. Πιέστε προσεκτικά τις πλάκες μεταξύ τους χρησιμοποιώντας δύο συνδετήρες.
6. Αναδιατάξτε την πειραματική διάταξη: πάνω στην οπτική τραπέζα τοποθετήστε το στήριγμα του δείγματος και την οθόνη όσο πιο κοντά μεταξύ τους.
7. Τοποθετήστε το παρασκευασμένο δείγμα γάλακτος στο στήριγμα του δείγματος.

8. Ενεργοποιήστε το πράσινο λέιζερ. Βεβαιωθείτε ότι το φως περνά μέσα από το δείγμα και πέφτει πάνω στην οθόνη. Μετακινήστε το λέιζερ και το στήριγμα του δείγματος ώστε να πάρετε μια καλά παρατηρήσιμη φωτισμένη περιοχή του σκεδασμένου φωτός στην οθόνη. (Μπορείτε να επιλέξετε από ποια πλευρά της οθόνης θα παρατηρήσετε και θα μετρήσετε τη φωτισμένη περιοχή. Χρησιμοποιήστε ένα φύλλο χαρτιού ως σκίαστρο, εάν είναι απαραίτητο.)

**A.1.1.2.1** Παρατηρήστε τη φωτισμένη περιοχή στην οθόνη. Σχεδιάστε το κατά προσέγγιση διάγραμμα της έντασης του φωτός σε συνάρτηση με τη μετατόπιση από τον άξονα της δέσμης. Σημειώστε την απόσταση  $x_{milk}$  (που θα μετρήσετε στο A.1.1.2.2) στο διάγραμμα.

**A.1.1.2.2** Προσδιορίστε κατά προσέγγιση την απόσταση  $x_{milk}$  από τον άξονα της δέσμης στην άκρη της φωτεινής περιοχής. Για το σκοπό αυτό, μετρήστε το πλάτος της φωτεινής περιοχής και διαιρέστε το διά δύο. Επίσης, μετρήστε την απόσταση  $L_{milk}$  από το δείγμα μέχρι την οθόνη.

#### **ΑΠΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΤΕ ΤΟ LASER!**

**A.1.1.2.3** Εκτιμήστε το κατά προσέγγιση μέγεθος των σφαιριδίων λίπους γάλακτος. Χρησιμοποιήστε τις παραμέτρους που μετρήθηκαν στη δραστηριότητα A.1.1.2.2 για να υπολογίσετε τη διάμετρο των σφαιριδίων λίπους γάλακτος  $D_{milk}$  από τον τύπο 1.1. Χρησιμοποιήστε την τιμή  $k = 2,23$ .

### **A.1.2 Χαρακτηρίζοντας το γάλα παρατηρώντας τη διαφάνειά του**

Σε αυτή τη δραστηριότητα θα συγκρίνετε τέσσερα δείγματα γάλακτος (**K, L, M και N** που περιγράφονται στην αρχή της Δραστηριότητας A.1), προκειμένου να προσδιοριστούν συγκεκριμένες ιδιότητές τους.

Κατά την εξέταση ενός αντικείμενου (π.χ. δακτυλογραφημένο κείμενο) μέσα από ένα λεπτό στρώμα γάλακτος, το αντικείμενο φαίνεται λιγότερο καθαρό και λιγότερο ορατό. Το φως που ανακλάται από το αντικείμενο σκεδάζεται σε σφαιρίδια λίπους γάλακτος καθώς περνά μέσα από το γάλα. Το σκεδασμένο φως εμφανίζεται ομιχλώδες, κάνοντας το παρατηρούμενο αντικείμενο, λιγότερο ορατό. Η διαφάνεια του στρώματος του γάλακτος μειώνεται, όταν η σκέδαση αυξάνεται.

Ένα κβάντο φωτός σκεδάζεται όποτε χτυπά ένα σφαιρίδιο εμβαδού διατομής, όπου είναι η διάμετρος του σφαιριδίου. Ο βαθμός σκέδασης σε ένα λεπτό στρώμα γάλακτος πάχους εξαρτάται τόσο από την περιεκτικότητα σε λίπος του γάλακτος (περιεκτικότητα όγκο κατ' όγκο του γάλακτος σε σφαιρίδια λίπους) όσο και από το μέσο μέγεθος (διάμετρο  $D$ ) των σφαιριδίων λίπους. Όταν ένα λεπτό στρώμα γάλακτος φωτίζεται από φως έντασης, τότε η ένταση του σκεδαζόμενου φωτός μπορεί να περιγραφεί από τη σχέση:



(Τύπος 1.2)

**A.1.2.1** Βρείτε θεωρητικά, ποιο από τα τέσσερα δείγματα γάλακτος που περιγράφονται στον πίνακα 1.1 θα παρουσιάζει την ισχυρότερη και ποιο την ασθενέστερη σκέδαση. Τα δείγματα περιέχουν ομογενοποιημένο και φυσικό (μη - ομογενοποιημένο) γάλα (όπου ) δύο διαφορετικών περιεκτικότητας σε λίπος (όπου ).

**Πίνακας 1.1.** Χαρακτηριστικά των δειγμάτων γάλακτος 1-4.

Δείγμα	μέγεθος σφαιριδίου	περιεκτικότητα σε λίπος
1		$\gamma_1$
2		$\gamma_2$
3		$\gamma_1$
4		$\gamma_2$

**Πειραματική διαδικασία:**

1. Πάρτε 8 αντικειμενοφόρες πλάκες (πλάκες μικροσκοπίου), και ονομάστε ζεύγη πλακών με τα γράμματα **K, L, M**, και **N**.
2. Βάλτε τέσσερις πλάκες κοντά μεταξύ τους στο φύλλο χαρτιού με τυπωμένο κείμενο (test object).
3. Ετοιμάστε δείγματα γάλακτος **K, L, M και N**, όπως περιγράφεται για τον σωλήνα **K** στα βήματα 1-4 στην πειραματική διαδικασία της δραστηριότητας Task A.1.1.2.
4. Συγκρίνετε την ορατότητα του τυπωμένου κειμένου μέσα από τα δείγματα **K, L, M και N**.

**A.1.2.2** Παρατηρήστε το κείμενο μέσα από τα στρώματα του γάλακτος και προσδιορίστε τα δύο δείγματα που εμφανίζουν την ισχυρότερη και την ασθενέστερη σκέδαση (τη μικρότερη και την μεγαλύτερη ορατότητα, αντίστοιχα). Αναγνωρίστε τις ιδιότητες των δύο επιλεγμένων **δειγμάτων**, λαμβάνοντας υπόψη την περιγραφή των δειγμάτων στην αρχή της Δραστηριότητας A.1, καθώς και τα αποτελέσματα της Δραστηριότητας A.1.2.1.

**A.1.2.3 Συνοψίστε** την αναγνώριση/ταυτοποίηση των δειγμάτων γάλακτος στον πίνακα. Αποφασίστε πώς κάθε ένα από τα δείγματα **K, L, M και N** έχει επεξεργαστεί και ποια είναι η περιεκτικότητά του σε λίπος. Να λάβετε υπόψη σας τις προηγούμενες απαντήσεις σας και χρήσιμες πληροφορίες που δίνονται στο κείμενο.

### **Δραστηριότητα A.1.3 Εκτίμηση του μεγέθους των σφαιριδίων λίπους γάλακτος από τη μέτρηση της εξασθένησης του φωτός**

Στη Δραστηριότητα A.1.2 διερευνήσατε το σκεδαζόμενο φως από ένα λεπτό στρώμα γάλακτος. Εδώ θα μετρήσετε το κλάσμα του φωτός που μπορεί να περάσει μέσα από ένα παχύ στρώμα νερού, που περιέχει μια μικρή ποσότητα γάλακτος. Σε καθαρό νερό, οι ακτίνες του φωτός μπορούν να κινηθούν ελεύθερα, σε ευθεία πορεία. Αν προσθέσουμε γάλα στο νερό, τα σφαιρίδια λίπους μπαινούν στην πορεία των ακτίνων του φωτός και παρενοχλούν την κίνησή τους κατά μήκος της αρχικής ευθύγραμμης πορείας τους. Όσο μεγαλύτερη είναι η διαδρομή που το φως έχει να ταξιδέψει μέσα από ένα μέσο που περιέχει σωματίδια, τόσο υψηλότερη είναι η πιθανότητα η ακτίνα φωτός να χτυπήσει ένα σωματίδιο. Το κλάσμα του ελεύθερα διαδιδόμενου φωτός μπορεί να περιγραφεί από τον νόμο Beer-Lambert:

$$I = I_0 e^{-\mu x} \quad (\text{Τύπος 1.3})$$

όπου  $I$  είναι η ένταση του διαδιδόμενου φωτός,  $I_0$  είναι η ένταση του προσπίπτοντος φωτός,  $\mu$  είναι ο αριθμός των σωματιδίων ανά μονάδα όγκου,  $x$  είναι το πάχος του στρώματος, και  $e$  είναι το εμβάδόν της διατομής ενός μεμονωμένου σωματιδίου. Υποθέτοντας ότι όλα τα σφαιρίδια λίπους στο γάλα έχουν την ίδια διάμετρο, το καθένα από αυτά λειτουργεί ως ένα σφαιρικό εμπόδιο με εμβασμό διατομής

#### (Τύπος 1.4)

που θα συναντήσει στην πορεία της η ακτίνα του φωτός.

Σε αυτό το πείραμα, θα μετρήσετε την εξασθένιση του φωτός προσθέτοντας γάλα σε ένα δοχείο σταθερού πάχους, αρχικά γεμάτο με καθαρό νερό. Η προσθήκη γάλακτος οδηγεί στην αύξηση του αριθμού των σωματιδίων (σφαιριδίων λίπους), η οποία οδηγεί στη μείωση της έντασης του διερχόμενου φωτός. Ο σκοπός του πειράματος αυτού είναι να μετρηθεί η εξάρτηση της εξασθένισης του φωτός από τη συγκέντρωση του γάλακτος στο νερό, με στόχο να προσδιοριστούν οι αναγκαίες παράμετροι για τον υπολογισμό του μεγέθους των σφαιριδίων λίπους.

Θα χρησιμοποιήσετε ένα λουξόμετρο (Lux – meter, μέτρηση της έντασης του φωτός σε lux) για την ποσοτικοποίηση της έντασης μιας δέσμης λέιζερ που έχει ταξιδέψει μέσα από ένα μέσο που περιέχει σφαιρίδια λίπους. Ωστόσο, ποσότητα φωτός υποβάθρου από το περιβάλλον (όπως το ηλιακό φως που εισέρχεται από τα παράθυρα ή τον φωτισμό του δωματίου) επηρεάζει την ένδειξη του φωτομέτρου. Για να πάρετε την ένδειξη για την ένταση που αντιστοιχεί στην ακτίνα λέιζερ και μόνο, θα πρέπει να αφαιρέσετε την ένδειξη που αντιστοιχεί στο φως υποβάθρου. Λεπτομερείς οδηγίες της διαδικασίας σας δίνονται παρακάτω.

#### **Εξοπλισμός και υλικά:**

- κόκκινο λέιζερ σε μία βάση
- δοχείο νερού (διαβαθμισμένο μπουκάλι 50 mL με μπλε καπάκι)
- λουξόμετρο (Lux – meter, μέτρηση της έντασης του φωτός σε lux) σε βάση
- αυτόματη πιπέτα και αναλώσιμες μύτες
- δείγμα γάλακτος σε σωλήνα με την επισήμανση **K**
- αρχείο Excel "Milk A.1.3 [Country Team A / B].xlsx" στην επιφάνεια εργασίας του φορητού υπολογιστή της ομάδας σας

#### **Πειραματική διαδικασία:**

1. Τοποθετήστε το κόκκινο laser, το δοχείο νερού, και το λουξόμετρο πάνω στο τραπέζι σας, έτσι ώστε η δέσμη λέιζερ να περάσει μέσα από το δοχείο νερού στον δρόμο της προς τον αισθητήρα του λουξομέτρου. **Σημαντικό:** Τοποθετήστε το δοχείο νερού έτσι ώστε η δέσμη laser να εισέρχεται στο δοχείο κάθετα προς την πλευρά του.
2. Τοποθετήστε το δοχείο νερού περίπου 20-40 cm μακριά από το λουξόμετρο.
3. Συνδέστε το κόκκινο λέιζερ σε μια θύρα USB του υπολογιστή σας. Ενεργοποιήστε τον υπολογιστή. Ρυθμίστε τη θέση του λέιζερ, έτσι ώστε η δέσμη φωτός να είναι περίπου οριζόντια.

4. Βεβαιωθείτε ότι η δέσμη λέιζερ εστιάζει (η κηλίδα λέιζερ είναι όσο το δυνατόν μικρότερη) στον αισθητήρα του λουξόμετρου, και ότι εισέρχεται στον αισθητήρα μέσα από την τρύπα που υπάρχει στο μπροστινό μέρος του αισθητήρα. Αν χρειάζεται, ρυθμίστε τον φακό μπροστά από το λέιζερ περιστρέφοντας το καπάκι.
5. Ενεργοποιήστε το λουξόμετρο. Πάρτε μετρήσεις στη κατάλληλη κλίμακα του λουξόμετρου, δηλαδή την κλίμακα με την ένδειξη "**2000**" ή "**20000**".
6. Γεμίστε το δοχείο νερού με απεσταγμένο νερό μέχρι την ένδειξη των 50 mL. Σημειώστε ότι το πάχος του στρώματος του νερού είναι = 25 mm.
7. **Σημαντικό:** Είναι σημαντικό ότι μετά την τοποθέτηση του αισθητήρα φωτός (του λουξόμετρου) και του λέιζερ, οι θέσεις τους να **παραμείνουν σταθερές** για το υπόλοιπο του πειράματος. Αν κατά λάθος μετακινήσατε το λέιζερ ή τον αισθητήρα, καλό είναι να ξεκινήσετε από την αρχή με τις μετρήσεις (αρχίζοντας με καθαρό νερό).

**A.1.3.1** Μετρήστε και καταγράψτε **σε αρχείο Excel** τις εντάσεις φωτός και τον συνολικό όγκο του γάλακτος στο νερό σε κάθε βήμα του πειράματος, όπως περιγράφεται στα βήματα 8-12. Επίσης, καταγράψτε τον όγκο του νερού  $V_0$ .

8. Πάρτε την ένδειξη  $I_0$  του λουξόμετρου που αντιστοιχεί στην ένταση του διερχόμενου φωτός λέιζερ μέσω καθαρού νερού. (Αυτή η ανάγνωση περιλαμβάνει επίσης συνεισφορά από το υπόβαθρο του περιβάλλοντος.) Γράψτε τη μετρημένη τιμή  $I_0$  **στον πίνακα του αρχείου Excel. Σε περίπτωση προβλημάτων με τον υπολογιστή (προβλήματα με το λογισμικό, δεν βρέθηκαν αρχεία, κλπ), να ζητήσετε βοήθεια από έναν βοηθό εργαστηρίου (δεν υπάρχουν μονάδες ποινής).**
9. Πάρτε την ένδειξη  $B_0$ , που αντιστοιχεί στην ένταση του φωτός που προέρχεται από το υπόβαθρο του περιβάλλοντος. Για να γίνει αυτό, αποκόψτε τη δέσμη λέιζερ με το χέρι σας, πάρτε την ένδειξη του λουξόμετρου και γράψτε την τιμή  $B_0$  **στο αρχείο Excel.**
10. Χρησιμοποιώντας μια αυτόματη πιπέτα με μια μύτη, να πάρετε μία ποσότητα γάλακτος όγκου  $V_1 = 20$  mL από τον σωλήνα με την επισήμανση **K**. Προσθέστε γάλα στο δοχείο νερού και αναμίξτε το διάλυμα κλείνοντας το δοχείο και αναστρέφοντάς το μερικές φορές.
11. Βάλτε το δοχείο πίσω στην προηγούμενη θέση του. Μετρήστε και γράψτε **(στο αρχείο Excel)** την ένδειξη του λουξόμετρου, καθώς η δέσμη λέιζερ περνά μέσα από το δοχείο. Αποκόψτε τη δέσμη λέιζερ και γράψτε **(στο αρχείο Excel)** την ένδειξη  $B_1$ , που αντιστοιχεί στο φως υποβάθρου.

12. Επαναλάβετε τη διαδικασία προσθέτοντας κάθε φορά 20 μL γάλακτος στο δοχείο. Μετά την προσθήκη κάθε ποσότητας, αναμείξτε το διάλυμα, καταγράφοντας τον συνολικό όγκο του προστεθέντος γάλακτος, την ένδειξη του λουξομέτρου, και την ένδειξη  $B_i$  του λουξομέτρου (που αντιστοιχεί στην ένδειξη υποβάθρου) **στο αρχείο Excel**. Επαναλάβετε τη διαδικασία μέχρι να προστεθούν 10 σταγονίδια γάλακτος, ή μέχρι οι ενδείξεις  $I_i$  και  $B_i$  γίνουν περίπου ίσες.

**A.1.3.2** Για κάθε μέτρηση (data point), υπολογίστε τη συγκέντρωση όγκο κατ' όγκο  $C_i$  του γάλακτος στο νερό και τον σχετικό συντελεστή διάδοσης. Να κάνετε τους υπολογισμούς **στο αρχείο Excel**.

**A.1.3.3** Σχεδιάστε τη γραφική παράσταση του φυσικού λογαρίθμου του σχετικού συντελεστή διάδοσης σε σχέση με τη συγκέντρωση του γάλακτος στο νερό  $C_i$  (στο **αρχείο Excel**).

**A.1.3.4** Σχεδιάστε τη γραμμή τάσης (trendline) που προκύπτει από τα δεδομένα σας, αν αυτά ακολουθούν μία γραμμική σχέση της μορφής **στο αρχείο Excel**. Βρείτε την αριθμητική τιμή της παραμέτρου. Γράψτε την απόλυτη τιμή της **στο φύλλο απαντήσεων**.

**A.1.3.5** Το δείγμα γάλακτος με την επισήμανση **K** περιέχει ένα κλάσμα όγκου σφαιριδίων λίπους (συνολικός όγκος λίπους στην μονάδα όγκου του γάλακτος)  $\gamma = 0,037$ . Βρείτε μία σχέση για την αριθμητική πυκνότητα  $N_0$  των σφαιριδίων λίπους στο γάλα (αριθμός των σωματιδίων λίπους στη μονάδα όγκου του γάλακτος, σε μονάδες SI) σε συνάρτηση με τη διάμετρο του σφαιριδίου  $D$  και το  $\gamma$ .

**A.1.3.6** Βρείτε μία σχέση για την αριθμητική πυκνότητα των σφαιριδίων λίπους στο μίγμα γάλακτος και νερού σε συνάρτηση με τα (συγκέντρωση γάλακτος σε νερό), (διάμετρος ενός μόνο σφαιριδίου λίπους) και .

**A.1.3.7** Βρείτε μία σχέση για τον υπολογισμό της διαμέτρου των σφαιριδίων λίπους στο δείγμα γάλακτός σας και υπολογίστε την αριθμητική τιμή της. **Υπόδειξη:** Σημειώστε ότι παίρνοντας τον λογαρίθμο του νόμου Beer-Lambert (συζητήθηκε στην εισαγωγή της Δραστηριότητας A.1.3), καταλήγουμε σε μια γραμμική σχέση μεταξύ του λογαρίθμου του συντελεστή διάδοσης και της αριθμητικής πυκνότητας των σωματιδίων (σφαιριδίων λίπους). Χρησιμοποιήστε τα πειραματικά αποτελέσματα για τον υπολογισμό της αριθμητικής τιμής της διαμέτρου των σφαιριδίων λίπους.

# Ημέρα Γάλακτος

Το γάλα είναι ένα φυσικό προϊόν το οποίο περιέχει πρωτεΐνες, λιπίδια και υδρογονάνθρακες (κυρίως λακτόζη) σε κolloειδή διασπορά (αιωρούμενη μορφή). Σήμερα, η δραστηριότητά σας είναι να διερευνήσετε τα παραπάνω συστατικά του γάλακτος σε ένα εργαστήριο χρησιμοποιώντας φυσικές, χημικές και βιολογικές μεθόδους. Η εργασία σας χρηματοδοτείται από την εταιρία cowBOOM. Η cowBOOM προτίθεται να προωθήσει μια σειρά από ειδικευμένα προϊόντα γάλακτος. Οι μελέτες σας θα βοηθήσουν στην προσδιορισμό των διαφορετικών ιδιοτήτων από δείγματα γάλακτος ώστε να διατεθούν στην αγορά.

Προσοχή: Οι σελίδες 2, 14 και 30 είναι όμοιες.

## Γενικά υλικά:

- φορητός υπολογιστής
- στυλό
- 2 αδιάβροχοι μαρκαδόροι
- 2 μολύβια (το μηχανικό μολύβι είναι για τη Δραστηριότητα A.1)
- χάρακας
- ψαλίδι
- μεγάλη και μικρή τσιμπίδα
- Αυτοκόλλητα χαρτάκια (Post-it papers)
- ρολόι
- υπολογιστική μηχανή (κομπιουτεράκι)
- αποσταγμένο νερό water (μπουκάλι 500 mL)
- γυαλιά ασφαλείας
- χαρτομάντιλα
- κάδος για χαρτί (σηματοδοτημένος με μπλε χρώμα)
- κάδος για πλαστικά (σηματοδοτημένος με κίτρινο χρώμα)
- κάδος για γυαλί (σηματοδοτημένος με πράσινο χρώμα)
- κίτρινος κάδος για υγρά απορρίμματα

# ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ A.2 Παρασκευή τυριού και περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες

Το τυρί παράγεται από γάλα μετά από επεξεργασία με ειδικά βακτήρια και ενζυμα από πυτιά, παρουσία  $\text{Ca}^{2+}$ . Η παρασκευή τυριού περιλαμβάνει διάφορα στάδια επεξεργασίας του γάλακτος, όπως η οξίνιση, η πήξη, η αφυδάτωση και τα στάδια ωρίμανσης. Σήμερα, θα μάθετε τις βασικές αρχές της παρασκευής τυριού και θα αποκτήσετε μια εικόνα για τις βιοχημικές και βιοφυσικές παραμέτρους της.

Σε αυτή τη δραστηριότητα, θα παρασκευάσετε τυρί. Εκτός από το γάλα, για την παρασκευή τυριού είναι απαραίτητα άλλα τρία συστατικά:  $\text{CaCl}_2$ , ένα μίγμα πρωτεολυτικών ενζύμων που ονομάζεται πυτιά και μια ειδική καλλιέργεια βακτηρίων που ονομάζεται «αρχικά βακτήρια». Τα βακτήρια παράγουν γαλακτικό οξύ, το οποίο μειώνει το pH στο 5,0 - 6,0 περίπου. Σε χαμηλότερο pH, ορισμένες πρωτεΐνες του γάλακτος που ονομάζονται καζεΐνες αρχίζουν να συσσωματώνονται. Οι αντιδράσεις αυτές προκαλούν την υδρόλυση της καζεΐνης και οδηγούν σε αυξημένη πήξη και στο σχηματισμό τυροπήγματος. Τα ιόντα ασβεστίου προστίθενται στο ακατέργαστο γάλα και διευκολύνουν την περαιτέρω πήξη του, εξουδετερώνοντας την ηλεκτροστατική απώθηση των αρνητικά φορτισμένων μικκυλίων, και έτσι σχηματίζεται ένα παχύτερο τυρόπηγμα. Τα ιόντα ασβεστίου προστίθενται στο ακατέργαστο γάλα και διευκολύνουν την περαιτέρω πήξη του, εξουδετερώνοντας την ηλεκτροστατική απώθηση των αρνητικά φορτισμένων μικκυλίων, και έτσι σχηματίζεται ένα παχύτερο τυρόπηγμα.

Έχετε στη διάθεσή σας όλα τα συστατικά που είναι απαραίτητα για την παραγωγή τυριού:  $\text{CaCl}_2$ , πυτιά (περιέχει ένζυμα) και βακτήρια. Τα διάφορα συστατικά τα έχουμε ονομάσει ως ουσία Α, Β, και Γ (με τυχαία σειρά) και καλείστε να προσδιορίσετε ποια είναι η κάθε ουσία.

## Δραστηριότητα A.2.1 Παρασκευή τυριού

### Κατάλογος υλικών (απαραίτητος εξοπλισμός):

- γάλα σε πλαστικό μπουκάλι 300 mL (με την ένδειξη MILK)
- ουσία Α (20 mg σε μικροφυγοκεντρικό σωλήνα- 3 σωλήνες)
- ουσία Β (3 mg σε μικροφυγοκεντρικό σωλήνα- 3 σωλήνες)
- ουσία C (20  $\mu\text{L}$  σε μικροφυγοκεντρικό σωλήνα- 3 σωλήνες)
- 8 σωλήνες φυγοκέντρωσης (50 mL)
- στατώ (βάση) για δοκιμαστικούς σωλήνες (tube rack)
- 12 πιπέττες Pasteur

- 4 πλαστικά τρυβλία Petri
- ποτήρι ζέσεως 250 mL
- πλαστικό χωνί (λευκό)
- 4 υφασμάτινα φίλτρα σε πλαστικό σακούλι
- δοχείο με ζεστό νερό (υδατόλουτρο), να το ζητήσετε από το βοηθό εργαστηρίου μετά την εκτέλεση των βημάτων 1-4.

### Πειραματική διαδικασία:

1. Ανακινήστε σχετικά ήπια το μπουκάλι με το γάλα για να αναμιχθούν καλά τα διάφορα στρώματα. Προσοχή, η ανάδευση πρέπει να είναι σχετικά ήπια, ώστε να αποφύγετε το σχηματισμό αφρού!
2. Τοποθετήστε περίπου 50 mL γάλακτος στους 4 σωλήνες φυγοκέντρησης (50 mL). Σημειώστε τους σωλήνες με τις ενδείξεις **I**, **II**, **III** και **IV**.
3. Διαλύστε την προ-ζυγισμένη ποσότητα της ουσίας A (20 mg) σε 1 mL αποσταγμένου νερού (χρησιμοποιήστε μια πιπέτα Pasteur), και προσθέστε το διάλυμα στο φυγοκεντρικό σωλήνα των 50 mL που έχετε σημειώσει με το **I**.
  - a. Επαναλάβετε το ίδιο για τους σωλήνες **II** και **III** (για κάθε σωλήνα να χρησιμοποιήσετε τους άλλους δύο σωλήνες με την ουσία A)
4. Χρησιμοποιώντας μια νέα πιπέτα Pasteur, πάρτε περίπου 1 mL του μείγματος από το σωλήνα φυγοκέντρησης με την ένδειξη **I** και μεταφέρετέ το στο σωλήνα μικροφυγοκέντρησης που περιείχε την ουσία B (3 mg) δημιουργώντας ένα μίγμα (αιώρημα). Να μεταφέρετε το μίγμα (αιώρημα) πίσω στο σωλήνα φυγοκέντρησης με την ένδειξη **I**.
  - a. Επαναλάβετε το ίδιο για τους σωλήνες **II** και **IV** (για κάθε σωλήνα να χρησιμοποιήσετε τους άλλους δύο σωλήνες με την ουσία B)
5. Να αναμίξετε το περιεχόμενο αναστρέφοντας ήπια τους κλειστούς σωλήνες και αφήστε όλα τα μείγματα να επωαστούν για 30 λεπτά μέσα στο υδατόλουτρο (**ζητήστε το ζεστό υδατόλουτρο από τον βοηθό εργαστηρίου**). Εν τω μεταξύ καθώς περιμένετε, να απαντήσετε στις θεωρητικές ερωτήσεις.

**A.2.1.1** Ποιος τύπος γάλακτος έχει μικρότερη πυκνότητα – η κρέμα γάλακτος ή το αποβουτυρωμένο γάλα; Γιατί;

1. Η κρέμα γάλακτος, λόγω της υψηλότερης περιεκτικότητάς της σε λιπαρές ουσίες
2. Το αποβουτυρωμένο γάλα, λόγω της χαμηλότερης περιεκτικότητας σε λιπαρές ουσίες
3. Η κρέμα γάλακτος, λόγω της υψηλότερης περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες
4. Το αποβουτυρωμένο γάλα, λόγω της χαμηλότερης περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες
5. Η κρέμα γάλακτος, λόγω της υψηλότερης συγκέντρωσης σακχάρου
6. Το αποβουτυρωμένο γάλα, λόγω της χαμηλότερης συγκέντρωσης σακχάρου



**A.2.1.2** Στις εγκαταστάσεις παρασκευής τυριού, το νωπό γάλα (μη επεξεργασμένο) διαχωρίζεται σε κλάσματα (τύποι γάλακτος) διαφόρων πυκνοτήτων (δηλαδή σε κρέμα γάλακτος και σε αποβουτυρωμένο γάλα) εφαρμόζοντας φυγόκεντρο δύναμη. Η περιεκτικότητα σε λιπίδια των κλασμάτων αυτών και του τυποποιημένου γάλακτος μπορεί να μετρηθεί χρησιμοποιώντας φασματοσκοπία στην περιοχή του υπέρυθρου ή άλλες μεθόδους.

Ένα εργοστάσιο της εταιρείας cowBOOM έλαβε 200,0 L νωπού γάλακτος με προσδιορισμένη περιεκτικότητα σε λιπαρά 4,1%. Στην τυροκομία, απαιτείται τυποποιημένο γάλα με περιεκτικότητα σε λιπαρές ουσίες 2,9%. Το εργοστάσιο έχει μια συσκευή διαχωρισμού, η οποία μπορεί να φτιάξει από το νωπό γάλα (μη επεξεργασμένο) κρέμα (με περιεκτικότητα σε λιπαρές ουσίες 20%) και τυποποιημένο γάλα. Πόσα λίτρα κρέμα και τυποποιημένου γάλακτος μπορεί να παρασκευαστούν από 200,0 L νωπού γάλακτος; Στους υπολογισμούς, να μη λάβετε υπόψη τις μικρές διαφορές στην πυκνότητα του γάλακτος και των προϊόντων διαχωρισμού του!

Συνεχίστε την τυροκομία!

6. Χρησιμοποιώντας μια νέα πιπέτα Pasteur προσθέστε την ουσία C (20 μL διάλυμα στο σωλήνα μικροφυγοκέντρωσης με τρόπο ανάλογο με αυτό που προσθέσατε την ουσία A) στο φυγοκεντρικό σωλήνα των 50 mL με την ένδειξη I.
- a. Επαναλάβετε το ίδιο για τους σωλήνες III και IV χρησιμοποιώντας νέα δείγματα (κάθε φορά 20 μL) της ουσίας C.
7. Αναμίξτε το περιεχόμενο των κλειστών σωλήνων αναστρέφοντας ήπια τους κλειστούς σωλήνες και αφήστε όλα τα μείγματα να επωαστούν για 30 λεπτά μέσα στο ίδιο υδατόλουτρο.
8. Χωρίστε με διήθηση (φιλτράρισμα) τα υγρά από τα στερεά κλάσματα (ορός γάλακτος και τυρόπηγμα, αντίστοιχα) στους σωλήνες I - IV. Για να φιλτράρετε το περιεχόμενο του κάθε σωλήνα βάλτε το υφασμάτινο φίλτρο (όχι το χαρτί διήθησης) στο παρεχόμενο πλαστικό χωνί και τοποθετήστε το χωνί σε ένα καθαρό σωλήνα φυγοκέντρωσης των 50 mL. Για κάθε σωλήνα, χρησιμοποιήστε νέο υφασμάτινο φίλτρο και νέο σωλήνα φυγοκέντρωσης, αλλά το ίδιο πλαστικό χωνί έτσι ώστε στο τέλος της διήθησης του κάθε σωλήνα να έχετε τέσσερα δείγματα υγρού και τέσσερα δείγματα στερεού κλάσματος. Αδειάστε το περιεχόμενο του κάθε σωλήνα ξεχωριστά που έχει επωαστεί πάνω στο υφασμάτινο φίλτρο. Για να διευκολυνθεί το φιλτράρισμα, μπορείτε να ανακατέψετε τα περιεχόμενα των σωλήνων I - IV χρησιμοποιώντας μια πιπέτα Pasteur ή μια σπάτουλα. Πλένετε και στεγνώνετε το χωνί και τη σπάτουλα πριν από κάθε διήθηση. Σημειώστε στους σωλήνες φυγοκέντρωσης των 50 mL τις ενδείξεις **WHEY I**, **WHEY II**, **WHEY III** και **WHEY IV**, (WHEY = ορός γάλακτος) αντίστοιχα, και κρατήστε τους για την δραστηριότητα A.2.2. Μετά από κάθε διήθηση, μεταφέρετε το τυρόπηγμα με το υφασμάτινο φίλτρο σε ένα νέο τρυβλίο (petri dish). Σημειώστε σε αυτά τις

ενδείξεις **CURD I**, **CURD II**, **CURD III** και **CURD IV**, (CURD = τυρόπηγμα) αντίστοιχα, και κρατήστε τα δείγματα για την δραστηριότητα A.2.2.

**A.2.1.3.1** Συμπληρώστε τον πίνακα που αφορά τον σχηματισμό τυροπήγματος στα διαφορετικά δείγματα στο **Φύλλο Απαντήσεων**.

**A.2.1.3.2** Ποιο από τα δύο τρυβλία (Petri dish) έχει το πιο απαλό (λιγότερο στερεό ή νερουλό) ίζημα; Να μη λάβετε υπόψη τα τρυβλία χωρίς ίζημα. Γράψτε το σωστό λατινικό αριθμό στο **Φύλλο Απαντήσεων**.

**A.2.1.4** Με βάση τις παρατηρήσεις σας και τα αποτελέσματα της δραστηριότητας A.3 (έχει γίνει από άλλο μέλος της ομάδας σας), προσδιορίστε τη λειτουργία κάθε ουσίας που χρησιμοποιείται για την παρασκευή τυριού στο **Φύλλο Απαντήσεων**. Επιλέξτε από τις παρακάτω επιλογές:

1. προκαλεί το σχηματισμό τυροπήγματος
2. ενισχύει το σχηματισμό τυροπήγματος
3. καταναλώνει λακτόζη

**A.2.1.5** Με βάση το εισαγωγικό κείμενο και τις απαντήσεις 1-3 της Δραστηριότητας A.2.1.4, προσδιορίστε τη βιολογική/χημική ταυτότητα των ουσιών A, B και C.

1.  $\text{CaCl}_2$
2. Πυτιά που περιέχει ένζυμα
3. αρχικά βακτήρια

### **Δραστηριότητα A.2.2. Δοκιμασία Bradford για τον προσδιορισμό της συνολικής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες**

Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας παρασκευής τυριού από γάλα, θα παρατηρήσατε την εμφάνιση των δύο φάσεων: τυρόπηγμα και ορός γάλακτος. Η καθίζηση του τυροπήγματος από το γάλα οφείλεται στην πήξη της πρωτεΐνης του γάλακτος, που ονομάζεται καζεΐνη, η οποία επιτυγχάνεται με την προσθήκη πρωτεολυτικών ενζύμων από την πυτιά που εκτελούν συγκεκριμένες βιοχημικές τροποποιήσεις της καζεΐνης (βλέπε παρακάτω). Εναλλακτικά, η πήξη μπορεί να προκληθεί από ισχυρή οξίνιση του γάλακτος, η οποία έχει σαν αποτέλεσμα την κατακρήμνιση/ιζηματοποίηση της καζεΐνης σε ένα χαμηλό pH.

#### **Πήξη του γάλακτος με οξίνιση**

#### **Κατάλογος υλικών:**

- γάλα, **WHEY I** και **CURD I** (που χρησιμοποιούνται ή παράγονται στην δραστηριότητα A.2.1)
- 1 M HCl (0,5 mL σε σωλήνα μικροφυγοκέντρησης)
- 2 πιπέτες Pasteur
- 3 σωλήνες φυγοκέντρησης (15 mL)
- στρογγυλό διηθητικό χαρτί (σε πλαστικό σακουλάκι)
- πλαστικό τρυβλίο (Petri dish)
- αρχείο Excel "A.2.2 [Greece/Cyprus Team A/B].xlsx" στην επιφάνεια εργασίας του φορητού υπολογιστή της ομάδας σας.

### Πειραματική διαδικασία:

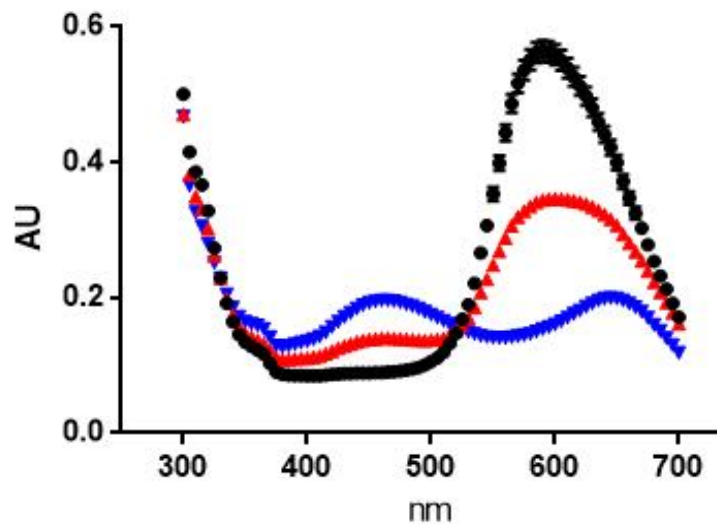
1. Φροντίστε να φοράτε ποδιά, γάντια και γυαλιά.
2. Χρησιμοποιώντας μια πιπέτα Pasteur, μεταφέρετε 10 mL από το γάλα σε ένα νέο σωλήνα φυγοκέντρησης των 15 mL. Ονομάστε το σωλήνα **Acid coagulation**.
3. Χρησιμοποιώντας μια καθαρή πιπέτα Pasteur, μεταφέρετε προσεκτικά 0,5 mL 1 M HCl από το σωλήνα μικροφυγοκέντρησης στο σωλήνα φυγοκέντρησης με το γάλα. Κλείστε το σωλήνα και αναποδογυρίστε το σωλήνα αρκετές φορές.
4. Διαχωρίστε τα υγρά και στερεά κλάσματα με διήθηση σε ένα νέο σωλήνα φυγοκέντρησης των 15 ml (χρησιμοποιήστε το διηθητικό χαρτί!). Κατά τη διάρκεια της διήθησης μπορείτε να απαντήσετε τις θεωρητικές δραστηριότητες. Μόλις έχετε διαχωρίσει το μεγαλύτερο μέρος του υγρού (δεν χρειάζεται να περιμένετε μέχρι όλο το υγρό να περάσει μέσα από το φίλτρο), σημειώστε με την ένδειξη **LIQ** το σωλήνα συλλογής.
5. Μεταφέρετε το ίζημα σε ένα νέο τρυβλίο Petri και να σημειώστε το με την ένδειξη **SOL**.

Η δοκιμασία πρωτεΐνης Bradford είναι μια αναλυτική φασματοσκοπική μέθοδος για τον προσδιορισμό της συνολικής περιεκτικότητας ενός δείγματος σε πρωτεΐνη. Η δοκιμασία βασίζεται στη μέτρηση της απορρόφησης της υπεριώδους (UV) και του ορατού (VIS) φωτός σε ένα διάλυμα που αποτελείται από το δείγμα και το αντιδραστήριο που ονομάζεται Bradford (Coomassie Brilliant Blue G-250 χρωστική). Ανάλογα με το pH του διαλύματος, η ελεύθερη χρωστική μπορεί να υπάρχει σε τρεις καταστάσεις: κατιοντική (κόκκινο), ουδέτερη (πράσινο), και ανιοντική (μπλε). Σε ένα σταθερό χαμηλό pH, η χρωστική βρίσκεται κυρίως στην πρωτονιωμένη μορφή (κόκκινο), ( $\lambda_{\max}=470\text{nm}$ ). Ωστόσο, όταν η χρωστική συνδεθεί με τις πρωτεΐνες (λόγω υδρόφοβων και ιοντικών αλληλεπιδράσεων), μετατρέπεται σε μια σταθερή μη πρωτονιωμένη μορφή μπλε ( $\lambda_{\max}=595\text{nm}$ ). Αυτό το μπλε σύμπλοκο πρωτεΐνης-χρωστικής μπορεί να ανιχνευθεί σε ένα μήκος κύματος 595 nm με μια δοκιμασία χρησιμοποιώντας ένα φασματοφωτόμετρο ή μικροπλάκα ανάγνωσης (microplate reader).

Προκειμένου να βελτιωθεί η ακρίβεια του προσδιορισμού, χρησιμοποιείται μια καμπύλη βαθμονόμησης που δημιουργείται με τη χρήση γνωστών ποσοτήτων από σχετικά φθηνές και

καθαρές πρωτεΐνες (όπως αλβουμίνη βοδινού ορού – BSA). Στη συνέχεια, η συγκέντρωση της συνολικής πρωτεΐνης ενός δείγματος προσδιορίζεται από τη σύγκριση των τιμών απορρόφησης στην καμπύλη αναφοράς BSA και την τιμή απορρόφησης που μετρείται στο δείγμα που μας ενδιαφέρει.

**A.2.2.1** Στο παρακάτω σχήμα 2.1, φαίνεται η απορρόφηση ενός δείγματος χωρίς πρωτεΐνη (δείγμα μάρτυρας), η απορρόφηση από ένα λιγότερο πυκνό δείγμα πρωτεΐνης, καθώς και η απορρόφηση από ένα περισσότερο πυκνό δείγμα πρωτεΐνης. Να υποδείξετε για κάθε δείγμα την αντίστοιχη σειρά δεδομένων στο Σχήμα 2.1.



**Σχήμα 2.1.** Η απορρόφηση των δειγμάτων (σε AU/Arbitrary Units, αυθαίρετες μονάδες) στα

διάφορα UV-VIS μήκη κύματος (σε νανόμετρα, nm). ( ● ) Σειρά δεδομένων 1,

( ▲ ) Σειρά δεδομένων 2, ( ▼ ) Σειρά δεδομένων 3.

**Παρασκευή της σειράς αραιώσης. Φασματοφωτομετρία.**

**Κατάλογος υλικών (απαραίτητος εξοπλισμός):**

- γάλα (το ίδιο που χρησιμοποιήθηκε στη δραστηριότητα A.2.1)
- αντιδραστήριο Bradford (5 mL σε σωλήνα φυγοκέντρησης)
- Αλβουμίνη βόειου ορού, BSA (1,5 mg σε σωλήνα μικροφυγοκέντρου)
- Ρυθμιστικό διάλυμα - buffer (αλατόνερο ρυθμισμένο με φωσφορικό – PBS, 20 mL σε σωλήνα φυγοκέντρησης)

- 1% διαλύματος Triton X (3 mL σε σωλήνα φυγοκέντρησης)
- 15 πιπέτες Pasteur
- 10 σωλήνες μικροφυγοκέντρησης (όγκος 2 mL)
- στατώ (tube rack) για σωλήνες μικροφυγοκέντρησης
- μικροσπάτουλα
- συσκευή ανάδευσης Vortex
- αυτόματη πιπέτα και ακροφύσια (tips)
- Πλάκα μικροτιτλοδότησης - microtiter plate (διαφανής πλάκα 96 φρεατίων/πηγαδάκια με επίπεδο πυθμένα)

### Πειραματική διαδικασία:

1. Χρησιμοποιώντας μια πιπέτα Pasteur ή μία αυτόματη πιπέτα, προσθέστε όσο το δυνατόν ακριβέστερα 1,5 mL ρυθμιστικό διάλυμα (PBS) στο σωλήνα που περιέχει το 1,5 mg αλβουμίνης ορού βοοειδών (BSA) σε σωλήνα μικροφυγοκέντρησης. Αναστρέψτε και μετά να αναδεύσετε χρησιμοποιώντας το Vortex (ηλεκτρικό εργαλείο ανάδευσης) το σωληνάριο μέχρις ότου όλο το BSA να έχει διαλυθεί (3-5 λεπτά).

**Προσοχή!** Μπορείτε να χρησιμοποιήσετε την ίδια πιπέτα Pasteur για την προσθήκη του PBS σε όλα τα στάδια της δεδομένης πειραματικής διαδικασίας, αν είστε βέβαιοι ότι η πιπέτα δεν έχει μολυνθεί. Αν δεν είστε σίγουροι για αυτό, να χρησιμοποιείτε μια καθαρή πιπέτα Pasteur κάθε φορά.

2. Παρασκευάστε διάλυμα 1% γάλακτος σε σωληνάριο μικροφυγοκέντρησης ως εξής: με μια πιπέτα Pasteur να μεταφέρετε 1 mL του PBS στο σωλήνα και στη συνέχεια, με την αυτόματη πιπέτα, να προσθέσετε 10  $\mu$ L γάλα στον ίδιο σωλήνα. Αναδεύστε το σωλήνα χρησιμοποιώντας το vortex και σημειώστε στο σωλήνα την ένδειξη **MILK#1**.

**Προσοχή!** Πετάξτε το ακροφύσιο της πιπέτας από την αυτόματη πιπέτα μετά από κάθε χρήση!

3. Παρασκευάστε διάλυμα γάλακτος 0,02% σε ένα νέο σωλήνα μικροφυγοκέντρησης ως εξής: με μια πιπέτα Pasteur, να μεταφέρετε 1 mL PBS, και στη συνέχεια, με μια αυτόματη πιπέτα, προσθέστε 20  $\mu$ L του μείγματος **MILK#1** στον ίδιο σωλήνα. Αναδεύστε το σωλήνα χρησιμοποιώντας το vortex και σημειώστε στο σωλήνα την ένδειξη **MILK#2**.

4. Παρασκευάστε διάλυμα 1% της υγρής φάσης (fraction) που διαχωρίζεται από το οξιτισμένο γάλα ως εξής: με μια πιπέτα Pasteur, να μεταφέρετε 1 mL PBS σε ένα νέο καθαρό σωληνάριο μικροφυγοκέντρησης. Στη συνέχεια με την αυτόματη πιπέτα, προσθέστε 10  $\mu$ L του μίγματος **LIQ** στον ίδιο σωλήνα. Αναδεύστε το σωλήνα χρησιμοποιώντας το vortex και σημειώστε στο σωλήνα την ένδειξη **LIQ#1**.

5. Παρασκευάστε διάλυμα 0.2% της υγρής φάσης (fraction) που διαχωρίζεται από το οξιτισμένο γάλα ως εξής: με την αυτόματη πιπέτα, προσθέστε πρώτα 160  $\mu$ L PBS σε έναν

καθαρό σωλήνα μικροφυγοκέντρωσης και στην συνέχεια προσθέστε 40 μL του μείγματος **LIQ#1** στον ίδιο σωλήνα. Αναδεύστε το σωλήνα χρησιμοποιώντας το vortex και σημειώστε στο σωλήνα την ένδειξη **LIQ #2**.

6. Να μεταφέρετε μια μικρή ορατή ποσότητα της στερεάς φάσης που διαχωρίζεται από το οξιτισμένο γάλα (από το τρυβλίο Petri **SOL**) μέσα σε ένα καθαρό σωλήνα μικροφυγοκέντρωσης χρησιμοποιώντας τη σπάτουλα. Ονομάστε το σωλήνα **SOL#1**. Με μια πιπέτα Pasteur να μεταφέρετε 1 mL του διαλύματος 1% Triton X σε αυτό το σωλήνα μικροφυγοκέντρωσης (Το Triton X είναι ένα απορρυπαντικό που θα διευκολύνει τη διάλυση των πρωτεϊνών που περιέχονται στο σφαιρίδιο (pellet)). Αναδεύστε το σωλήνα στο vortex διεξοδικά για 3-5 λεπτά μέχρις ότου το σφαιρίδιο (pellet) διασπαστεί σε μικρότερα κομμάτια.

**Σε περίπτωση που δεν έχετε λάβει κανένα στερεό κλάσμα, ζητήστε βοήθεια από έναν βοηθό εργαστηρίου** (θα σας δοθεί ένα δείγμα έτοιμο προς χρήση, αλλά θα σας αφαιρεθούν 2 βαθμοί για αυτό).

a.i.1.a.i.7. Παρασκευάστε διάλυμα 2% του υπερκείμενου από το προηγούμενο βήμα. Με μια πιπέτα Pasteur, προσθέστε αρχικά 1mL PBS σε έναν καθαρό σωλήνα μικροφυγοκέντρωσης και στη συνέχεια, με την αυτόματη πιπέτα, προσθέστε 20μL του υγρού κλάσματος της **SOL#1** στον ίδιο σωλήνα. Βεβαιωθείτε ότι μεταφέρατε μόνο την υγρή φάση χωρίς στερεά κομμάτια. Αναδεύστε το σωλήνα χρησιμοποιώντας το vortex και σημειώστε στο σωλήνα την ένδειξη **SOL#2**.

a.i.1.a.i.8. Παρασκευάστε ένα διάλυμα 1% **WHEY I** ως εξής: με μια πιπέτα Pasteur, να μεταφέρετε 1 mL PBS σε ένα καθαρό σωλήνα μικροφυγοκέντρωσης. Στη συνέχεια με την αυτόματη πιπέτα, προσθέστε 10 μL ορού γάλακτος στο ίδιο σωληνάριο. Ανακινήστε το μείγμα χρησιμοποιώντας το vortex και ονομάστε τον σωλήνα **WHEY#1**.

a.i.1.a.i.9. Παρασκευάστε διάλυμα 0.2% του ορού γάλακτος. Χρησιμοποιώντας την αυτόματη πιπέτα, προσθέστε πρώτα 160 μl PBS σε καθαρό σωλήνα μικροφυγοκέντρωσης και στην συνέχεια προσθέστε 40 μL του μίγματος ορού γάλακτος **WHEY#1** στο ίδιο σωληνάριο. Ανακινήστε το μείγμα χρησιμοποιώντας το vortex και ονομάστε τον σωλήνα **WHEY#2**.

a.i.1.a.i.10. Χρησιμοποιώντας τη σπάτουλα, μεταφέρετε μια μικρή ορατή ποσότητα τυροπήγματος **CURD 1** σε ένα καθαρό σωλήνα μικροφυγοκέντρωσης και ονομάστε το **CURD#1**. Χρησιμοποιώντας μια πιπέτα Pasteur να μεταφέρετε 1 ml διάλυμα 1% Triton X σε αυτόν τον μικροφυγοκεντρικό σωλήνα και ανακινήστε το μείγμα χρησιμοποιώντας το vortex για 3-5 λεπτά μέχρις ότου το σφαιρίδιο σπάσει σε μικρότερα κομμάτια.

**Σε περίπτωση που δεν έχετε καθόλου τυροπήγμα, ζητήστε βοήθεια από έναν βοηθό εργαστηρίου** (θα σας δοθεί ένα δείγμα έτοιμο προς χρήση, αλλά θα σας αφαιρεθούν 2 βαθμοί).

11. Παρασκευάστε διάλυμα 2% του υγρού κλάσματος του περιεχομένου του σωλήνα **CURD#1** ως εξής: με μια πιπέτα Pasteur, προσθέστε αρχικά 1 mL PBS σε ένα καθαρό σωλήνα μικροφυγοκέντρησης και στη συνέχεια προσθέστε 20 mL της υγρής φάσης του **CURD#1** στον ίδιο σωλήνα με την αυτόματη πιπέτα. Βεβαιωθείτε ότι έχετε μεταφέρει μόνο το υγρό κλάσμα χωρίς στερεά κομμάτια. Αναδεύστε το σωλήνα χρησιμοποιώντας το vortex και σημειώστε στο σωλήνα την ένδειξη **CURD#2**.
12. Τώρα θα πρέπει να έχετε, συνολικά, 10 δείγματα σε σωλήνες μικροφυγοκέντρησης και ένα δείγμα BSA μάρτυρα σε σωλήνα μικροφυγοκέντρησης και μπορείτε να αρχίσετε τη μεταφορά τους πάνω στην πλάκα μικροτιτλοδότησης - microtiter plate (διαφανής πλάκα 96 φρεατίων/πηγαδάκια με επίπεδο πυθμένα)- Να είστε προσεκτικοί με τη διαδικασία, γιατί τα διαλύματα που περιέχουν πρωτεΐνες τείνουν να σχηματίζουν φυσαλίδες, οι οποίες μπορεί να θέσουν σε κίνδυνο την μέτρηση! Εάν σχηματιστούν φυσαλίδες, μπορείτε να δοκιμάσετε να τις σπάσετε με το αιχμηρό άκρο ενός ακροφύσιου πιπέτας.
13. Βεβαιωθείτε ότι το όνομα της ομάδας σας είναι γραμμένο στο καπάκι της πλάκας (**διαφορετικά συμβουλευτείτε τον βοηθό εργαστηρίου**). Αφαιρέστε το καπάκι της πλάκας και προσέξτε έτσι ώστε καμία από τις πλάκες να μην μπερδευτεί με τις πλάκες των άλλων ομάδων.
14. Προετοιμάστε μια σειρά αραιώσης BSA στην πλάκα μικροτιτλοδότησης χρησιμοποιώντας μια αυτόματη πιπέτα.
- a. Μεταφέρετε με την αυτόματη πιπέτα 140 μL του PBS στο πηγάδι (φρεάτιο) H1. Στη συνέχεια μεταφέρετε με την αυτόματη πιπέτα PBS στα πηγάδια (φρεάτια) A1-G1 (75 μL σε κάθε πηγάδι).
- b. Προσθέστε 10 μL από το διάλυμα BSA στο πηγάδι (φρεάτιο) H1 και ανακατέψτε καλά με τη βοήθεια της αυτόματης πιπέτας (κάνοντας πολύ προσεκτικές και απαλές κινήσεις αναρρόφησης και εξώθησης του διαλύματος μέσα στο πηγάδι).
- c. Πάρτε 75 μL του διαλύματος από το πηγάδι H1 και μεταφέρετε το στο πηγάδι G1. Αναμείξτε καλά όπως και πριν, και μεταφέρετε τα 75 μL του διαλύματος που προκύπτει στο πηγάδι F1. Να επαναλάβετε αυτά τα βήματα μέχρι να φτάσετε στο πηγάδι B1.
- d. Από το πηγάδι B1, μη μεταφέρετε διάλυμα στο πηγάδι A1, αλλά πετάξτε το μαζί με το ακροφύσιο της πιπέτας. Τώρα θα πρέπει να έχετε 75 μL του υγρού σε όλα τα πηγάδια της στήλης 1.
- e. Να επαναλάβετε την ίδια διαδικασία για τη στήλη 2.
15. Τώρα με την αυτόματη πιπέτα μεταφέρετε τα άλλα δείγματά σας στα πηγάδια της πλάκας μικροτιτλοδότησης (75 μL κάθε δείγματος), όπως φαίνεται στον πίνακα 2.1. Σε περίπτωση των δειγμάτων **SOL#1** και **CURD#1**, φροντίστε να μεταφέρετε μόνο το υγρό κλάσμα χωρίς στερεά κομμάτια. Κάθε φορά ανακατεύετε καλά με τη βοήθεια της αυτόματης

πιπέτας (κάνοντας πολύ προσεκτικές και απαλές κινήσεις αναρρόφησης και εξώθησης του διαλύματος μέσα στο πηγάδι).

**Πίνακας 2.1.** Διάταξη της πλάκας μικροτιτλοδότησης για δοκιμασία Bradford

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	PBS	PBS		MILK #1	MILK #1	CURD #1	CURD #1					
<b>B</b>	B	B		MILK #2	MILK #2	CURD #2	CURD #2					
<b>C</b>	A	A		LIQ#1	LIQ#1							
<b>D</b>				LIQ#2	LIQ#2							
<b>E</b>	d	d		SOL#1	SOL#1							
<b>F</b>				SOL#2	SOL#2							
<b>G</b>	i	i		WHEY #1	WHEY #1							
<b>H</b>	u	u		WHEY #2	WHEY #2							
	t	t										
	i	i										
	o	o										
	n	n										

16. Τέλος, προσθέστε 75  $\mu$ L διαλύματος αντιδραστηρίου Bradford σε όλα τα πηγάδια που περιέχουν υγρό (κατά την προσθήκη του αντιδραστηρίου Bradford, αναμίξτε τα περιεχόμενα του πηγαδιού μια-δυο φορές κάνοντας πολύ προσεκτικές και απαλές κινήσεις αναρρόφησης και εξώθησης του διαλύματος μέσα στο πηγάδι). Τα πηγάδια που περιέχουν πρωτεΐνες θα πρέπει να γίνουν μπλε. Βάλτε το καπάκι στην πλάκα, επώαστε την πλάκα για 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, **δώστε την πλάκα σε ένα βοηθό εργαστηρίου**, ο οποίος θα μετρήσει τις τιμές απορρόφησης στα 590 nm χρησιμοποιώντας τη πλάκα μικροτιτλοδότησης.

**A.2.2.2** Υπολογίστε την τελική ολική συγκέντρωση (σε mg / mL) BSA στα πηγάδια A1-H1 της πλάκας μικροτιτλοδότησης. Χρησιμοποιώντας τις τιμές απορρόφησης που μετρήθηκαν από τον βοηθό, υπολογίστε τις μέσες τιμές απορρόφησης για κάθε μία από τις συγκεντρώσεις BSA (π.χ. πηγάδια H1 και H2) και PBS μάρτυρες. Συμπληρώστε τον πίνακα **στο αρχείο Excel**.



**A.2.2.3** Βάλτε τα δεδομένα από A.2.2.2 στο αρχείο Excel (συγκέντρωση BSA στον x - άξονα και οι μέσες τιμές απορρόφησης για το y - άξονα).

**A.2.2.4** Χρησιμοποιώντας τις τιμές απορρόφησης που μετρήθηκαν από το βοηθό, να υπολογίσετε τις μέσες τιμές απορρόφησης για κάθε ένα από τα δείγματα στις στήλες 4-7 της πλάκας μικροτιτλοδότησης (π.χ. πηγάδια A4 και A5). Συμπληρώστε τον πίνακα στο αρχείο Excel.

**A.2.2.5** Χρησιμοποιώντας την καμπύλη βαθμονόμησης που έγινε στη Δραστηριότητα A.2.2.3 και τις μέσες τιμές απορρόφησης που υπολογίσατε, εκτιμήστε κατά προσέγγιση τη συνολική συγκέντρωση πρωτεΐνης (σε mg/mL) για όλα τα δείγματα στις στήλες 4-7 της πλάκας μικροτιτλοδότησης. Εάν η τιμή απορρόφησης που μετρήθηκε για τα δείγματα είναι εκτός του εύρους της καμπύλης βαθμονόμησης, χρησιμοποιήστε το σύμβολο < εάν η συνολική συγκέντρωση πρωτεΐνης είναι μικρότερη από την ελάχιστη, ή το σύμβολο > αν είναι μεγαλύτερη από τη μέγιστη. **Αν δεν έχετε φτιάξει καμπύλη βαθμονόμησης με τα δεδομένα σας, ζητήστε βοήθεια από έναν βοηθό** (θα σας δοθεί ένα έτοιμο προς χρήση σύνολο δεδομένων, αλλά θα σας αφαιρεθούν 4 βαθμοί για αυτό). Συμπληρώστε τον πίνακα στο αρχείο Excel .

**A.2.2.6** Χρησιμοποιώντας τις πιο ακριβείς μέσες τιμές των αποτελεσμάτων, να υπολογίσετε την ολική συγκέντρωση πρωτεΐνης (σε mg/mL) στα δείγματα. Συμπληρώστε τον πίνακα στο αρχείο Excel.

### **Δραστηριότητα A.2.3 SDS-PAGE παρατήρηση της αλλαγής στην πρωτεϊνική σύσταση**

Η πρωτεϊνική σύνθεση, κατά προσέγγιση, του νωπού γάλακτος δίνεται στον Πίνακα 2.2.

Πίνακας 2.2. Σχετική περιεκτικότητα πρωτεϊνών του νωπού γάλακτος και το μοριακό βάρος των αντίστοιχων πρωτεϊνών όπως καθορίστηκε με ηλεκτροφόρηση σε ειδικό Άγαρ SDS-PAGE.

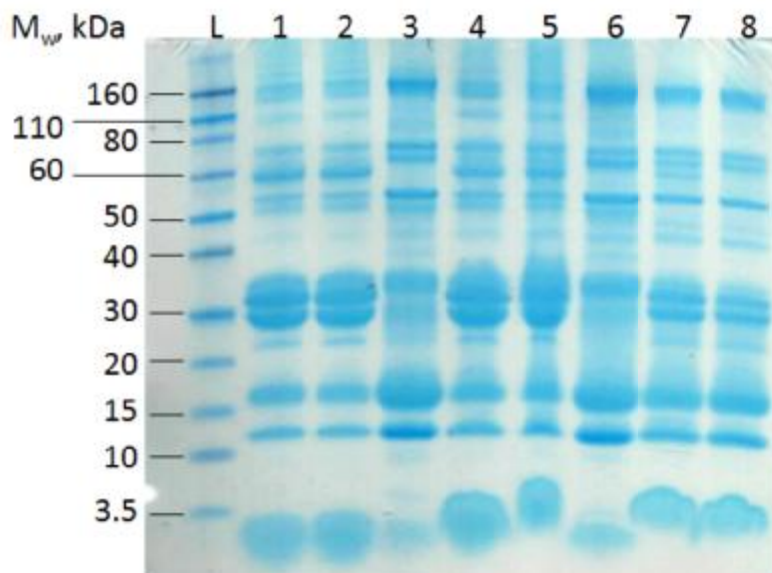
Κατηγορία πρωτεϊνών	Περιεκτικότητα στο νωπό γάλα, %	Γραμμομοριακή μάζα ( $M_r$ ), g/mol (Da)
α-καζεΐνες (α-caseins)	45–55	32 000
β-καζεΐνη (β-casein)	25–35	29 000
κ-καζεΐνη (κ-casein)	8–15	25 000
β-lactoglobuline	7–12	17 000
α-lactalbumine	2–4	12 000

Κατά τη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας, οι πρωτεΐνες γάλακτος μπορεί να αλληλεπιδράσουν και να σχηματίσουν χημικά σύμπλοκα με υψηλή μοριακή μάζα (πάνω από 50 000 Da).

Στο αγελαδινό γάλα, περίπου το 90% της καζεΐνης αποτελείται από μακρομοριακές ενώσεις αδρανών υλικών που ονομάζονται μικκύλια. Στο νωπό γάλα, η συσσωμάτωση αυτών των μικκυλίων εμποδίζεται από την υδατοδιαλυτή ουρά (γλυκομακροπεπτίδια - glycomacropeptide) που είναι συνδεδεμένη με την καζεΐνη. Όταν εισάγεται πυτιά, τα ένζυμα υδρολύουν συγκεκριμένα το εξωτερικό σταθεροποιητικό στρώμα των μικκυλίων με αποτέλεσμα τον σχηματισμό της παρα-καζεΐνης (para-casein) με μικρότερη σχετική μοριακή μάζα και υψηλότερη υδροφοβικότητα. Με τον τρόπο αυτό αρχίζει η συσσωμάτωση των υδρόφοβων σωματιδίων και ακολουθεί περαιτέρω εκτεταμένη ανάπτυξη των συστάδων καζεΐνης μέχρι να σχηματιστεί το τυρόπηγμα. Το τυρόπηγμα δεσμεύει το νερό, το λίπος και τα βακτήρια.

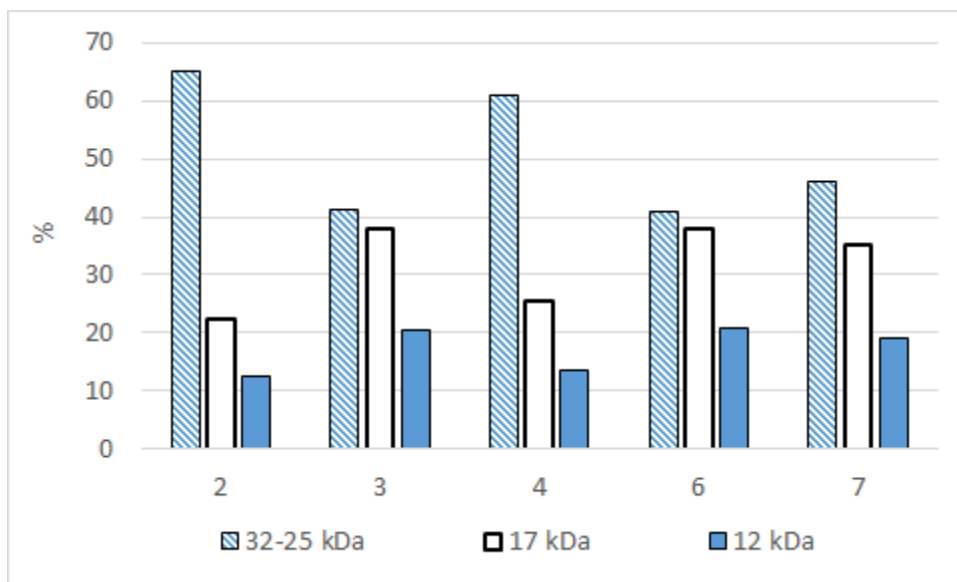
Η ηλεκτροφόρηση (Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis - SDS-PAGE) είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό των πρωτεϊνών σύμφωνα με τη σχετική μοριακή μάζα τους. Οι πρωτεΐνες που βρίσκονται στο δείγμα μετουσιώνονται από τη απορρυπαντικό (sodium dodecyl sulfate, SDS) και τη θερμότητα, ενώ το SDS συνδέεται επίσης με τα αμινοξικά κατάλοιπα της πρωτεΐνης και τους προσδίνουν αρνητικά φορτία. Το δείγμα στη συνέχεια τοποθετείται (χύνεται) σε ένα πορώδες πήκτωμα. Μέσα από αυτό το πορώδες πήκτωμα διοχετεύεται ηλεκτρικό ρεύμα, προκαλώντας την μετακίνηση των αρνητικά φορτισμένων μορίων προς το θετικό ηλεκτρόδιο. Το πολυακρυλαμιδικό πήκτωμα (gel) συγκρατεί τα μεγαλύτερα μόρια έτσι ώστε να μην μετακινηθούν τόσο γρήγορα όσο τα μικρότερα μόρια. Το αποτέλεσμα είναι ο διαχωρισμός των πρωτεϊνών σύμφωνα με τη σχετική μοριακή τους μάζα. Συνήθως, ένα μίγμα πρωτεϊνών - με γνωστές τις σχετικές μοριακές μάζες των επιμέρους συστατικών τους - χρησιμοποιείται ως σημείο αναφοράς πρότυπο στην πρώτη λωρίδα/διαδρομή του ίδιου gel για να απλοποιήσει την ανάλυση των αποτελεσμάτων. Μετά την ηλεκτροφόρηση, οι πρωτεΐνες στο gel μπορούν να παρατηρηθούν χρησιμοποιώντας χρωστικές που προσδένονται στις πρωτεΐνες όπως είναι η χρωστική Coomassie Brilliant Blue.

**A.2.3.1** Το παρακάτω σχήμα 2.2 είναι ένα παράδειγμα από ένα SDS-PAGE gel, βαμμένο με τη χρωστική Coomassie Brilliant Blue. Κάθε λωρίδα στο πορώδες πήκτωμα (gel) αντιπροσωπεύει ένα δείγμα. Στο **Φύλλο Απαντήσεων**, να υποδείξετε στο σχήμα σε ποιο ύψος του gel μπορείτε να διακρίνεται μια ζώνη (band) που να αντιπροσωπεύει στις: (\*) α-casein, (\*\*) β-casein, (\*\*\*) κ-casein, (#) β-lactoglobuline, (‡) α-lactalbumine.



**Σχήμα 2.2.** Ένα SDS-PAGE gel βαμμένο με τη χρωστική Coomassie Brilliant Blue. Η αριστερή διαδρομή L (lane marked L) περιέχει ένα μείγμα από πρωτεΐνες με γνωστή σχετική μοριακή μάζα ( $M_w$ ) που υποδεικνύονται στα αριστερά σε kilodaltons (kDa). Οι διαδρομές 1 και 2 (Lanes 1 and 2) περιέχουν γάλα; η διαδρομή 3 (lane 3) περιέχει την υγρή φάση που έχει αποχωριστεί από το οξιτισμένο γάλα; οι διαδρομές 4 και 5 περιέχουν το υπερκείμενο του στερεού κλάσματος το οποίο διαχωρίζεται από το οξιτισμένο γάλα; η διαδρομή 6 περιέχει ορό γάλακτος; οι διαδρομές 7 και 8 περιέχουν το υπερκείμενο του τυροπήγματος I.

**A.2.3.2** Χρησιμοποιώντας το λογισμικό ποσοτικοποίησης για το gel, η συνολική ένταση στις ζώνες (bands) 35-25 kDa, 17 kDa και 12 kDa υπολογίστηκε για κάθε διαδρομή. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως ποσοστά συνολικής έντασης (σχετική περιεκτικότητα, %) των αντίστοιχων διαδρομών (βλέπε σχήμα 2.3). Στο **Φύλλο Απαντήσεων** να εξηγήσετε τις παρατηρήσεις σας επισημαίνοντας κάθε μία από τις ακόλουθες δηλώσεις είτε ως σωστή (σημειώστε +) ή λάθος (σημειώστε 0).



**Σχήμα 2.3.** Σχετική περιεκτικότητα (%) των πρωτεϊνών με διαφορετικές σχετικές μοριακές μάζες στις διαδρομές του gel που υποδεικνύονται. Η αριθμηση των διαδρομών αντιστοιχεί με τις διαδρομές της Εικόνας 2.2.

Αριθμός	Δήλωση
1	Η σχετική περιεκτικότητα των πρωτεϊνών με τιμές σχετικής μοριακής μάζας 32-25 kDa, που παρουσιάζονται στο γράφημα, δεν αντικατοπτρίζουν τις φυσικο-χημικές διεργασίες που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της οξίνισης του γάλακτος ή την παραγωγή τυριού.
2	Η σχετική περιεκτικότητα των καζεϊνών, στην υγρή φάση που διαχωρίζεται από το οξινισμένο γάλα και τον ορό γάλακτος, μειώνεται επειδή οι καζεΐνες γίνονται λιγότερο διαλυτές κατά την παραγωγή του τυριού και της οξίνισης του γάλακτος.
3	Η σχετική περιεκτικότητα των καζεϊνών μειώνεται στην υγρή φάση που διαχωρίζεται από το οξινισμένο γάλα, επειδή οι καζεΐνες αποδομούνται κατά την διάρκεια της οξίνισης.
4	Η σχετική περιεκτικότητα των καζεϊνών μειώνεται στο υπερκείμενο του τυροπήγματος, επειδή οι καζεΐνες αποδομούνται κατά την διάρκεια της παραγωγής τυριού.
5	Η σχετική περιεκτικότητα των β-lactoglobuline και α-lactalbumine αυξάνεται στον ορό επειδή αυτές οι πρωτεΐνες παράγονται από βακτήρια κατά τη διάρκεια της παραγωγής τυριού.
6	Η σχετική περιεκτικότητα των β-lactoglobuline και α-lactalbumine αυξάνεται στην υγρή φάση που διαχωρίζεται από το οξινισμένο γάλα και τον ορό, επειδή η σχετική περιεκτικότητα των καζεϊνών στο υπερκείμενο μειώνεται.
7	Η σχετική περιεκτικότητα των πρωτεϊνών με σχετική μοριακή μάζα 17 kDa και 12 kDa αυξάνεται στο υπερκείμενο του τυροπήγματος, επειδή αυτές οι πρωτεΐνες

	αντιπροσωπεύουν τα προϊόντα διάσπασης της καζεΐνης από τα ενζυμα.
8	Η σύνθεση των πρωτεϊνών στο γάλα και στην υπερκείμενη στερεή φάση του οξινισμένου γάλακτος είναι δραματικά διαφορετικές αφού το οξύ διασπά τις πρωτεΐνες.

# Μέρα γάλακτος

Το γάλα είναι ένα φυσικό προϊόν το οποίο περιέχει πρωτεΐνες, λιπίδια και υδρογονάνθρακες (κυρίως λακτόζη) σε κolloειδή διασπορά (αιωρούμενη μορφή). Σήμερα, η δραστηριότητά σας είναι να διερευνήσετε τα παραπάνω συστατικά του γάλακτος σε ένα εργαστήριο χρησιμοποιώντας φυσικές, χημικές και βιολογικές μεθόδους. Η εργασία σας χρηματοδοτείται από την εταιρία cowBOOM. Η cowBOOM προτίθεται να προωθήσει μια σειρά από ειδικευμένα προϊόντα γάλακτος. Οι μελέτες σας θα βοηθήσουν στην προσδιορισμό των διαφορετικών ιδιοτήτων από δείγματα γάλακτος ώστε να διατεθούν στην αγορά.

Προσοχή: Οι σελίδες 2, 14 και 30 είναι όμοιες.

## Γενικά υλικά:

- φορητός υπολογιστής
- στυλό
- 2 αδιάβροχοι μαρκαδόροι
- 2 μολύβια (το μηχανικό μολύβι είναι για τη Δραστηριότητα A.1)
- χάρακας
- ψαλίδι
- μεγάλη και μικρή τσιμπίδα
- Αυτοκόλλητα χαρτάκια (Post-it papers)
- ρολόι
- υπολογιστική μηχανή (κομπιουτεράκι)
- αποσταγμένο νερό water (μπουκάλι 500 mL)
- γυαλιά ασφαλείας
- χαρτομάντιλα
- κάδος για χαρτί (σηματοδοτημένος με μπλε χρώμα)
- κάδος για πλαστικά (σηματοδοτημένος με κίτρινο χρώμα)
- κάδος για γυαλί (σηματοδοτημένος με πράσινο χρώμα)
- κίτρινος κάδος για υγρά απορρίμματα

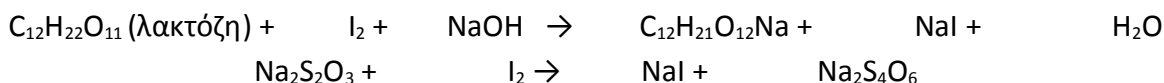
# Δραστηριότητα Α.3 Ιωδομετρική ογκομέτρηση Λακτόζης

Η λακτόζη είναι ένας δισακχαρίτης που αποτελείται από ένα μόριο γαλακτόζης και ένα μόριο γλυκόζης. Η περιεκτικότητα της λακτόζης μπορεί να μετρηθεί με ιωδομετρική ογκομέτρηση, όπου το ιώδιο δρα ως οξειδωτικό και η λακτόζη ως αναγωγικό. Μια γνωστή και μεγάλη ποσότητα ιωδίου προστίθεται σε δείγμα γάλακτος άγνωστης περιεκτικότητας σε λακτόζη. Ορισμένη ποσότητα ιωδίου αντιδρά με τη λακτόζη του δείγματος. Στη συνέχεια, η περίσσεια  $I_2$  ογκομετρείται με διάλυμα  $Na_2S_2O_3$  γνωστής συγκέντρωσης. Τυφλό δείγμα (αποσταγμένο νερό) ογκομετρείται με τον ίδιο ακριβώς τρόπο όπως το γάλα. Έτσι ώστε να υπολογιστεί και να διορθωθεί η απώλεια του ιωδίου κατά τη διαδικασία, η οποία δεν οφείλεται στον ανθρώπινο παράγοντα. Από τη διαφορά των ογκομετρήσεων μεταξύ του τυφλού και του δείγματος του γάλακτος μπορεί να υπολογιστεί η ποσότητα ιωδίου που αντέδρασε με την λακτόζη. Χρησιμοποιώντας τα αποτελέσματα, μπορεί να υπολογιστεί η ποσότητα λακτόζης στο δείγμα γάλακτος.

Θα σας δοθεί επίσης ένα δείγμα γάλακτος που έχει υποστεί ζύμωση και προέρχεται από το ίδιο γάλα που ογκομετρήσατε, αλλά μια ουσία Β (η ίδια όπως στην δραστηριότητα 2.1) έχει προστεθεί σε αυτό πριν από μια μέρα. Πρέπει να βρείτε πως η περιεκτικότητα της λακτόζης άλλαξε μέσα σε αυτό το χρόνο (μια μέρα): Αυξήθηκε, ελαττώθηκε ή παρέμεινε η ίδια;

**A.3.1 Στο φύλλο απαντήσεων** θα βρείτε το συντακτικό τύπο (δομή) της λακτόζης και τέσσερις πιθανές ανοιχτές δομές του μορίου. Για κάθε ανοικτή δομή να αποφασίσετε αν μπορεί να εκφράσει την ανοιγμένη δομή της λακτόζης.

**A.3.2 Γράψτε τις απαντήσεις σας στο φύλλο απαντήσεων.** Παρακάτω θα βρείτε τις χημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στο πείραμα που αναφέρθηκε πιο πάνω. Να ισοσταθμίσετε τις αντιδράσεις αναγράφοντας τους σωστούς συντελεστές μπροστά από κάθε χημική ουσία (αν ο συντελεστής είναι η μονάδα, παραλείπεται).



Μετά το πείραμα θα υπολογιστεί η περιεκτικότητα % w/w της λακτόζης στο γάλα και στο γάλα που υπέστη ζύμωση. Για το σκοπό αυτό θα πραγματοποιηθεί ιωδομετρική ογκομέτρηση.

**Λίστα απαραίτητων οργάνων:**

- γάλα σε πλαστικό ποτήρι των 300 mL (με σήμανση MILK)
- γάλα που έχει υποστεί ζύμωση (σε πλαστικό μπουκαλάκι των 50 mL)
- διάλυμα  $CuSO_4$  ((σε πλαστικό μπουκαλάκι των 50 mL)

- διάλυμα NaOH 0.5 M (σε πλαστικό μπουκαλάκι των 50 mL)
- διάλυμα HCl 1 M (σε πλαστικό μπουκαλάκι των 50 mL)
- διάλυμα 0.5% starch (διάλυμα αμύλου (starch) σε σταγονομετρικό μπουκαλάκι)
- διάλυμα I<sub>2</sub> 0.0500 M (σε κωνική φιάλη των 100 mL Erlenmeyer flask καλυμμένο με φύλλο αλουμινίου)
- 2 ογκομετρικές φιάλες με πλαστικά πώματα (250 mL)
- 4 κωνικές φιάλες με γυάλινα πώματα (200 mL)
- 2 ποτήρια ζέσεως (250 mL)
- 1 ποτήρι ζέσεως 100 mL για αποσταγμένο νερό
- 1 σιφώνιο πληρώσεως των 10 mL
- 1 σιφώνιο πληρώσεως των 25 mL
- γυάλινη ράβδος
- προχοΐδα σε ορθοστάτη (γεμισμένη με διάλυμα Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0.100 M)
- ποτήρι ζέσεως κάτω από την προχοΐδα (100 mL)
- στρόγγυλα χαρτιά διήθησης (σε πλαστικό σακουλάκι)
- πλαστικό χωνί (μπλε)
- 7 πιπέτες Pasteur
- 3 πλαστικές σωλήνες φυγοκέντρωσης (15 mL)
- ζυγός
- 3 φύλλα αλλουμινίου
- 2 πλαστικά μακρόστενα πουάρ για τα σιφώνια πληρώσεως (κόκκινα)

**Αν χρειάζεστε περισσότερα χαρτιά διήθησης ή χαρτομάντιλα ή ποσότητες χημικών ζητήστε τις από τον βοηθό εργαστηρίου (το διάλυμα Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> θα προστεθεί στην προχοΐδα από τον βοηθό). Δε θα αφαιρεθούν μονάδες γι' αυτό.**

### ***Πειραματική διαδικασία:***

**Προσοχή!** Εκτός από το τυφλό δείγμα, θα χρειαστεί να ετοιμάσετε και να ογκομετρήσετε δυο δείγματα γάλακτος και γάλακτος που έχει υποστεί ζύμωση. Παρακαλείστε να προσέξετε το στάδιο 13 για να προγραμματίσετε κατάλληλα το χρόνο σας!

1. **Πριν από κάθε φορά που θα πάρετε δείγμα**, ανακινείτε (με απλό αναποδογύρισμα της φιάλης και όχι ταρακούνημα) προσεχτικά και καλά το μπουκάλι γάλακτος και το μπουκάλι γάλακτος που έχει υποστεί ζύμωση ώστε να αναμιχθούν οι διαφορετικές στιβάδες. Μην ανακινείτε τα μπουκάλια πολύ έντονα ώστε να μη δημιουργηθεί αφρός!
2. Ζυγίστε περίπου 10 g γάλακτος σε μια **ογκομετρική φιάλη** των 250 mL με τη βοήθεια της πιπέτας. Γράψτε την ακριβή μάζα που ζυγίσατε στον Πίνακα 3.1 **στο φύλλο απαντήσεων**. Προσθέστε αποσταγμένο νερό μέχρι το μέσο της φιάλης και ανακοινίστε κυκλικά.



3. Για την ιζηματοποίηση των πρωτεϊνών στο γάλα προσθέστε περίπου 5 mL διαλύματος  $\text{CuSO}_4$ , χρησιμοποιώντας πιπέτα Pasteur ή φυγόκεντρο σωλήνα των 15 mL και ανακινείτε το μείγμα. Στη συνέχεια προσθέστε περίπου 4 mL του διαλύματος  $\text{NaOH}$  0.5 M στο μείγμα χρησιμοποιώντας πιπέτα Pasteur ή φυγόκεντρο σωλήνα των 15 mL και ανακινείτε το μείγμα ξανά!
4. Γεμίστε τη φιάλη με αποσταγμένο νερό μέχρι τη χαραγή, βάλτε το πλαστικό πώμα, ανακινήστε καλά και αφήστε τα 20 λεπτά για τις αντιδράσεις να γίνουν. Τοποθετήστε το αυτοκόλλητο χαρτί post-it με τον αρχικό χρόνο στην φιάλη για ευκολία!
5. Αφού έχουν περάσει 20 λεπτά, χρησιμοποιήστε ένα χωνί και ένα στεγνό χαρτί διήθησης και γυάλινη ράβδο (αν χρειάζεται) για να διηθήσετε το διάλυμα σε ποτήρι ζέσεως 250 mL.
6. Μετρήστε 25.00 mL του διηθήματος σε κωνική φιάλη των 200 mL.
7. Προσθέστε 10.00 mL διαλύματος  $\text{I}_2$  0.0500 M στο μείγμα και ανακινείτε ελαφρά.
8. Προσθέστε περίπου 7.5 mL διαλύματος  $\text{NaOH}$  0.5 M χρησιμοποιώντας πιπέτα Pasteur ή φυγόκεντρο σωλήνα στο μείγμα και το the ανακινείτε.
9. Κλείστε την κωνική φιάλη με το γυάλινο πώμα και προστατέψτε το διάλυμα από το φως τυλίγοντας το σε αλουμινόχαρτο για 20 λεπτά.
10. Στη συνέχεια, προσθέστε περίπου 4 mL διαλύματος  $\text{HCl}$  1 M, χρησιμοποιώντας πιπέτα Pasteur ή φυγόκεντρο σωλήνα των 15 mL και **σημειώστε την αρχική τιμή της προχοΐδας** στον Πίνακα 3.2 του φύλλου απαντήσεων. Στη συνέχεια, ξεκινήστε την ογκομέτρηση του ελεύθερου ιωδίου με το διάλυμα  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,100 M. Όταν το διάλυμα χρωματιστεί ελαφρώς κίτρινο, προσθέστε μερικές σταγόνες διαλύματος αμύλου, έως ότου το διάλυμα να γίνει σκούρο μπλε. Ογκομετρήστε μέχρι να εξαφανιστεί το μπλε χρώμα και να μην ξαναγίνει μπλε για τα επόμενα 30 δευτερόλεπτα. Καταγράψτε τα αποτελέσματά σας στον πίνακα 3.2 **του φύλλου απαντήσεων**.
11. Επαναλάβετε τα στάδια 6 έως 10 όσες φορές χρειαστεί μέχρι να υπολογίσετε με ακρίβεια την περιεκτικότητα της λακτόζης στο δείγμα.
12. Επαναλάβετε το πείραμα με το τυφλό δείγμα (αποσταγμένο νερό). Για το τυφλό δείγμα, πραγματοποιήστε μόνο τα βήματα 6 έως 11 και χρησιμοποιείτε αποσταγμένο νερό αντί του διηθήματος στο βήμα 6. Γράψτε τα αποτελέσματα στον πίνακα 3.2 **στο φύλλο απαντήσεων**. Το σιφώνιο πληρώσεως, το ποτήρι ζέσεως των 250 mL ποτήρι και το χωνί θα πρέπει να ξεπλυθούν με αποσταγμένο νερό. Το χωνί θα πρέπει να σκουπιστεί με χαρτομάντιλα, εάν είναι απαραίτητο. Μπορείτε να χρησιμοποιήσετε το νεροχύτη που βρίσκεται στην άκρη του εργαστηριακού σας πάγκου.
13. Χρησιμοποιώντας γάλα το οποίο έχει υποστεί ζύμωση, αντί του κανονικού γάλακτος, επαναλάβετε τα βήματα 1 έως 11. Αυτή η ογκομέτρηση δεν πρέπει να είναι μεγάλης ακρίβειας (δύο παράλληλες ογκομετρήσεις είναι αρκετές). Είναι σημαντικό να εκτιμηθεί κατά πόσον η περιεκτικότητα σε λακτόζη του γάλακτος που έχει υποστεί ζύμωση είναι μεγαλύτερη, ίση ή μικρότερη από το δείγμα γάλακτος. Καταγράψτε τα αποτελέσματα στους Πίνακες 3.1 και 3.3

**στο φύλλο απαντήσεων.** Το σιφώνιο πλήρωσεως των 25 mL πρέπει να ξεπλυθεί με γάλα που έχει υποστεί ζύμωση και η ογκομετρική φιάλη των 250 mL πρέπει να ξεπλυθεί με αποσταγμένο νερό, αν είναι απαραίτητο.

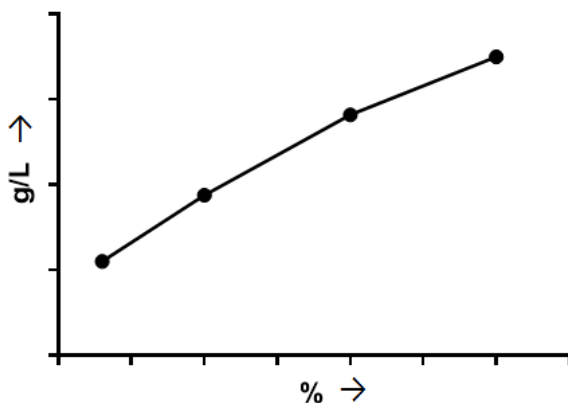
**A.3.3** Ελέγξτε ότι έχετε συμπληρώσει τους πίνακες 3.1, 3.2 and 3.3 **στο φύλλο απαντήσεων** όπως απαιτείται.

**A.3.4** Υπολογίστε την % w/w περιεκτικότητα της λακτόζης στο μείγμα γάλακτος και στο μίγμα γάλακτος που έχει υποστεί ζύμωση. Από τους πίνακες 3.2 και 3.3 **στο φύλλο απαντήσεων** χρησιμοποιήστε τον όγκο που θεωρείτε εσείς αποδεκτό. Η γραμμομοριακή μάζα τη λακτόζης είναι 342 g/mol ( $M_r = 342$ ).

## **ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ A.4 Παραγωγή γάλακτος – Συμπεράσματα**

Σε αυτή τη δραστηριότητα θα πρέπει να αποφασίσετε αν το γάλα που έχετε αναλύσει στις προηγούμενες δραστηριότητες (Δραστηριότητες A.1–A.3) είναι κατάλληλο για διάφορες εμπορικές χρήσεις από την εταιρία cowBOOM.

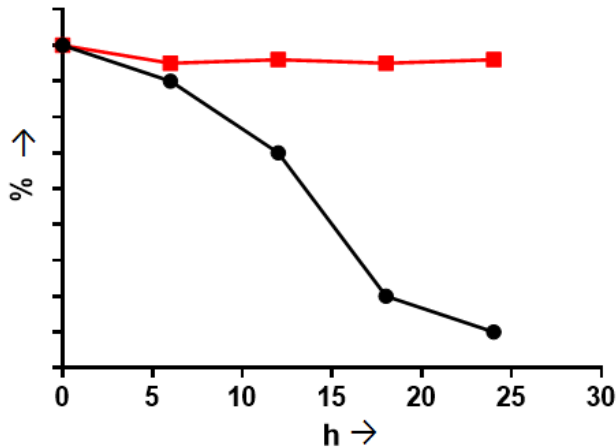
**A.4.1** Η εταιρία cowBOOM θα ήθελε να πωλήσει ένα ευεργετικό γάλα στο οποίο έχει προστεθεί βιταμίνη D. Το Σχήμα 4.1 δείχνει τη εξάρτηση της διαλυτότητας της βιταμίνης D στο γάλα σε σχέση με την περιεκτικότητα λίπους στο γάλα. Με βάση τα αποτελέσματα της δραστηριότητας A.1, ποιο γάλα θα επιλέγατε γι' αυτό το σκοπό (**K, L, M, or N**); Για λόγους τυποποίησης και ποιότητας, είναι σημαντικό να σχηματίζεται κρέμα στην επιφάνεια του γάλακτος.





**Σχήμα 4.1.** Διαλυτότητα (g/L) της βιταμίνης D σε σχέση την περιεκτικότητα λίπους στο γάλα (% w/w). Τα βέλη δείχνουν την κατεύθυνση αύξησης των τιμών.

**A.4.2** Η εταιρία cowBOOM σκοπεύει να παράξει γάλα χωρίς αλλεργιογόνα για ανθρώπους οι οποίοι είναι αλλεργικοί σε συγκεκριμένους τύπους αντιβιοτικών - γενταμικίνης (gentamicin).

Το Σχήμα 4.2 δείχνει την εξάρτηση της περιεκτικότητας της λακτόζης στο γάλα στο οποίο προστέθηκε η ουσία Β (όπως στην Δραστηριότητα Α.2.1), συναρτήσει του χρόνου επώασης παρουσία ή απουσία του αντιβιοτικού. Πιστεύετε ότι το γάλα που χρησιμοποιήθηκε στις Δραστηριότητες Α.2 και Α.3 θα ήταν κατάλληλο για το εμπόριο ως αντιαλλεργικό (allergene free milk); (ναι ή όχι)



**Σχήμα 4.2.** Σχετική περιεκτικότητα (w/w %) της λακτόζης συναρτήσει του χρόνου επώασης (h)

του γάλακτος στο οποίο έχει προστεθεί η ουσία Β και απουσιάζει η γενταμυκίνη (  ) και με την παρουσία ιχνών γενταμυκίνης (  ). Τα βέλη δείχνουν την κατεύθυνση αύξησης των τιμών.

**A.4.3** Περίπου το 65% των ανθρώπων έχουν δυσανεξία στη λακτόζη. Η cowBOOM θα ήθελε να επωφεληθεί από αυτό και να πωλήσει γάλα σε ανθρώπους που έχουν δυσανεξία στη λακτόζη. Το εν λόγω γάλα θα πρέπει να περιέχει λιγότερο από 0.01% λακτόζης κατά μάζα. Πιστεύετε ότι το γάλα που χρησιμοποιήσατε στις Διεργασίες Α.2 και Α.3 θα ήταν κατάλληλο για με σήμανση ως γάλα χωρίς λακτόζη; (ναι ή όχι)

**A.4.4** Τέλος, η cowBOOM σκοπεύει να πουλήσει υποαλλεργικό γάλα σε ανθρώπους που είναι αλλεργικοί στην καζεΐνη. Το εν λόγω γάλα θα πρέπει να περιέχει λιγότερο από 0,005% καζεΐνης (σύνολο α, β και κ) κατά μάζα. Πιστεύετε ότι το γάλα που χρησιμοποιήθηκε στις Δραστηριότητες Α.2 και Α.3 θα είναι κατάλληλο για το σκοπό αυτό; (ναι ή όχι)