



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ

Διπλωματική Εργασία

Εγκλεισμός μορίων με αντιβιοεπιστρωτική δράση
(antifouling) σε νανοσωματίδια πολυ(γαλακτικού οξέος)

Αριστοτέλης Α. Καμτσικάκης

Επιβλέπουσα

Σταματίνα Ν. Βουγιούκα

Επίκουρος Καθηγήτρια Ε.Μ.Π

Αθήνα, Οκτώβριος 2015

Στην αγαπημένη μου αδερφή,

Μυρτώ

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Πολυμερών της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου υπό την επίβλεψη της Επίκουρης Καθηγήτριας Ε.Μ.Π κας Σταματίνας Ν. Βουγιούκα κατά το ακαδημαϊκό έτος 2014-15. Η ολοκλήρωση της εν λόγω διπλωματικής εργασίας σηματοδοτεί το κλείσιμο του πενταετή κύκλου σπουδών μου στη Σχολή Χημικών Μηχανικών του Ε.Μ.Π. Ως εκ τούτου, θα ήθελα να ευχαριστήσω ορισμένους ανθρώπους οι οποίοι υπήρξαν βασικοί συντελεστές αυτής της προσπάθειας.

Αρχικά, το μεγαλύτερο ευχαριστώ ανήκει στην επιβλέπουσα καθηγήτριά μου, κα. Σταματίνα Βουγιούκα, για τις συμβουλές της, την υπομονή της, την ενασχόλησή της με τους προβληματισμούς μου και την γενικότερη καθοδήγησή της για την επιτυχή ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας. Ακολούθως, θα ήθελα να ευχαριστήσω το συνδημιουργό του θέματος της διπλωματικής μου εργασίας κ. Αντώνη Καραντώνη, Επίκουρο Καθηγητή Ε.Μ.Π, ο οποίος συνέβαλε με τον ξεχωριστό τρόπο του στην επιτυχή ολοκλήρωση των σπουδών μου έχοντας μόνιμα ανοιχτή την πόρτα του για μένα και τους συμφοιτητές μου. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Ε.Μ.Π κ. Κωνσταντίνο Παπασπυρίδη για τη συμμετοχή του στην τριμελή επιτροπή της διπλωματικής εργασίας και την καθοδήγησή του.

Στη συνέχεια, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην Επίκουρη Καθηγήτρια Ε.Μ.Π κα. Αναστασία Δέτση για τη διάθεση και το χρόνο που μου αφιέρωσε. Επιπλέον, θα ήταν άδικο να ξεχάσω να ευχαριστήσω τους καθηγητές Ε.Μ.Π. κ. Δημήτρη Χατζηαβραμίδα και κα. Δήμητρα Δημοτικάλη για τις συζητήσεις που είχαμε κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

Τα πειράματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας πραγματοποιήθηκαν κατά κόρον στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Πολυμερών, ωστόσο τμήματα της πειραματικής διαδικασίας έλαβαν χώρα και στα Εργαστήρια Οργανικής Χημείας, Βιοτεχνολογίας, Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών και Γενικής Χημείας. Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω το προσωπικό και τους υποψήφιους διδάκτορες των προαναφερθέντων εργαστηρίων για την αρμονική συνεργασία και το φιλικό κλίμα. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ. Δημήτρη Κορρέ, ΕΔΙΠ του Εργαστηρίου Τεχνολογίας Πολυμερών, ο οποίος εκτέλεσε - μεταξύ άλλων - χρέη ψυχολόγου στις δύσκολες στιγμές που επιφυλάσσει πάντα μία πειραματική διπλωματική. Εξάλλου, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στους υποψήφιους διδάκτορες Ελένη Καβέτσου, Ευστράτιο Νικολάιβιτς και Ευαγγελία Κιοσίδου των Εργαστηρίων Οργανικής Χημείας, Βιοτεχνολογίας και Ναυπηγικής Τεχνολογίας, αντίστοιχα. Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ. Πέτρο Σχοινά για το χρόνο που αφιέρωσε κατά την πειραματική διαδικασία της SEM και την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ε.Μ.Π κα. Πετρούλα Ταραντίλη για την παροχή της συσκευής υπερήχων με ακίδα. Τέλος, θα

ήθελα να απευθύνω τις ευχαριστίες μου στην εταιρία ΧΡΩΤΕΧ και πιο συγκεκριμένα στην κα. Καρανά για την ευγενική χορηγία των ενώσεων προς εγκλεισμό.

Από τις ευχαριστίες δε θα μπορούσαν να λείπουν τα αγαπημένα μου πρόσωπα, φίλοι εντός και εκτός σχολής, οι οποίοι με συμβούλεψαν και με παρακίνησαν να ολοκληρώσω επιτυχώς τις σπουδές μου. Ωστόσο, ο σημαντικότερος αρωγός και υποστηρικτής αυτής της προσπάθειας υπήρξε η οικογένειά μου η οποία μου προσέφερε ανιδιοτελώς όσα χρειαζόμουν. Φυσικά, δε θα μπορούσα να παραλείψω τη Μάνια Ρηγοπούλου η οποία με ενθάρρυνε και με συμβούλευε αδιάκοπα τα τελευταία πέντε χρόνια όντας παράλληλα ο πιο υπομονετικός ακροατής μου.

Αριστοτέλης Καμτσικάκης

Αθήνα 2015

Περίληψη

Αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτελεί ο εγκλεισμός τριών εμπορικών ενώσεων με αντιβιοεπιστρωτικές (antifouling) ιδιότητες και πιο συγκεκριμένα της ένωσης του Irgarol 1051TM, της EconeaTM και του Zinc Pyrithione σε πολυμερικά νανοσωματίδια πολυ(γαλακτικού οξέος) (PLA). Ο στόχος της διπλωματικής εργασίας περιορίζεται στην προκαταρκτική μελέτη της ικανότητας εγκλεισμού των ενώσεων σε αναλογία ένωσης:πολυμερούς 40 % με την τεχνική της γαλακτωματοποίησης – εξάτμισης του διαλύτη ως μέθοδο παρασκευής των σωματιδίων και το χαρακτηρισμό των παραγόμενων προϊόντων.

Ειδικότερα, η αυθόρμητη βιοεπίστρωση επιφανειών στο θαλάσσιο περιβάλλον αποτελεί ένα διαχρονικό πρόβλημα της θαλάσσιας βιομηχανίας με οικονομικές και περιβαλλοντικές συνέπειες, όπως η αύξηση της κατανάλωσης καυσίμων, η αύξηση του κόστους συντήρησης και η ελάττωση του χρόνου ενεργής πλεύσης και ζωής του πλοίου. Η αντιμετώπιση της βιοεπίστρωσης πραγματοποιείται με ειδικές επικαλύψεις με αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες, οι οποίες αποτρέπουν την προσκόλληση ή/και την ανάπτυξη των θαλάσσιων οργανισμών στην επιφάνεια του πλοίου. Τα υφαλοχρώματα με αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες διακρίνονται σε χημικώς ενεργές και μη τοξικές τεχνολογίες. Τα χημικώς ενεργά υφαλοχρώματα φέρουν συνήθως ανόργανα συστατικά, όπως το Cu_2O , αλλά και οργανικά βιοκτόνα όπως το Irgarol, η Econea και το Zinc Pyrithione τα οποία λειτουργούν συμπληρωματικά στην αντιβιοεπιστρωτική δράση των ανόργανων συστατικών. Κάθε χημικώς ενεργό υφαλόχρωμα παρουσιάζει διαφορετικό μηχανισμό δράσης και απελευθέρωσης των βιοκτόνων για την αντιμετώπιση της βιοεπίστρωσης. Ωστόσο, κοινό γνώρισμα αποτελεί σε πολλές περιπτώσεις η έκπλυση (leaching) των ενισχυτικών οργανικών βιοκτόνων προς το θαλάσσιο περιβάλλον πριν προλάβουν να δράσουν.

Ο εγκλεισμός δραστικών ενώσεων σε κατάλληλους φορείς, ανόργανους ή οργανικούς, αποτελεί μία διαδεδομένη μέθοδο για την προστασία των συστατικών από το περιβάλλον τους και την ελεγχόμενη απελευθέρωσή τους. Το πολυμερές του πολυ(γαλακτικού οξέος) αποτελεί έναν ευρέως χρησιμοποιούμενο βιοδιασπώμενο φορέα για εφαρμογές εγκλεισμών. Οι τεχνικές παραγωγής σωματιδίων με εγκλεισμένες ενώσεις είναι πολυάριθμες με την τεχνική γαλακτωματοποίησης – εξάτμισης του διαλύτη να αποτελεί την πιο διαδεδομένη μέθοδο παραγωγής σωματιδίων από προπαρασκευασμένα πολυμερή. Επομένως, στην παρούσα διπλωματική επιλέχθηκε η χρήση της τεχνικής γαλακτωματοποίησης – εξάτμισης του διαλύτη για την παραγωγή σωματιδίων PLA με εγκλεισμένες ενώσεις το Irgarol, την Econea και το Zinc Pyrithione.

Κατά την πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκε μελέτη των πολυμερών (PLA 4042D και PLI005) που χρησιμοποιήθηκαν ως φορείς εγκλεισμού με ιξωδομετρία διαλύματος για τον υπολογισμό του μοριακού τους βάρους και των θερμικών τους χαρακτηριστικών μέσω διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC) και

θερμοσταθμικής ανάλυσης (TGA). Οι θερμικές τεχνικές εφαρμόστηκαν και για το χαρακτηρισμό των υπόλοιπων υλικών που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία των εγκλεισμών. Τα παραχθέντα σωματίδια χαρακτηρίστηκαν μέσω δυναμικής και ηλεκτροφορητικής σκέδασης φωτός (DLS και ELS) ως προς το μέγεθος και το ζ-δυναμικό τους, αντίστοιχα. Τα παραγόμενα σωματίδια είχαν μέγεθος στην νανοκλίμακα, δηλαδή από 1 έως 1000 nm, και ήταν σχετικά μονοδιάσπαρτα με τιμές δείκτη πολυδιασποράς (PDI) μικρότερες από 0,4 τόσο πριν όσο και μετά τη διαδικασία λυοφιλοποίησης. Το ζ-δυναμικό των διασπορών κυμαινόταν στην περιοχή -2 mV έως -14 mV. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός της απόδοσης των διεργασιών παραγωγής οι οποίες παρουσίαζαν τιμές από 30 % έως και 83 %. Εξάλλου, η φασματοσκοπία υπεριώδους – ορατού (UV-Vis) χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της απόδοσης εγκλεισμού των ενώσεων με έμμεσο (εύρεση μάζας μη εγκλεισμένης ενώσης) και άμεσο τρόπο (εύρεση μάζας εγκλεισμένης ένωσης). Οι αποδόσεις εγκλεισμού ήταν ιδιαίτερα υψηλές (> 86 %). Τέλος, οι μέθοδοι DSC και TGA χρησιμοποιήθηκαν για το θερμικό χαρακτηρισμό των σωματιδίων και για τη συγκριτική μελέτη τους με τις αντίστοιχες πρώτες ύλες των εγκλεισμών.

Λέξεις κλειδιά

Βιοεπίστρωση, Ενώσεις με αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες, Ενισχυτικά βιοκτόνα, Irgarol, Econea, Zinc Pyrithione, Εγκλεισμός, Πολυ(γαλακτικό οξύ) (PLA), Τεχνική γαλακτωματοποίησης – εξάτμισης του διαλύτη.

Abstract

The scope of this diploma thesis is the encapsulation of three commercial antifouling compounds and more particularly Irgarol 1051TM, EcomeaTM and Zinc Pyrithione in poly(lactic acid) (PLA) nanoparticles. The main purpose of this thesis is limited to the preliminary study of the feasibility of encapsulating these molecules at drug:polymer weight ratio of 40 % with the emulsification – solvent evaporation technique and the characterization of the manufactured products.

More specifically, the spontaneous biofouling of immersed surfaces in water is an age-old problem of marine industry with economic and environmental impacts, as for example increase in fuel consumption, increase in maintenance expenditures and decrease of the active time and lifetime of the ship. Antifouling coatings are utilized to prevent the attachment and/or the growth of fouling organisms. The antifouling paints are classified in chemically active and nontoxic technologies. The chemically active antifouling paints usually carry inorganic antifouling components (e.g Cu₂O) and organic biocides, such as Irgarol, Ecomea and Zinc Pyrithione, which broaden the antifouling range of the coating. Every single chemically active antifouling paint exhibits a different antifouling mechanism and release profile of the biocides to protect the ship. However, a commonly observed phenomenon is the leaching of booster biocides in the aquatic environment before exploiting their antifouling actions.

The encapsulation of bioactive molecules in suitable inorganic or organic carriers is a well-known practice to protect the compounds from their environment and to ensure their controlled release. The polymer of poly(lactic acid) exemplify a widely used biodegradable carrier for encapsulation applications. The methods of manufacturing particles containing compounds are numerous with the emulsification – solvent evaporation technique being the most commonly used method for producing particles by preformed polymers. Thus, this thesis adopted the technique of emulsification – solvent evaporation to manufacture PLA nanoparticles containing active molecules and more specifically Irgarol, Ecomea and Zinc Pyrithione.

Solution viscometry was conducted to define the molecular weight of the polymers (PLA 4042D and PLI005) that were utilized as matrices during the manufacturing process. Except for solution viscometry, Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Thermogravimetric Analysis (TGA) were applied to the polymer carriers in order to examine their thermal properties. In addition, these thermal techniques were used to characterize the raw materials of the encapsulation process. The manufactured particles were analyzed with dynamic and electrophoretic light scattering (DLS and ELS) in order to determine their size and their ζ -potential, respectively. The produced particles displayed sizes in the nanoscale (1 – 1000 nm) and they were characterized as monodisperse due to their relatively low polydispersity index (PDI) (< 0,4) both before and after the lyophilization process. The determined ζ -potential values were

ranging between -2 mV and -14 mV. Furthermore, the yield of the manufacturing process varied, though it was fluctuating between 30 % and 83 % . UV-Vis spectrometry was utilized to determine the encapsulation efficiency both directly (by the determination of the encapsulated drug mass) and indirectly (by the determination of the non-encapsulated substance). The encapsulation efficiency values were significantly high (> 86 %). Finally, the thermal tools of DSC and TGA were applied for the thermal characterization of the manufactured particles and for comparative studies.

Keywords

Biofouling, Antifouling compounds, Booster biocides, Irgarol, Ecomea, Zinc Pyrithione, Encapsulation, Poly(lactid acid) (PLA), Emulsification – solvent evaporation technique.

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	I
Περίληψη	III
Abstract	V
Κατάλογος σχημάτων	XI
Κατάλογος πινάκων	XVII
Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή στη βιοεπίστρωση επιφανειών.....	1
1.1 Γενικά στοιχεία βιοεπίστρωσης.....	1
1.2 Μηχανισμός βιοεπίστρωσης επιφανειών.....	2
1.2.1 Μηχανισμός βιοεπίστρωσης επιφανειών: Στάδιο 1	2
1.2.2 Μηχανισμός βιοεπίστρωσης επιφανειών: Στάδιο 2	3
1.2.3 Μηχανισμός βιοεπίστρωσης επιφανειών: Στάδιο 3	3
1.2.4 Μηχανισμός βιοεπίστρωσης επιφανειών: Στάδιο 4	4
1.2.5 Κατηγοριοποιήσεις επικαθίσεων & σύνοψη μηχανισμού.....	5
1.3 Συνέπειες βιοεπίστρωσης στη θαλάσσια βιομηχανία.....	6
Κεφάλαιο 2. Υφαλοχρώματα με αντιβιοεπιστρωτική δράση	8
2.1 Χρονική εξέλιξη υφαλοχρωμάτων	8
2.2 Κατηγοριοποίηση επιστρώσεων και επικαλύψεων με αντιβιοεπιστρωτική δράση.....	9
2.2.1 Γενικά είδη επιστρώσεων.....	9
2.2.2 Κατηγοριοποίηση επικαλύψεων με αντιβιοεπιστρωτική δράση.....	10
2.3 Οργανικές ενώσεις με αντιβιοεπιστρωτική δράση	20
2.3.1 Γενικά στοιχεία περί ενισχυτικών βιοκτόνων	20
2.3.2 Εμπορικά ενισχυτικά βιοκτόνα	21
2.3.3 Φυσικά ενισχυτικά βιοκτόνα.....	28
Κεφάλαιο 3. Εγκλεισμός ενώσεων με αντιβιοεπιστρωτική δράση	29
3.1 Εγκλεισμός ενώσεων σε βιοδιασπώμενα πολυμερή.....	29
3.1.1 Γενικές έννοιες, ορισμοί και αιτίες εγκλεισμού ενώσεων	29
3.1.2 Τεχνικές εγκλεισμού ενώσεων σε πολυμερικούς φορείς.....	32
3.1.3 Βιοδιασπώμενα πολυμερικά συστήματα.....	38
3.1.4 Φυσικοχημικές ιδιότητες και χαρακτηρισμός σωματιδίων.....	44
3.2 Ενώσεις με αντιβιοεπιστρωτική δράση: αιτίες για τον εγκλεισμό τους....	49

3.3	Ανασκόπηση εργασιών εγκλεισμού παραγόντων με αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες.....	51
3.4	Σκοπός της διπλωματική εργασίας.....	53
Κεφάλαιο 4. Πειραματικό μέρος.....		55
4.1	Χαρακτηρισμός πολυμερών και ενώσεων.....	55
4.1.1	Υλικά.....	55
4.1.2	Όργανα και συσκευές.....	56
4.1.3	Μέθοδοι χαρακτηρισμού.....	57
4.2	Παρασκευή και απομόνωση νανοσωματιδίων.....	67
4.2.1	Υλικά.....	67
4.2.2	Όργανα και συσκευές.....	68
4.2.3	Πειραματική διαδικασία παρασκευής νανοσωματιδίων.....	69
4.2.4	Πειραματική διαδικασία απομόνωσης νανοσωματιδίων.....	79
4.3	Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων.....	82
4.3.1	Υλικά.....	82
4.3.2	Όργανα και συσκευές.....	83
4.3.3	Προσδιορισμός μεγέθους και ζ-δυναμικού νανοσωματιδίων.....	84
4.3.4	Προσδιορισμός απόδοσης εγκλεισμού.....	90
4.3.5	Προσδιορισμός μορφολογικών χαρακτηριστικών σωματιδίων.....	93
4.3.6	Προσδιορισμός θερμικών μεταπτώσεων μέσω DSC.....	95
4.3.7	Προσδιορισμός θερμικής σταθερότητας μέσω TGA.....	95
Κεφάλαιο 5. Αποτελέσματα & Συζήτηση αποτελεσμάτων.....		96
5.1	Χαρακτηρισμός πολυμερών και ενώσεων.....	96
5.1.1	Προσδιορισμός μοριακού βάρους δειγμάτων PLA με ιξωδομετρία διαλύματος.....	96
5.1.2	Αποτελέσματα θερμικών τεχνικών DSC & TGA - σχολιασμός αποτελεσμάτων.....	97
5.2	Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων.....	106
5.2.1	Σύνοψη παραμέτρων ολοκληρωμένων εγκλεισμών.....	106
5.2.2	Μέγεθος και ζ-δυναμικό νανοσωματιδίων.....	107
5.2.3	Απόδοση διεργασίας και εγκλεισμού.....	113
5.2.4	Μορφολογικά χαρακτηριστικά σωματιδίων.....	118
5.2.5	Αποτελέσματα θερμικών τεχνικών DSC & TGA - σχολιασμός αποτελεσμάτων.....	120

5.3 Παρατηρήσεις επί της πειραματικής διαδικασίας	134
5.3.1 Παρατηρήσεις επί της διαδικασίας γαλακτωματοποίησης	134
5.3.2 Παρατηρήσεις επί της διαδικασίας εξάτμισης του οργανικού διαλύτη.....	135
5.3.3 Παρατηρήσεις επί της διαδικασίας προσδιορισμού της απόδοσης εγκλεισμού και της απόδοσης της διεργασίας	137
Κεφάλαιο 6. Συμπεράσματα & Προτάσεις.....	139
6.1 Συμπεράσματα επί της διπλωματικής.....	139
6.2 Προτάσεις για μελλοντική έρευνα.....	140
6.2.1 Συμπληρωματικά πειράματα επί της διπλωματικής.....	140
6.2.2 Τροποποιήσεις επί της πειραματικής διαδικασίας	141
6.2.3 Εγκλεισμός ενζύμων και NPAs σε βιοδιασπώμενα πολυμερή	142
6.2.4 Έρευνα και ανάπτυξη μη τοξικών επικαλύψεων με αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες	143
Ευρετήριο Όρων.....	145
Βιβλιογραφία.....	151

Κατάλογος σχημάτων

Σχήμα 1.1. Βιοεπίστρωση τμήματος πλοίου από σκληρές θαλάσσιες επικαθίσεις.....	1
Σχήμα 1.2. Μηχανισμός ανάπτυξης θαλάσσιας βιοεπίστρωσης.....	2
Σχήμα 1.3. SEM σε εγκάρσια τομή βιοφίλμ με χαρακτηριστική EPS μορφολογία.....	4
Σχήμα 1.4. Μακροεπικαθίσεις θαλάσσιων επιφανειών κατά το 4 ^ο στάδιο του μηχανισμού βιοεπίστρωσης.....	4
Σχήμα 1.5. Διαχωρισμός επικαθίσεων σε σκληρές και μαλακές.....	5
Σχήμα 1.6. Συνέπειες βιοεπίστρωσης της γάστρας των πλοίων (αριστερά: πλοίο με βιοεπίστρωση, δεξιά: πλοίο με antifouling υφαλόχρωμα).....	7
Σχήμα 2.1. Χρονική εξέλιξη υφαλόχρωμάτων με αντιβιοεπιστρωτική δράση.....	8
Σχήμα 2.2. Απεικόνιση επιστρώσεων γάστρας πλοίων.....	9
Σχήμα 2.3. Κατηγοριοποίηση επικαλύψεων με αντιβιοεπιστρωτική δράση.....	10
Σχήμα 2.4. Γενική χημική δομή και κύριος μηχανισμός αντίδρασης του συμπολυμερούς βάσεως πολυ(μεθακρυλικού μεθυλίου) στο θαλασσινό νερό.....	13
Σχήμα 2.5. Αντιβιοεπιστρωτικοί μηχανισμοί ενζύμων.....	14
Σχήμα 2.6. Μικροτοπογραφία δέρματος καρχαρία με αντιβιοεπιστρωτικές δράσεις.....	15
Σχήμα 2.7. Μικροτοπογραφίες επιφανειών και μελέτη διαφοροποίησης σημείων πρόσδεσης.....	16
Σχήμα 2.8. Αναπαράσταση αυτοκαθαρισμού επικάλυψης τύπου FRC με ανάπτυξη υδροδυναμικών τάσεων.....	17
Σχήμα 2.9. Αντιβιοεπιστρωτικοί μηχανισμοί κυριότερων επικαλύψεων και ποιοτική απεικόνιση συμπεριφοράς επικάλυψης στο χρόνο.....	18
Σχήμα 2.10. Μηχανισμός N-αποαλκυλίωσης Irgarol 1051 TM προς GS26575.....	23
Σχήμα 2.11. Μηχανισμός ανασταλτικής δράσης Irgarol στους χλωροπλάστες.....	24
Σχήμα 2.12. Επιλεγμένες εμπορικές εφαρμογές Zinc Pyrithione.....	26
Σχήμα 3.1. Παραγόμενες δομές σωματιδίων από διαδικασίες εγκλεισμού ενώσεων σε πολυμερή.....	29

Σχήμα 3.2. Απεικόνιση των κύριων στόχων που εξυπηρετεί ο εγκλεισμός ενώσεων.	30
Σχήμα 3.3. Κύριες τεχνικές παρασκευής πολυμερικών νανο- και μικρο- σωματιδίων μέσω διασποράς προπαρασκευασμένων πολυμερών	32
Σχήμα 3.4. Κύριες τεχνικές παρασκευής πολυμερικών νανο- και μικρο- σωματιδίων μέσω πολυμερισμού μονομερών.....	33
Σχήμα 3.5. Κύριες τεχνικές παρασκευής πολυμερικών νανο- και μικρο- σωματιδίων μέσω αντιδράσεων διασταύρωσης φυσικών πολυμερών.....	33
Σχήμα 3.6. Τεχνική γαλακτωματοποίησης – εξάτμισης του διαλύτη μονού γαλακτώματος (O/W) και διεργασίες παραλαβής πολυμερικών σωματιδίων	35
Σχήμα 3.7. Τεχνική αυθόρμητης γαλακτωματοποίησης και διεργασίες παραλαβής πολυμερικών σωματιδίων	37
Σχήμα 3.8. Δομική μονάδα του φυσικού πολυμερούς της δεξτράνης.....	40
Σχήμα 3.9. Οπτικά ισομερείς μορφές του γαλακτικού οξέος: (S)- ή L και (R)- ή D ..	42
Σχήμα 3.10. Μοντέλο διπλοστιβάδας και απεικόνιση ζ-δυναμικού.....	46
Σχήμα 3.11. Ποιοτική απεικόνιση καμπύλης ζ-δυναμικού - pH	47
Σχήμα 3.12. Κατάληξη βιοκτόνων μετά την έκπλυσή τους στη θάλασσα. Η ανεξέλεγκτη έκπλυση των βιοκτόνων αποτελεί αντικείμενο περιβαλλοντικού προβληματισμού.	49
Σχήμα 3.13. Υποθετικός ρυθμός απελευθέρωσης βιοκτόνων πριν και μετά τον εγκλεισμό τους.....	50
Σχήμα 3.14. Δομές διαδεδομένων εγκλεισμένων βιοκτόνων για εφαρμογές υφαλοχρωμάτων.....	51
Σχήμα 3.15. Κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν τα συστήματα επικαλύψεων με αντιβιοεπιστρωτική δράση. Οριοθέτηση αντικείμενου διπλωματικής εργασίας.....	53
Σχήμα 3.16. Πειραματικό αντικείμενο διπλωματικής εργασίας.....	53
Σχήμα 4.1. Ιξωδόμετρο τριχοειδούς ροής αιωρούμενης στάθμης τύπου Ubbelohde ..	57
Σχήμα 4.2. Απλοποιημένη απεικόνιση διάταξης DSC	63
Σχήμα 4.3. Συσκευή Mettler DSC 1 STAR ^e System	64

Σχήμα 4.4. Απλοποιημένη απεικόνιση διάταξης TGA	65
Σχήμα 4.5. Συσκευή Mettler Toledo TGA/DSC 1 STAR ^e System	66
Σχήμα 4.6. Γραφική απεικόνιση πειραματικής διαδικασίας παρασκευής και απομόνωσης νανοσωματιδίων	67
Σχήμα 4.7. Διάταξη παρασκευής υδατικού διαλύματος 1% w/v PVA και δοχείο αποθήκευσης.....	71
Σχήμα 4.8. Η διάδοση του ήχου σε ένα υγρό μέσο οδηγεί σε σχηματισμό περιοχών υψηλής πίεσης (compression areas) και αραιώσης (rarefaction areas).....	73
Σχήμα 4.9. Διάταξη γαλακτωματοποίησης με συσκευή υπερήχων με ακίδα (probe). 74	
Σχήμα 4.10. Μακροσκοπική εικόνα O/W γαλακτωμάτων μετά τη διαδικασία γαλακτωματοποίησης και διάταξη απομάκρυνσης του οργανικού διαλύτη υπό μαγνητική ανάδευση	75
Σχήμα 4.11. Διάταξη φυγοκέντρησης Sorvall RC 28S DuPont (αριστερά), κεφαλή φυγοκέντρησης Sorvall F-28/50 (κέντρο) και σωληνάρια τύπου Oak Ridge των 50 ml με σχηματισμένα pellet σωματιδίων στα τοιχώματά τους.....	78
Σχήμα 4.12. Ποιοτικό διάγραμμα φάσεων πίεσης - θερμοκρασίας νερού και απεικόνιση μεταβολής φυσικών καταστάσεων νερού κατά τη λυοφιλοποίηση.....	80
Σχήμα 4.13. Στερεό αφράτο στρώμα/κέικ μετά τη διαδικασία λυοφιλοποίησης	81
Σχήμα 4.14. Ποιοτική απεικόνιση διάταξης δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS)	84
Σχήμα 4.15. Ποιοτική απεικόνιση διάταξης για τον προσδιορισμό του ζ-δυναμικού με ηλεκτροφορητικές μετρήσεις και σκέδαση του φωτός (ELS)	87
Σχήμα 4.16. Διάταξη Zetasizer Nano ZS, Malvern	88
Σχήμα 4.17. Ποιοτική απεικόνιση διάταξης φασματομετρίας υπεριώδους - ορατού..	91
Σχήμα 4.18. Φασματοφωτόμετρο UV-Vis τύπου UV-M51 της BEL Engineering.....	92
Σχήμα 4.19. Διάγραμμα λειτουργίας μίας διάταξης SEM.....	93
Σχήμα 4.20. Δείγμα σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση Irgarol μετά την εξάτμιση του νερού και πριν την επιχρυσώσή του	94
Σχήμα 5.1. Γράφημα DSC του PLA 4042D	97

Σχήμα 5.2. Γράφημα TGA του PLA 4042D.....	98
Σχήμα 5.3. Γράφημα DSC του PLA PLI005.....	99
Σχήμα 5.4. Γράφημα TGA του PLA PLI005.....	99
Σχήμα 5.5. Γράφημα DSC του PVA.....	100
Σχήμα 5.6. Γράφημα TGA του PVA.....	101
Σχήμα 5.7. Γράφημα DSC του Irgarol 1051 TM	102
Σχήμα 5.8. Γράφημα TGA του Irgarol 1051 TM	102
Σχήμα 5.9. Γράφημα DSC της Econea TM	103
Σχήμα 5.10. Γράφημα TGA της Econea TM	104
Σχήμα 5.11. Γράφημα DSC του Zinc Pyrithione.....	105
Σχήμα 5.12. Γράφημα TGA του Zinc Pyrithione.....	105
Σχήμα 5.13. Γραφήματα % έντασης - μεγέθους σωματιδίων για τα τελικά πειράματα πριν τη λυοφιλοποίηση (1 ^η σειρά: κενά σωματίδια και με Irgarol, 2 ^η σειρά: με Econea και με ZPT).....	108
Σχήμα 5.14. Γραφήματα % έντασης - μεγέθους σωματιδίων για τα τελικά πειράματα μετά τη λυοφιλοποίηση (1η σειρά: κενά σωματίδια και με Irgarol, 2η σειρά: με Econea και με ZPT).....	108
Σχήμα 5.15. Γραφήματα συντελεστή συσχέτισης - χρόνου για την περίπτωση των κενών σωματιδίων (αριστερή στήλη) και των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το ZPT (δεξιά στήλη) πριν (πάνω σειρά) και μετά τη λυοφιλοποίηση (κάτω σειρά)....	109
Σχήμα 5.16. Μέγεθος σωματιδίων ως συνάρτηση της απόδοσης εγκλεισμού των ενώσεων.....	110
Σχήμα 5.17. Μέγεθος σωματιδίων πριν και μετά τη λυοφιλοποίηση.....	111
Σχήμα 5.18. Δείκτης πολυδιασποράς (PDI) των σωματιδίων πριν και μετά τη λυοφιλοποίηση.....	111
Σχήμα 5.19. Συσχέτιση ζ-δυναμικού σωματιδίων πριν και μετά τη λυοφιλοποίηση	112
Σχήμα 5.20. Καμπύλη αναφοράς Irgarol 1051 TM για φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού.....	114

Σχήμα 5.21. Καμπύλη αναφοράς Econea για φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού.	115
Σχήμα 5.22. Καμπύλη αναφοράς Zinc Pyrithione για φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού.....	115
Σχήμα 5.23. Συσχέτιση μέσης προσδιοριζόμενης απόδοσης εγκλεισμού ενώσεων με τη διαλυτότητά τους στο νερό	117
Σχήμα 5.24. Εικόνες που ελήφθησαν με τη βοήθεια της διάταξης SEM Quanta 200 της FEI για τα σωματίδια με εγκλεισμένο Irgarol πριν τη λυοφιλοποίηση.....	118
Σχήμα 5.25. Τοπική στοιχειακή ανάλυση δείγματος και συσχέτιση παρουσίας σήματος θείου με την ένωση του Irgarol	119
Σχήμα 5.26. Γράφημα DSC των κενών (blank) σωματιδίων.....	120
Σχήμα 5.27. Γράφημα TGA των κενών (blank) σωματιδίων	121
Σχήμα 5.28. Συγκριτικό γράφημα DSC κενών (blank) σωματιδίων και PLI005	122
Σχήμα 5.29. Συγκριτικό γράφημα TGA κενών (blank) σωματιδίων και PLI005.....	122
Σχήμα 5.30. Γράφημα DSC των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το Irgarol	123
Σχήμα 5.31. Γράφημα TGA των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το Irgarol.....	123
Σχήμα 5.32. Γράφημα ADSC των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το Irgarol....	124
Σχήμα 5.33. Συγκριτικό γράφημα DSC σωματιδίων με Irgarol, κενών σωματιδίων και PLI005.....	126
Σχήμα 5.34. Συγκριτικό γράφημα TGA σωματιδίων με Irgarol, κενών σωματιδίων και PLI005.....	126
Σχήμα 5.35. Γράφημα DSC των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση την Econea....	127
Σχήμα 5.36. Γράφημα TGA των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση την Econea ...	127
Σχήμα 5.37. Συγκριτικό γράφημα DSC σωματιδίων με Econea, κενών σωματιδίων και PLI005	128
Σχήμα 5.38. Συγκριτικό γράφημα TGA σωματιδίων με Econea, κενών σωματιδίων και PLI005	129
Σχήμα 5.39. Γράφημα DSC των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το Zinc Pyrithione.....	130

Σχήμα 5.40. Γράφημα TGA των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το Zinc Pyrithione.....	130
Σχήμα 5.41. Συγκριτικό γράφημα DSC σωματιδίων με Zinc Pyrithione, κενών σωματιδίων και PLI005	131
Σχήμα 5.42. Συγκριτικό γράφημα TGA σωματιδίων με Zinc Pyrithione, κενών σωματιδίων και PLI005	132
Σχήμα 5.43. Συγκριτικό γράφημα DSC όλων των παραχθέντων σωματιδίων	133
Σχήμα 5.44. Συγκριτικό γράφημα TGA όλων των παραχθέντων σωματιδίων	133
Σχήμα 5.45. Γράφημα UV-Vis υπερκείμενων υγρών πρώτης φυγοκέντρωσης πειράματος εγκλεισμού με δραστική ένωση το Irgarol	136
Σχήμα 5.46. Γράφημα UV-Vis υπερκείμενων υγρών δεύτερης φυγοκέντρωσης πειράματος εγκλεισμού με δραστική ένωση το Irgarol	136
Σχήμα 5.47. Γράφημα UV-Vis υπερκείμενων υγρών τρίτης φυγοκέντρωσης πειράματος εγκλεισμού με δραστική ένωση το Irgarol	137

Κατάλογος πινάκων

Πίνακας 1.1. Σύνοψη σταδίων του συνήθη μηχανισμού βιοεπίστρωσης επιφανειών από θαλάσσιους οργανισμούς.....	6
Πίνακας 2.1. Είδη επιστρώσεων γάστρας πλοίων και κύριες λειτουργίες	9
Πίνακας 2.2. Συγκριτική σύνοψη στοιχείων για τα κυριότερα εμπορικά είδη επικαλύψεων με αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες.....	19
Πίνακας 2.3. Συνοπτική απεικόνιση των πιο διαδεδομένων εμπορικών ενισχυτικών βιοκτόνων.....	21
Πίνακας 2.4. Κύρια χαρακτηριστικά Irgarol 1051 TM	22
Πίνακας 2.5. Κύρια χαρακτηριστικά Ecomea TM	25
Πίνακας 2.6. Κύρια χαρακτηριστικά Zinc Pyrithione	27
Πίνακας 3.1. Επίδραση κρίσιμων παραμέτρων τεχνικής γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης του διαλύτη στο μέγεθος των σωματιδίων και στην απόδοση του εγκλεισμού	38
Πίνακας 3.2. Δομικές μονάδες διαδεδομένων προπαρασκευασμένων πολυμερών για χρήση ως φορείς σε πολυμερικά μικρο- και νανο- σωματίδια	41
Πίνακας 3.3. Βιβλιογραφική ανασκόπηση αποπειρών εγκλεισμού παραγόντων με αντιβιοεπιστρωτική δράση για εφαρμογές υφαλοχρωμάτων	52
Πίνακας 4.1. Χημικά αντιδραστήρια πειραματικής διαδικασίας χαρακτηρισμού πολυμερών και ενώσεων.....	55
Πίνακας 4.2. Πολυμερικά υλικά πειραματικής διαδικασίας χαρακτηρισμού πολυμερών και ενώσεων.....	56
Πίνακας 4.3. Όργανα & συσκευές πειραματικής διαδικασίας χαρακτηρισμού πολυμερών και ενώσεων.....	56
Πίνακας 4.4. Χρήσιμες εκφράσεις ιξώδους για την ιξωδομετρία διαλύματος.....	59
Πίνακας 4.5. Μαθηματικές εκφράσεις για τον υπολογισμό του οριακού αριθμού ιξώδους.....	60
Πίνακας 4.6. Βιβλιογραφικές σταθερές K και α της εξίσωσης Mark - Houwing - Sakurada.....	61

Πίνακας 4.7. Πειραματικές συνθήκες χαρακτηρισμού πολυμερών και ενώσεων με DSC.....	64
Πίνακας 4.8. Πειραματικές συνθήκες χαρακτηρισμού πολυμερών και ενώσεων με TGA	66
Πίνακας 4.9. Χημικά αντιδραστήρια πειραματικής διαδικασίας παρασκευής και απομόνωσης νανοσωματιδίων	68
Πίνακας 4.10. Όργανα & συσκευές πειραματικής διαδικασίας παρασκευής και απομόνωσης πολυμερικών νανοσωματιδίων	68
Πίνακας 4.11. Χημικά αντιδραστήρια πειραματικής διαδικασίας χαρακτηρισμού νανοσωματιδίων.....	83
Πίνακας 4.12. Όργανα & συσκευές πειραματικής διαδικασίας χαρακτηρισμού νανοσωματιδίων.....	83
Πίνακας 4.13. Πειραματικές συνθήκες προσδιορισμού θερμικών μεταπτώσεων σωματιδίων μέσω DSC και ADSC*	95
Πίνακας 4.14. Πειραματικές συνθήκες προσδιορισμού θερμικής σταθερότητας σωματιδίων μέσω TGA.....	95
Πίνακας 5.1. Πειραματικά αποτελέσματα ιξωδομετρίας διαλύματος	96
Πίνακας 5.2. Υπολογιζόμενο μέσου ιξώδους μοριακό βάρος πολυμερών PLA 4042D και PLI005	96
Πίνακας 5.3. Σύνοψη θερμικών ιδιοτήτων PLA 4042D.....	98
Πίνακας 5.4. Σύνοψη θερμικών ιδιοτήτων PLA PLI005.....	100
Πίνακας 5.5. Σύνοψη θερμικών ιδιοτήτων Irgarol 1051 TM	103
Πίνακας 5.6. Σύνοψη θερμικών ιδιοτήτων Econea	104
Πίνακας 5.7. Σύνοψη κύριων παραμέτρων των τελικών ολοκληρωμένων πειραμάτων	106
Πίνακας 5.8. Τιμές μεγέθους, PDI και ζ-δυναμικού σωματιδίων τελικών πειραμάτων εγκλεισμού πριν τη διαδικασία λυοφιλοποίησης.....	107
Πίνακας 5.9. Τιμές μεγέθους, PDI και ζ-δυναμικού σωματιδίων τελικών πειραμάτων μετά τη διαδικασία λυοφιλοποίησης.....	107

Πίνακας 5.10. Προσδιορισμός απόδοσης διεργασίας μετά τη διαδικασία λυοφιλοποίησης	113
Πίνακας 5.11. Μήκη κύματος μέγιστης απορρόφησης λ_{\max} των ενώσεων προς εγκλεισμό	114
Πίνακας 5.12. Έμμεσος προσδιορισμός απόδοσης εγκλεισμού μέσω φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού στα υπερκείμενα υγρά των φυγοκεντρήσεων	116
Πίνακας 5.13. Άμεσος προσδιορισμός απόδοσης εγκλεισμού μέσω φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού στα υπερκείμενα υγρά των φυγοκεντρήσεων	116
Πίνακας 5.14. Σύνοψη θερμικών ιδιοτήτων κενών νανοσωματιδίων (NPs) και PLA PLI005.....	121

Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή στη βιοεπίστρωση επιφανειών

1.1 Γενικά στοιχεία βιοεπίστρωσης

Η βιοεπίστρωση¹ (biofouling) αποτελεί δυναμική διαδικασία προσκόλλησης, συσσώρευσης και ανάπτυξης στοιχείων (θαλάσσιας) χλωρίδας και πανίδας σε οποιαδήποτε φυσική ή τεχνητή επιφάνεια. Αυτή η ανεπιθύμητη εγκατάσταση μικρο και μακρο οργανισμών σε επιφάνειες όπως οι γάστρες των πλοίων αποτελεί ένα διαχρονικό μείζον περιβαλλοντικό και οικονομικό ζήτημα για το ναυτιλιακό χώρο.



Σχήμα 1.1. Βιοεπίστρωση τμήματος πλοίου από σκληρές θαλάσσιες επικαθίσεις

Τα προβλήματα που προκύπτουν από τη φυσική βιοεπίστρωση των πλοίων είναι γνωστά στον άνθρωπο εδώ και τρεις χιλιετίες, αφού αρχαίοι πολιτισμοί όπως Φοίνικες, Αιγύπτιοι, Καρχηδόνιοι, Έλληνες και Ρωμαίοι ανέπτυξαν από τότε τις πρώτες τεχνολογίες με αντιβιοεπιστρωτική δράση (antifouling technologies) βασισμένες σε κερί, πίσσα, άσφαλτο, χαλκό και μόλυβδο [1] [2]. Μάλιστα, η πρώτη γραπτή αναφορά στη βιοεπίστρωση των πλοίων ανήκει στον Πλούταρχο (45 – 125 μ.Χ.) ο οποίος καταγράφει την αρνητική επίδρασή της στον πλου και την ανάγκη για απαλλαγή από αυτήν:

«...ὄταν δὲ νοτερὰ σφόδρα καὶ διάβροχος οὔσα φυκία τε πολλὰ καὶ βρυώδεις ἐπιπάγους προσάγηται, τοῦ τε ξύλου τὸν τόμον ἀμβλύτερον ἴσχει τὸ τε κῦμα τῆ γλισχρότητι προσπίπτον οὐ ῥαδίως ἀπολύεται. διὸ καὶ παρανήχουσι τοὺς τοίχους, τὰ βρύα καὶ τὰ φυκία τῶν ξύλων ἀποκαθαίροντες...»

Συμποσιακά, Βιβλίο II, Κεφάλαιο VI, Ενότητα II

Πλούταρχος

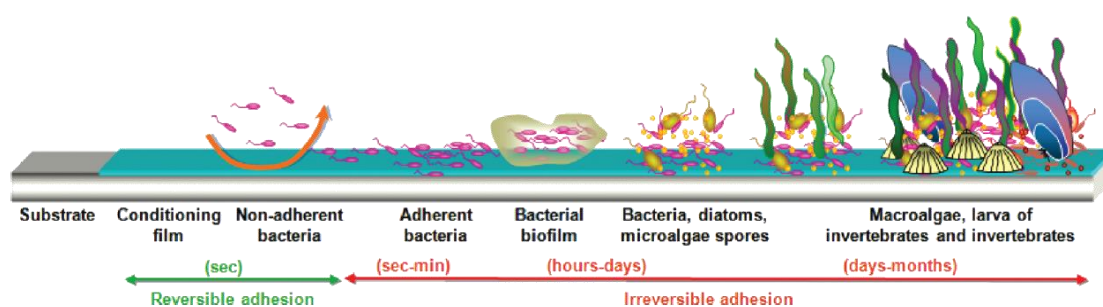
Οποιαδήποτε μη προστατευμένη στερεή επιφάνεια είναι βυθισμένη στο θαλασσινό νερό υφίσταται ταχεία επίστρωση από πληθώρα θαλάσσιων οργανισμών. Περισσότερα από 4000 είδη οργανισμών έχουν ταυτοποιηθεί για συμμετοχή σε φαινόμενα βιοεπίστρωσης [1] [3].

¹ Ο αγγλικός όρος biofouling αποδίδεται στα ελληνικά και ως βιορύπανση.

Η έκταση της βιοεπίστρωσης στα πλοία δεν εξαρτάται μόνο από το χρόνο ακινησίας του πλοίου στο λιμάνι ή την ταχύτητα του πλοίου στη θάλασσα. Η φύση των υδάτων που συναντάει το πλοίο, η οποία είναι συνάρτηση των τοπικών γεωγραφικών ιδιοτήτων, αποτελεί ένα από τους σημαντικότερους παράγοντες της έκτασης του φαινομένου της βιοεπίστρωσης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η περίπτωση του Κουρασάο στην Καραϊβική, όπου το 1963 παρατηρήθηκε ότι δεν αποτελούσε κατάλληλη τοποθεσία για τη μελέτη υφαλοχρωμάτων με αντιβιοεπιστρωτική δράση εξαιτίας των χαμηλών επιπέδων φωσφορικών αλάτων και της παράλληλης απουσίας χλωροφύλλης [3]. Αυτό είχε ως συνέπεια τη δημιουργία δυσμενών συνθηκών ανάπτυξης για φύκη ή ζωικούς οργανισμούς όπως βαλάνους, χιτωνοφόρα, μαλάκια και βρυόζωα [3]. Οι γεωγραφικές ιδιοτητές (π.χ θερμοκρασία, ανανέωση υδάτων, υψόμετρο) καθορίζουν τα χαρακτηριστικά της θάλασσας όπως η αλατότητα, η θερμοκρασία, το pH, τα ποσοστά διαλυμένων αλάτων και η συγκέντρωση του οξυγόνου [3]. Αυτά με τη σειρά τους εξηγούν την ποικιλομορφία της βιοεπίστρωσης τόσο ως προς την έκταση όσο και ως προς το είδος των οργανισμών σε διαφορετικές περιοχές ανά την υφήλιο ανάλογα με το ποια είδη ευνοούνται ως προς την ανάπτυξή τους. Φυσικά, τα διαφορετικά χαρακτηριστικά της βιοεπίστρωσης από περιοχή σε περιοχή δυσχεραίνουν τη διαδικασία παρασκευής μίας κοινά αποδεκτής τεχνολογίας με αντιβιοεπιστρωτική δράση που θα απαντά αποτελεσματικά σε όλες τις περιπτώσεις και θα εξασφαλίζει όσο το δυνατόν καθαρότερες επιφάνειες.

1.2 Μηχανισμός βιοεπίστρωσης επιφανειών

Η αντιμετώπιση της βιοεπίστρωσης επιφανειών προϋποθέτει σε πρώτη φάση την αναγνώριση και κατανόηση των μηχανισμών που διέπουν το φαινόμενο. Η διεργασία της βιοεπίστρωσης αποτελεί μία δυναμική διαδικασία επιφανειακού αποικισμού από χιλιάδες μικροοργανισμούς. Ο μηχανισμός της βιοεπίστρωσης τμηματοποιείται παραδοσιακά σε τέσσερα βασικά στάδια [1] και συνοψίζεται στο Σχήμα 1.2 [4].



Σχήμα 1.2. Μηχανισμός ανάπτυξης θαλάσσιας βιοεπίστρωσης [4]

1.2.1 Μηχανισμός βιοεπίστρωσης επιφανειών: Στάδιο 1

Το πρώτο στάδιο της βιοεπίστρωσης επιφανειών περιλαμβάνει την αυθόρμητη διαδικασία σχηματισμού ενός βιοχημικού υμενίου προετοιμασίας (conditioning film) το οποίο περιλαμβάνει οργανικά μόρια, κυρίως πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες και γλυκοπρωτεΐνες, αλλά πιθανώς και ανόργανα συστατικά όπως μεταλλικά οξείδια [1]

[5] [6]. Το υμένιο προετοιμασίας αποτελεί ένα βιοχημικό φιλμ που μεταβάλλει τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της επιφάνειας-υποστρώματος που προσκολλάται, όπως τα επιφανειακά φορτία, η επιφανειακή ενέργεια και η ικανότητα διαβροχής [5]. Η διαδικασία προσρόφησης του φιλμ πραγματοποιείται με την ανάπτυξη φυσικών δυναμικών όπως κινήσεις Brown (τυχαίες κινήσεις λόγω συγκρούσεων), ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεων και δυνάμεων van der Waals [1]. Ο σχηματισμός του υμενίου προετοιμασίας λαμβάνει χώρα από το πρώτο λεπτό της εμβάπτισης της επιφάνειας εντός του θαλασσινού νερού [3] [5].

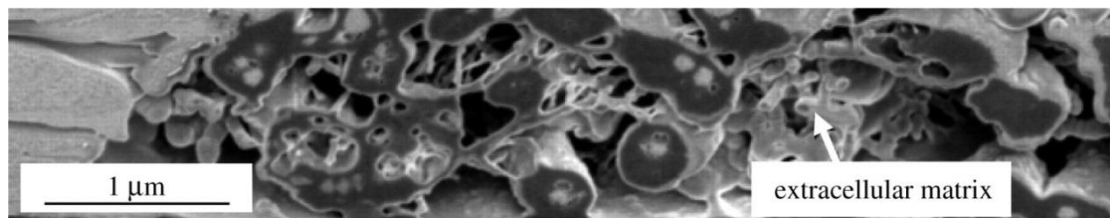
1.2.2 Μηχανισμός βιοεπίστρωσης επιφανειών: Στάδιο 2

Οι πρώτες απόπειρες αποικισμού της τροποποιημένης επιφάνειας από μικροοργανισμούς λαμβάνουν χώρα τις πρώτες 1 με 2 ώρες μετά την εμβάπτιση της επιφάνειας στο νερό [6]. Σε αυτό το δεύτερο στάδιο, γνωστό και ως πρωτοβάθμιος αποικισμός (primary colonization), ταχέως αναπτυσσόμενα βακτήρια και μονοκυτταρικά διάτομα σχηματίζουν την πρώτη βιολογικής φύσης στρώση [1] [4]. Οι προαναφερθέντες μικροοργανισμοί προσροφώνται αρχικά ασθενώς και αντιστρεπτά στην επιφάνεια, αφού αναπτύσσουν ασθενείς μη ομοιοπολικές φυσικές δυνάμεις όπως ηλεκτροστατικές, βαρυτικές και van der Waals [1] [4] [6]. Μετά την ασθενή προσρόφηση των μικροοργανισμών ακολουθεί η οριστική και μη αναστρέψιμη εγκατάστασή τους στην επιφάνεια γεγονός που οφείλεται στην παραγωγή ορισμένων βακτηριακών βιοπολυμερών (exopolymers) τα οποία μεταβάλλουν την επιφανειακή ενέργεια και εξασφαλίζουν τη μη αντιστρεπτή πρόσφυση των μικροοργανισμών [4] [6] [7]. Αυτά τα βιοπολυμερή συνδυαστικά με τις ζωντανές και νεκρές κυτταρικές δομές των μικροοργανισμών σχηματίζουν ένα συνεχές ισχυρό βιοφίλμ το οποίο εξασφαλίζει μεγαλύτερη προστασία από θηρευτές, τοξίνες και περιβαλλοντικές μεταβολές [1]. Ακόμα, καθίσταται ευκολότερη η σύλληψη των απαραίτητων θρεπτικών συστατικών εξαιτίας της ζελατινοειδούς μορφής του πολυμερικού βιοφίλμ [1]. Ο ισχυρά προστατευτικός χαρακτήρας αυτού του βιοφίλμ είναι η αιτία που οποιαδήποτε επιφάνεια, ακόμα και παρουσία βιοκτόνων, θα καλύπτεται από αυτή την στρώση υπό στατικές συνθήκες [1]. Φυσικά, αυτό αποτελεί ένα επιπλέον στρώμα αντίστασης στη διάχυση βιοκτόνων από υφαλοχρώματα με αντιβιοεπιστρωτική δράση που στόχο έχουν μεγαλύτερης κλίμακας οργανισμούς επόμενων σταδίων της βιοεπίστρωσης. Ο πρωτοβάθμιος αποικισμός ολοκληρώνεται συνήθως εντός 24 ωρών από τη στιγμή της εμβάπτισης [3] [6].

1.2.3 Μηχανισμός βιοεπίστρωσης επιφανειών: Στάδιο 3

Το τρίτο στάδιο της βιοεπίστρωσης επιφανειών περιλαμβάνει την εγκατάσταση πολυκύτταρων οργανισμών, όπως σπόρια (μακρο)φυκών, κυπρίδια βαλάνων, θαλάσσιους μύκητες και πρωτόζωα [1]. Αυτοί οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται χρησιμοποιώντας ως καύσιμο συστατικά του βιοφίλμ του δεύτερου σταδίου της βιοεπίστρωσης επιφανειών και αποτελούν το δευτεροβάθμιο αποικισμό (secondary colonization) της επιφάνειας [3] [4]. Η παρουσία συγκολλητικών εκκρίσεων, γνωστές

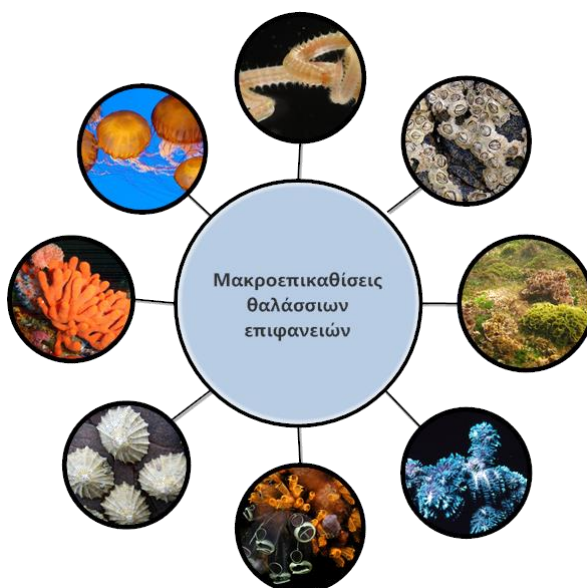
και ως εξωκυτταρικές πολυμερικές ουσίες (extracellular polymeric substances ή EPS), όπως πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες, λιπίδια και νουκλεϊκά οξέα, καθώς και η τραχύτητα της επιφάνειας μετά τον πρωτογενή αποικισμό ευνοούν την παγίδευση περισσότερων σωματιδίων και οργανισμών [1]. Το Σχήμα 1.3 παρουσιάζει μία χαρακτηριστική εικόνα ενός βιοφίλμ παρουσία αυτών των συγκολλητικών εκκρίσεων [8]. Το τρίτο στάδιο ανάπτυξης της βιοεπίστρωσης διαρκεί περίπου μία εβδομάδα [6].



Σχήμα 1.3. SEM σε εγκάρσια τομή βιοφίλμ με χαρακτηριστική EPS μορφολογία [8]

1.2.4 Μηχανισμός βιοεπίστρωσης επιφανειών: Στάδιο 4

Το τέταρτο και τελευταίο στάδιο της βιοεπίστρωσης επιφανειών περιλαμβάνει τον τριτογενή αποικισμό από πρόδρομους οργανισμούς θαλάσσιων μακροοργανισμών και την ανάπτυξη των τελευταίων σε μακροοργανισμούς [3] [4] [6]. Τελικά, η ανώτερη εξωτερική στρώση της επιφάνειας αποτελείται από μακροοργανισμούς όπως θαλάσσια ασπόνδυλα (κνιδόζωα, μαλάκια, θαλάσσια σφουγγάρια, πολύχαιτα, βάλανοι, βρυόζωα, χιτωνοφόρα) και μακροφύκη (Σχήμα 1.4) [1] [4] [6]. Τυπικά χαρακτηριστικά των μακροοργανισμών αποτελούν οι υψηλές ταχύτητες μεταμόρφωσης, οι υψηλοί ρυθμοί ανάπτυξης, η χαμηλή εκλεκτικότητα ως προς το υπόστρωμα και η έντονη προσαρμοστικότητα σε διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες [1]. Το τελευταίο στάδιο λαμβάνει χώρα συνήθως την 2^η με 3^η εβδομάδα από τη στιγμή της εμβάπτισης της επιφάνειας στο θαλασσινό νερό [3] [6].

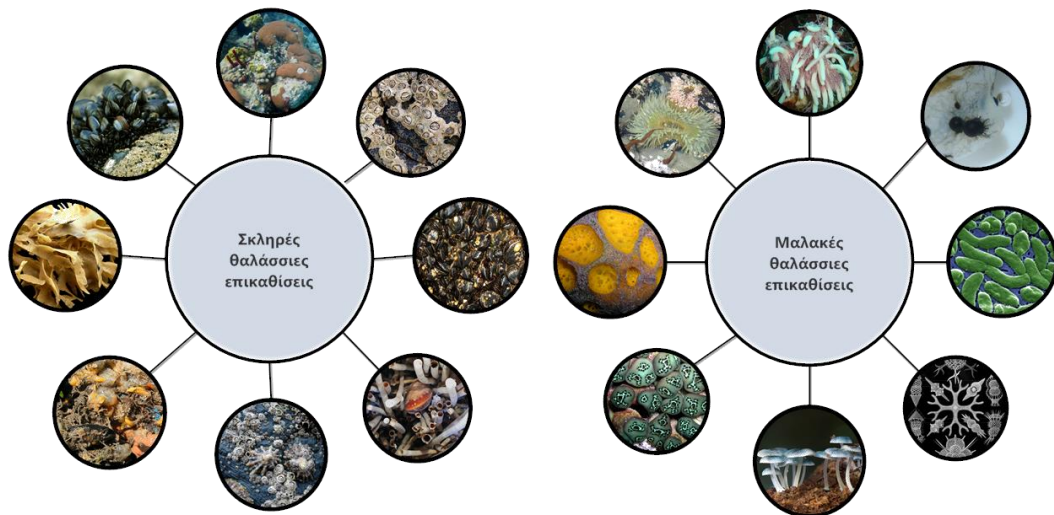


Σχήμα 1.4. Μακροεπικαθίσεις θαλάσσιων επιφανειών κατά το 4^ο στάδιο του μηχανισμού βιοεπίστρωσης

1.2.5 Κατηγοριοποιήσεις επικαθίσεων & σύνοψη μηχανισμού

Ο διαχωρισμός μεταξύ πρωτογενούς και δευτερογενούς αποικισμού οφείλεται στις διαφορές ως προς την πολυπλοκότητα των αναπτυσσόμενων κοινοτήτων μικροοργανισμών [1]. Γενικά, βακτήρια και διάτομα αποτελούν τους πρωτογενείς αποίκους, τα σπόρια των μακροφυκών και τα πρωτόζωα αντιπροσωπεύουν σε μεγάλο βαθμό τους δευτερογενείς αποίκους, ενώ συνολικά όλα τα προηγούμενα είδη μικροοργανισμών αποτελούν τις μικροεπικαθίσεις (microfouling) [6]. Ωστόσο, ορισμένοι δευτερογενείς άποικοι όπως τα σπόρια των μακροφυκών ανήκουν εμμέσως στις μακροεπικαθίσεις (macrofouling) του τέταρτου σταδίου της βιοεπίστρωσης επιφανειών [6]. Επομένως παρατηρείται ένα είδος αλληλοεπικάλυψης μεταξύ μικρο- και μακροεπικαθίσεων [6].

Οι μακροεπικαθίσεις κατηγοριοποιούνται περαιτέρω σε μαλακές (soft) και σκληρές (hard) επικαθίσεις (Σχήμα 1.5) με βάση τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά [9] [10]. Πιο συγκεκριμένα, μαλακές επικαθίσεις θεωρούνται όλοι οι μικροοργανισμοί που συνιστούν τα βιοφίλμ των πρώτων σταδίων του μηχανισμού καθώς και οι περισσότεροι φυτικοί μακροοργανισμοί [9] [10]. Επομένως, σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν βακτήρια, διάτομα, μύκητες, πρωτόζωα, πράσινα, καφέ και κόκκινα φύκη, χιτωνοφόρα, υδροειδή, ανεμώνες, μαλακά κοράλλια και θαλάσσια σφουγγάρια [9]. Από την άλλη μεριά, οι σκληρές επικαθίσεις φέρουν ασβεστολιθικής ή πυριτικής βάσης κελύφη ή γενικότερα δομές οι οποίες οδηγούν σε δραματικές υποβαθμίσεις της επίδοσης των επιστρώσεων και σημαντική αύξηση του βάρους και της τραχύτητας της γάστρας των πλοίων [9] [10]. Οι κύριοι εκπρόσωποι αυτής της κατηγορίας οργανισμών αποτελούν οι βάλανοι, τα πωγωνοφόρα, τα βρυόζωα, τα δίθυρα, όπως μύδια και στρείδια, και ορισμένα επιφλοιωτικά φύκη και σφουγγάρια [9] [10].



Σχήμα 1.5. Διαχωρισμός επικαθίσεων σε σκληρές και μαλακές

Ο μηχανισμός της βιοεπίστρωσης που περιγράφηκε πρωτίτερα είναι ευρέως αποδεκτός και απαντά στις περισσότερες περιπτώσεις φαινομένων βιοεπίστρωσης επιφανειών από θαλάσσιους οργανισμούς. Ωστόσο, υπάρχουν εξαιρέσεις όπου ένα ή περισσότερα στάδια διαφοροποιούνται ως προς τα χαρακτηριστικά τους (π.χ χρονική

διάρκεια) ή αλληλεπικαλύπτονται. Η διαδικασία της βιοεπίστρωσης και η διαδοχικότητα των σταδίων είναι κατά βάση συνάρτηση των υδάτων που πραγματοποιείται η εμβάπτιση (π.χ αλατότητα, επίπεδα μικροβιακού φορτίου) και των χαρακτηριστικών της επιφάνειας (π.χ ασυνέχειες δομής). Ο Πίνακας 1.1 συνοψίζει τον παραδοσιακό μηχανισμό βιοεπίστρωσης επιφανειών [3].

Πίνακας 1.1. Σύνοψη σταδίων του συνήθη μηχανισμού βιοεπίστρωσης επιφανειών από θαλάσσιους οργανισμούς

Στάδιο	Περιγραφή Σταδίου	Προσκολλούμενα στοιχεία	Είδος επίστρωσης	Χρόνος έναρξης
1 ^ο	Προσρόφηση με ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, δυνάμεις van der Waals και κινήσεις Brown	Πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες, γλυκοπρωτεΐνες και πιθανώς ανόργανα μόρια	Στρώμα προετοιμασίας	1 λεπτό
2 ^ο	Πρωτοβάθμιος αποικισμός αρχικά με φυσική προσρόφηση και στη συνέχεια με μόνιμη πρόσφυση σχηματίζοντας ένα σταθερό βιοφίλμ	Βακτήρια, όπως τα <i>Pseudomonas putrefaciens</i> και <i>Vibrio alginolyticus</i> και μονοκυτταρικά φύκη όπως τα <i>Achnantes brevipes</i> , <i>Amphora coffeaeformis</i> , <i>Amphiprora paludosa</i> , <i>Nitzschia pusilla</i> και <i>Licmophora abbreviata</i>	Συνεχές ισχυρό βιοφίλμ αποτελούμενο από τα προσκολλούμενα στοιχεία καθώς και βακτηριακά βιοπολυμερή	1-24 ώρες
3 ^ο	Δευτεροβάθμιος αποικισμός, εγκατάσταση πολυκύτταρων οργανισμών	Σπόρια από μικροφύκη, όπως τα <i>Ulothrix zonata</i> και <i>Enteromorpha intestinalis</i> και πρωτόζωα, όπως τα <i>Vaginicola</i> , <i>Zoothamnium</i> και <i>Vorticella</i>	Βιοεπίστρωση από μικροεπικαθίσεις, σταθεροποίηση του προηγούμενου βιοφίλμ με πολυκύτταρους οργανισμούς.	1 εβδομάδα
4 ^ο	Τριτοβάθμιος αποικισμός και μόνιμη εγκατάσταση από μακροοργανισμούς	Προνύμφες μακροοργανισμών όπως <i>Balanus amphitrite</i> (Crustacea), <i>Laomedea flexuosa</i> (Coelenterata), <i>Electra crustulenta</i> (Briozoa), <i>Spirorbis borealis</i> (Polychaeta), <i>Mytilus edulis</i> (Mollusca) και <i>Styelac oriacea</i> (Tunicata)	Βιοφίλμ αποτελούμενο από θαλάσσια ασπόνδυλα και μακροφύκη	2-3 εβδομάδες

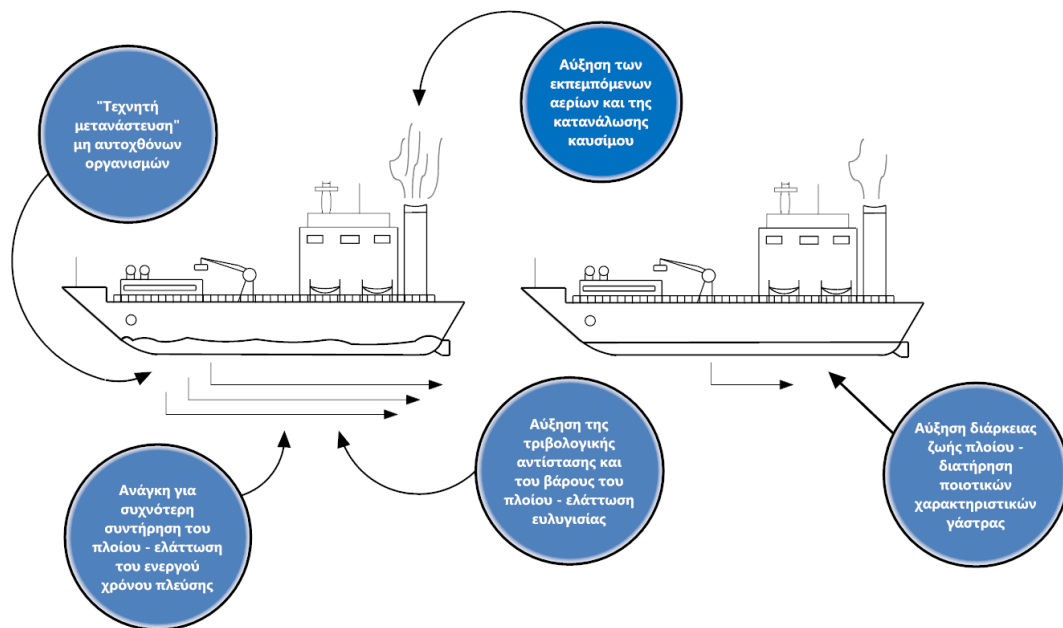
1.3 Συνέπειες βιοεπίστρωσης στη θαλάσσια βιομηχανία

Οι αρνητικές επιπτώσεις της βιοεπίστρωσης στη θαλάσσια βιομηχανία είναι πολυάριθμες και έχουν τόσο οικονομικό όσο και περιβαλλοντικό αντίκτυπο. Πιο συγκεκριμένα, η εγκατάσταση θαλάσσιας χλωρίδας και πανίδας οδηγεί σε [1]:

- Αύξηση της τριβολογικής αντίστασης του πλοίου, αφού αυξάνεται η τραχύτητα της επιφάνειας η οποία ισοδυναμεί με αύξηση του βάρους και του συντελεστή τριβής του πλοίου. Άμεση συνέπεια είναι η ελάττωση της ταχύτητας και της ικανότητας ελιγμών του. Φυσικά, ως αντιστάθμισμα για την επίτευξη ίδιας επίδοσης απαιτείται η κατανάλωση μεγαλύτερης ποσότητας καυσίμων το οποίο έχει τόσο οικονομικές όσο και περιβαλλοντικές συνέπειες, όπως αύξηση των εκπεμπόμενων αερίων που συμβάλλουν στο φαινόμενο του θερμοκηπίου. Η αύξηση στην κατανάλωση καυσίμου μπορεί να φτάσει μέχρι και το 40 % εκτοξεύοντας το συνολικό κόστος ταξιδιού μέχρι και 77 % [11] [12].
- Αύξηση της συχνότητας εργασιών δεξαμενισμού, οπότε ελαττώνεται ο ενεργός χρόνος του πλεούμενου, ενώ ταυτόχρονα ενισχύεται το κόστος

συντήρησης του πλοίου. Πολύ σημαντικό είναι επίσης το γεγονός ότι μεγάλες ποσότητες τοξικών αποβλήτων παράγονται κατά τις επιδιορθωτικές διαδικασίες απορρύπανσης της γάστρας [11].

- Ποιοτική υποβάθμιση των εξωτερικών στρωμάτων της γάστρας του πλοίου, η οποία ενισχύει τα φαινόμενα διάβρωσης και αποχρωματισμού των επιφανειών [13]. Ακόμα, η βιοεπίστρωση της επιφάνειας ευνοεί μεταβολές στην ηλεκτρική αγωγιμότητα των υλικών [13]. Άμεση συνέπεια αποτελεί η ελάττωση του χρόνου ζωής του πλοίου.
- «Τεχνητή μετανάστευση» μη αυτοχθόνων οργανισμών σε μη φυσικά περιβάλλοντά τους κατά τη διάρκεια του πλου, διαταράσσοντας έτσι τη φυσική βιοποικιλότητα των υδάτων [14] [15].



Σχήμα 1.6. Συνέπειες βιοεπίστρωσης της γάστρας των πλοίων (αριστερά: πλοίο με βιοεπίστρωση, δεξιά: πλοίο με antifouling υφαλόχρωμα)

Υπολογίζεται ότι ο παγκόσμιος στόλος καταναλώνει περίπου 300 εκατομμύρια τόνους καυσίμων σε ετήσια βάση [16]. Οι αυστηρότερες περιβαλλοντικές νομοθεσίες σε συνδυασμό με τη γιγαντιαία κατανάλωση καυσίμων που ισοδυναμεί με αντίστοιχης έντασης ρύπους επικεντρώνει το ενδιαφέρον στο περιβαλλοντικό αποτύπωμα της θαλάσσιας βιομηχανίας [16]. Ο Διεθνής Ναυτιλιακός Οργανισμός (IMO ή International Maritime Organization) (2009) εκτιμά ότι δίχως κατάλληλες επανορθωτικές ενέργειες και εισαγωγή νέων τεχνολογιών, οι παγκόσμιες εκπομπές αερίων αναμένεται να αυξηθούν, εξαιτίας της όλο και αυξανόμενης κατανάλωσης καυσίμων, από 38 έως και 72 % μέχρι το 2020 [16].

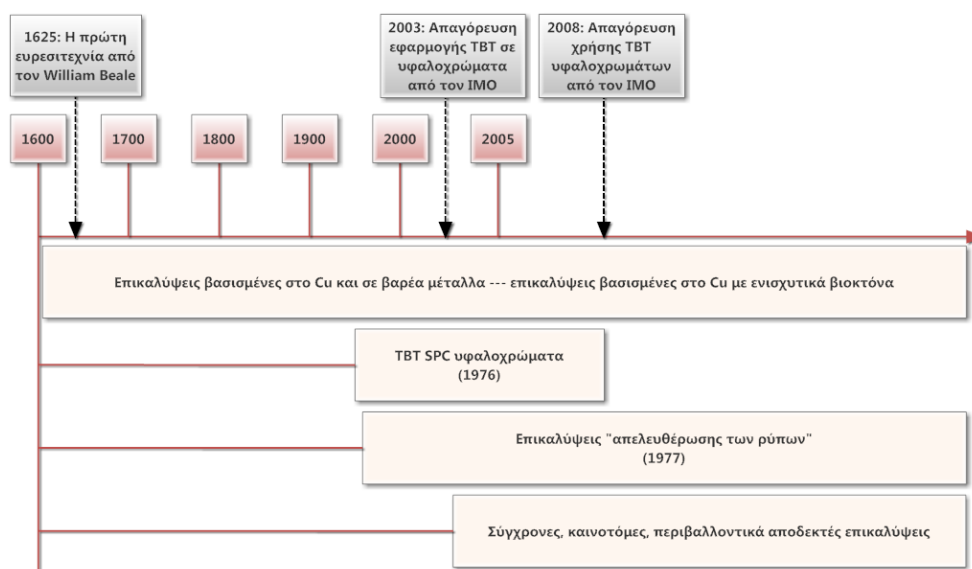
Λύση στο πρόβλημα της βιοεπίστρωσης επιφανειών προσφέρουν οι τεχνολογίες με αντιβιοεπιστρωτική δράση, οι οποίες υπολογίζεται ότι εξοικονομούν στη θαλάσσια βιομηχανία περίπου 60 δισεκατομμύρια δολάρια ετησίως [16]. Ακόμα, ελαττώνουν τα εκπεμπόμενα αέρια, εξοικονομώντας σε ετήσια βάση 384 και 3,6 εκατομμύρια τόνους διοξειδίου του άνθρακα και διοξειδίου του θείου αντίστοιχως [16].

Κεφάλαιο 2. Υφαλοχρώματα με αντιβιοεπιστρωτική δράση

Ο αυθόρμητος χαρακτήρας της βιοεπίστρωσης επιφανειών συνδυαστικά με τις ανεπιθύμητες περιβαλλοντικές και οικονομικές επιπτώσεις της οδήγησε τον άνθρωπο στην ανάπτυξη τεχνολογιών. Ως αντιβιοεπιστρωτική (antifouling) δράση ορίζεται οποιαδήποτε διαδικασία ή συνδυασμός διαδικασιών στοχεύει στην αφαίρεση ή πρόληψη της βιοεπίστρωσης επιφανειών βυθισμένων στο νερό. Τα πιο διαδεδομένα συστήματα καταπολέμησης της βιοεπίστρωσης στη θαλάσσια βιομηχανία αποτελούν τα υφαλοχρώματα με αντιβιοεπιστρωτική δράση (antifouling paints).

2.1 Χρονική εξέλιξη υφαλοχρωμάτων

Τα ναυπηγικά υφαλοχρώματα με αντιβιοεπιστρωτική δράση βρίσκονται υπό συνεχή εξέλιξη και αποτελούν αντικείμενο διερεύνησης παρά το γεγονός ότι δεν αποτελούν ένα καινούριο ερευνητικό θέμα. Οι αυστηρότερες περιβαλλοντικές νομοθεσίες, η τάση προς πιο φιλικά προς το περιβάλλον και τον άνθρωπο συστήματα και η ταυτόχρονη ανάγκη για επίτευξη αποτελεσματικών τεχνολογιών καθιστά τα υφαλοχρώματα με αντιβιοεπιστρωτική δράση ένα ανοιχτό προς μελέτη και σύγχρονο ερευνητικό αντικείμενο. Το Σχήμα 2.1 [17] συνοψίζει τη χρονική εξέλιξή τους και καταγράφει ορισμένες κρίσιμες χρονολογίες, όπως για παράδειγμα το 2003 οπότε ο Διεθνής Ναυτιλιακός Οργανισμός (IMO) απαγόρευσε την εφαρμογή σε νέα υφαλοχρώματα του ιδιαίτερος επιτυχημένου εμπορικά τριβουτυλοκασιτιέρου (TBT). Από το ίδιο σχήμα διακρίνονται τρεις διαφορετικές μεταξύ τους τεχνολογίες οι οποίες εφαρμόζονται μέχρι σήμερα καθώς και οι αυτοκαθαριζόμενες επιστρώσεις συμπολυμερών (Self-polishing copolymer ή SPC coatings) βασισμένες στον TBT για τις οποίες απαγορεύτηκε η χρήση τους μετά το 2008 [17].



Σχήμα 2.1. Χρονική εξέλιξη υφαλοχρωμάτων με αντιβιοεπιστρωτική δράση

2.2 Κατηγοριοποίηση επιστρώσεων και επικαλύψεων με αντιβιοεπιστρωτική δράση

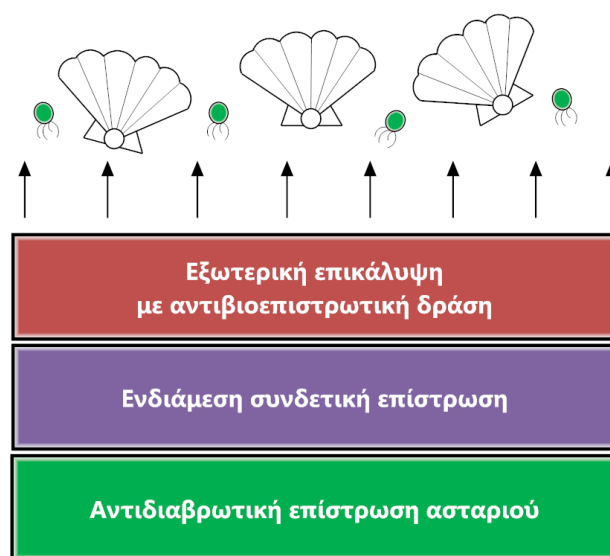
2.2.1 Γενικά είδη επιστρώσεων

Το υφαλόχρωμα με αντιβιοεπιστρωτική δράση αποτελεί την τελευταία επίστρωση ή επικάλυψη (coating) που εφαρμόζεται στη γάστρα του πλοίου. Πριν από αυτήν την επικάλυψη έχει προηγηθεί η εγκατάσταση μίας προστατευτικής επίστρωσης με αντιδιαβρωτικές ικανότητες επί της μεταλλικής βάσης του πλοίου, ενώ σε πολλές περιπτώσεις χρησιμοποιείται και μία ενδιάμεση συνδετική επίστρωση (tie-coat) μεταξύ του αντιδιαβρωτικού ασταριού (primer) και της εξωτερικής επικάλυψης με αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες (top-coat) [3]. Η ενδιάμεση συνδετική επίστρωση παρουσιάζει χαμηλότερες τιμές μηχανικών ιδιοτήτων συγκριτικά με τις σκληρές αντιδιαβρωτικές επιστρώσεις και υψηλότερες τιμές σε σχέση με τις αδύναμες μηχανικά εξωτερικές επιστρώσεις [3]. Επομένως, υποβοηθά τη βελτίωση της συνοχής μεταξύ των επιστρώσεων [3] [4]. Εν γένει, κάθε επίστρωση εκτελεί διαφορετική λειτουργία όπως συνοψίζει ο Πίνακας 2.1 [3].

Πίνακας 2.1. Είδη επιστρώσεων γάστρας πλοίων και κύριες λειτουργίες

Επίστρωση	Κύρια λειτουργία
Αστάρι (primer)	Προστασία μεταλλικού σκελετού από φαινόμενα διάβρωσης
Ενδιάμεση συνδετική επίστρωση (tie-coat)	Εξασφάλιση συνοχής και παρεμπόδιση μετανάστευσης συστατικών μεταξύ των επιστρώσεων
Εξωτερική επικάλυψη με αντιβιοεπιστρωτική δράση (top-coat)	Προστασία επιφάνειας από φαινόμενα βιοεπίστρωσης

Το Σχήμα 2.2 αναπαριστά γραφικά τα είδη των επιστρώσεων που χρησιμοποιούνται συνήθως στα ύφαλα των πλοίων.



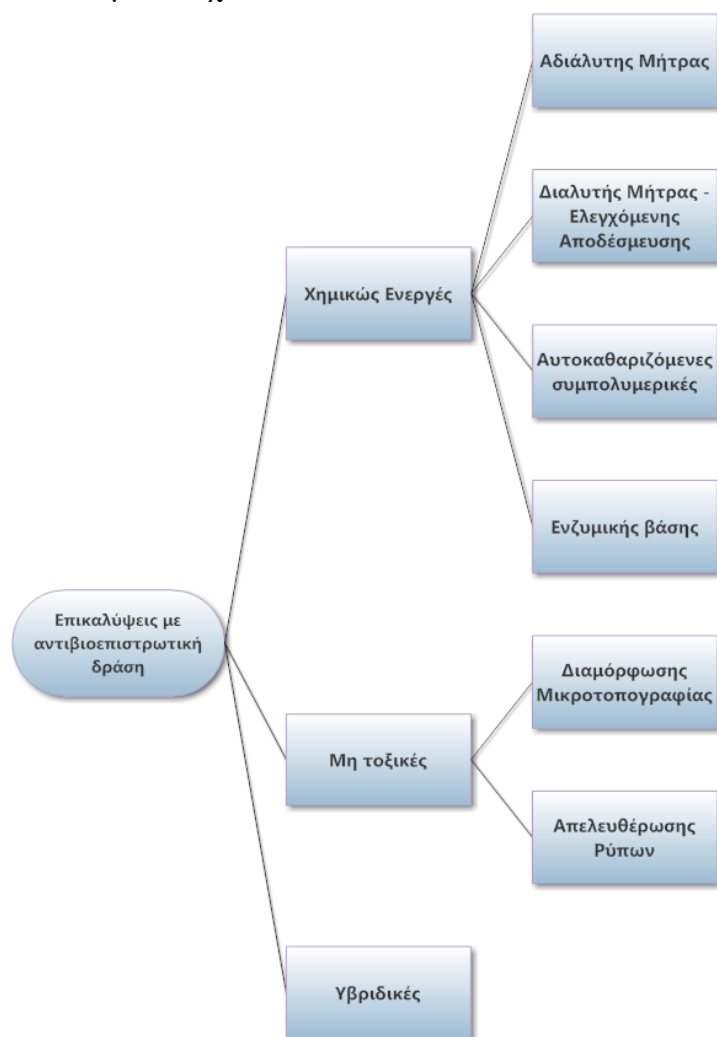
Σχήμα 2.2. Απεικόνιση επιστρώσεων γάστρας πλοίων

2.2.2 Κατηγοριοποίηση επικαλύψεων με αντιβιοεπιστρωτική δράση

Η ερευνητική δραστηριότητα που αφορούσε τις τεχνολογίες με αντιβιοεπιστρωτική δράση εστίασε στα τέλη της δεκαετίας του 70' στις επιτυχημένες αυτοκαθαριζόμενες επιστρώσεις συμπολυμερών βασισμένες στον TBT [4]. Ωστόσο, τα πρώτα περιβαλλοντικά ζητήματα σχετικά με τη χρήση του TBT δεν άργησαν να αναδυθούν [4]. Επομένως, ήδη από τις αρχές της δεκαετίας του 80' πραγματοποιήθηκαν προσπάθειες για ανάπτυξη εναλλακτικών τεχνολογιών μη βασισμένων στον TBT [4]. Σήμερα, οι επικαλύψεις με αντιβιοεπιστρωτική δράση διακρίνονται σε δύο βασικές κατηγορίες [4]:

1. τις χημικώς ενεργές επικαλύψεις και
2. τις μη τοξικές επικαλύψεις.

Ακόμα, υπάρχουν οι υβριδικές επικαλύψεις οι οποίες αποτελούν πρακτικά συνδυασμό ενός ή περισσότερων εκ των υπόλοιπων τεχνολογιών [3]. Σε αυτές τις επικαλύψεις λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα διαφορετικοί μηχανισμοί ή/και περιλαμβάνουν καινοτόμα στοιχεία [3].



Σχήμα 2.3. Κατηγοριοποίηση επικαλύψεων με αντιβιοεπιστρωτική δράση

I. Χημικώς ενεργές επικαλύψεις με αντιβιοεπιστρωτική δράση

Οι χημικώς ενεργές επικαλύψεις συνιστούν ένα τοξικό περιβάλλον για τους οργανισμούς που σχετίζονται με τα φαινόμενα βιοεπίστρωσης επιφανειών. Η αρχή λειτουργίας τους είναι η αναστολή ή ο περιορισμός της εγκατάστασης θαλάσσιων οργανισμών χρησιμοποιώντας συνήθως χημικώς δραστικές ενώσεις, τα βιοκτόνα [4]. Οι χημικώς ενεργές επικαλύψεις υποκατηγοριοποιούνται σε τέσσερις διακριτές τεχνολογίες για τις οποίες ακολουθεί συνοπτική ανάλυση.

a. Υφαλοχρώματα αδιάλυτης μήτρας

Τα υφαλοχρώματα αδιάλυτης μήτρας (insoluble matrix paints) ή υφαλοχρώματα επαφής (contact paints) ή σκληρά υφαλοχρώματα (hard paints) χρησιμοποιούν υψηλού μοριακού βάρους μήτρες, όπως ακρυλικές, βινυλικές, εποξειδικές ή χλωριωμένες ρητίνες με κύριο χαρακτηριστικό τη μη διαλυτότητα στο θαλασσινό νερό [3] [4]. Εξάλλου, σημαντικά χαρακτηριστικά τους αποτελούν οι εξαιρετικές μηχανικές τους ιδιότητες (από τις οποίες προκύπτει ο χαρακτηρισμός «σκληρά υφαλοχρώματα») καθώς και η ικανότητά τους για ενσωμάτωση μεγάλων ποσοτήτων τοξικών ενώσεων [3] [4].

Οι τοξικές ενώσεις διασπείρονται στη μήτρα και αποδεσμεύονται σταδιακά από το υφαλόχρωμα. Η αδιάλυτη φύση της μήτρας σε συνδυασμό με τη συνεχή αποδέσμευση των δραστικών ενώσεων δημιουργεί πόρους τους οποίους υπερκαλύπτει το νερό εισχωρώντας βαθύτερα στο υφαλόχρωμα. Έτσι, όσο ξεπλένεται εσωτερικά η μήτρα, το νερό διαλύει τις τοξικές ενώσεις που βρίσκονται βαθύτερα. Φυσικά, το προφίλ αποδέσμευσης των τοξικών ενώσεων μεταβάλλεται παρουσιάζοντας δραματική ελάττωση σε συνάρτηση με το χρόνο [3] [4]. Αυτό το γεγονός ισοδυναμεί με χαμηλότερη αποτελεσματικότητα του υφαλοχρώματος σε βάθος χρόνου αφού ελαττώνεται η αντιβιοεπιστρωτική του ικανότητα [3] [4]. Στη χαμηλότερη αποτελεσματικότητα συμβάλλει και η τραχύτητα του υφαλοχρώματος μετά την εισχώρηση του νερού βαθύτερα [3] [4]. Έτσι, καθίσταται ευκολότερη η εγκατάσταση μικροοργανισμών, οι οποίοι με τη σειρά τους σχηματίζουν ένα επιπλέον εμπόδιο-αντίσταση στη διάχυση των εναπομεινάντων τοξικών ενώσεων [3] [4]. Όλα τα προηγούμενα, περιορίζουν το χρόνο ζωής των επικαλύψεων αδιάλυτης μήτρας στους 12 έως 24 μήνες ανάλογα με τις συνθήκες εφαρμογής [3] [4].

b. Υφαλοχρώματα διαλυτής μήτρας – ελεγχόμενης αποδέσμευσης

Τα υφαλοχρώματα διαλυτής μήτρας (soluble matrix paints) ή διαβρώσιμα υφαλοχρώματα (erodible paints) ή αφαιρετικά υφαλοχρώματα (ablative paints) κατασκευάζονται χρησιμοποιώντας συνήθως ως συνδετικό μέσο κολοφόνιο και παράγωγά του [3] [4]. Η μήτρα είναι υδατοδιαλυτή, μη τοξική και περιέχει μεγάλες ποσότητες βιοκτόνων διεσπαρμένες στο υφαλόχρωμα [3] [4]. Σε αυτά τα υφαλοχρώματα ενσωματώνονται τοξικές χρωστικές όπως οξείδια του χαλκού, του σιδήρου και του ψευδαργύρου [3]. Η εμφάνιση ενός τέτοιου υφαλοχρώματος σε θαλασσινό νερό ισοδυναμεί με ταυτόχρονη διάλυση και αποδέσμευση μήτρας και

βιοκτόνων [4]. Ο αποτελεσματικός χρόνος ζωής τους είναι περιορισμένος και διαρκεί περίπου 12 έως 15 μήνες [3] [4]. Αυτό οφείλεται στους υψηλούς ρυθμούς αποδέσμευσης και διάβρωσης στα πρώτα στάδια μετά την εμβάπτιση στο θαλασσινό νερό, οι οποίοι οδηγούν μακροπρόθεσμα σε δραματική ελάττωση των ρυθμών αποδέσμευσης [4].

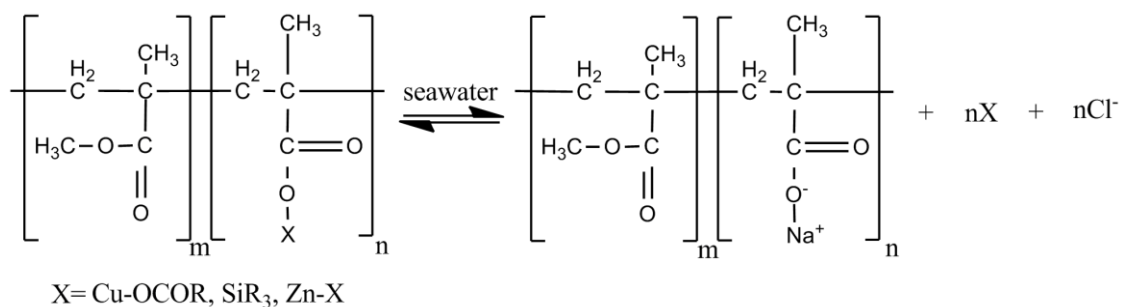
Οι πολυμερικές επικαλύψεις ελεγχόμενης αποδέσμευσης (controlled depletion polymer coatings ή CDP) αποτελούν μία τεχνολογία υφαλοχρωμάτων διαλυτής μήτρας ενισχυμένες με συνθετικές οργανικές ρητίνες, οι οποίες είναι πιο ανθεκτικές στην υδρόλυση συγκριτικά με τα παράγωγα του κολοφωνίου [4]. Επομένως, λειτουργούν επικουρικά στον έλεγχο του ρυθμού υδρόλυσης και διαλυτοποίησης του συνδετικού μέσου [4]. Ωστόσο, ο μηχανισμός δράσης είναι κοινός, αφού καθώς έρχεται σε επαφή το υφαλόχρωμα με το θαλασσινό νερό, τα διεσπαρμένα εντός της μήτρας βιοκτόνα διαλύονται μαζί με τη μήτρα και ξεπλένονται από το θαλασσινό νερό [4]. Τα CDP υφαλοχρώματα αυξάνουν τον αποτελεσματικό χρόνο ζωής έως και τους 36 μήνες. Επομένως, διπλασιάζουν ή ακόμα και τριπλασιάζουν το χρόνο ζωής του υφαλοχρώματος σε σύγκριση με τις απλές επικαλύψεις κολοφωνίου.

Βασικό πλεονέκτημα αυτών των υφαλοχρωμάτων αποτελεί η καλή συνάφεια με ασφαλικής βάσης αστάρια [3]. Στα μειονεκτήματά του συγκαταλέγονται η ευαισθησία των ρητινών στην οξειδωση [3]. Επομένως, πρέπει να αποφεύγεται η επαφή του υφαλοχρώματος με τον ατμοσφαιρικό αέρα [3]. Ακόμα, η σχετικά αδύναμη αντιβιοεπιστρωτική δράση τους σε στατικές συνθήκες τα καθιστά ακατάλληλα για βραδέως κινούμενα πλοία ή για πλοία με μεγάλες περιόδους αδράνειας [3].

c. Αυτοκαθαριζόμενα συμπολυμερικά υφαλοχρώματα

Οι αυτοκαθαριζόμενες συμπολυμερικές επικαλύψεις (self-polishing copolymer – SPC- coatings) βασίζονται σε ακρυλικά ή μεθακρυλικά συμπολυμερή τα οποία είναι εύκολα υδρολύσιμα στο θαλασσινό νερό [4]. Τα συμπολυμερή αναμιγνύονται με βιοκτόνα σχηματίζοντας μία λεία επικάλυψη με αντιβιοεπιστρωτική δράση [4]. Ο ελεγχόμενος ρυθμός διάβρωσης/υδρόλυσης της πολυμερικής μήτρας ισοδυναμεί με ελεγχόμενο ρυθμό αποδέσμευσης/έκπλυσης των βιοκτόνων [4]. Επομένως, ο μηχανισμός υδρόλυσης του συνδετικού μέσου καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την αντιβιοεπιστρωτική ικανότητα του υφαλοχρώματος. Εκτός των τοξικών οργανικών ενώσεων, οι SPC επικαλύψεις περιλαμβάνουν τοξικές χρωστικές όπως το οξειδίο του χαλκού Cu_2O , οπότε παρουσιάζουν αξιόλογη αντιβιοεπιστρωτική δράση και αντίστοιχα ευρύ πεδίο εφαρμογής [3].

Τα συμπολυμερή βάσεως πολυ(μεθακρυλικού μεθυλίου) που χρησιμοποιούνται σήμερα βασίζονται στη τεχνολογία των τύπου TBT-SPC υφαλοχρωμάτων, ωστόσο ο τριβουτυλοκασσίτερος (TBT) αντικαθίσταται στις εστερικές ομάδες από άλλους υποκαταστάτες βασισμένους στο Cu, το Si και τον Zn [4]. Η γενική χημική δομή και ο κύριος μηχανισμός αντίδρασης της συμπολυμερικής μήτρας με το θαλασσινό νερό αναπαρίσταται γραφικά στο Σχήμα 2.4 [4].



Σχήμα 2.4. Γενική χημική δομή και κύριος μηχανισμός αντίδρασης του συμπολυμερούς βάσεως πολυ(μεθακρυλικού μεθυλίου) στο θαλασσινό νερό

Η αρχή λειτουργίας των SPC επικαλύψεων παρουσιάζει τρία αξιόλογα σημεία [4]:

- Το θαλασσινό νερό διαχέεται εντός της επικάλυψης οδηγώντας σε διάλυση των υδατοδιαλυτών σωματιδίων με βιοκτόνο δράση. Η συμπολυμερική μήτρα παρουσιάζει υδρόφοβη συμπεριφορά, επομένως αποτρέπεται η μαζική διείσδυση του νερού στο υφαλόχρωμα. Επιπρόσθετα, δυσχεραίνεται η πλήρωση των πόρων, οι οποίοι δημιουργούνται μετά την διάλυση των υδατοδιαλυτών σωματιδίων της βαφής, με νερό.
- Η χαρακτηριστική εστερική ομάδα είναι υδρολυτικά ασταθής κάτω από ελαφρώς αλκαλικές συνθήκες όπως αυτές του θαλασσινού νερού. Βραδύς και ελεγχόμενος ρυθμός υδρόλυσης της συμπολυμερικής μήτρας λαμβάνει χώρα με την αντιστρεπτή αντίδραση που παρουσιάζεται στο Σχήμα 2.4.
- Όσο αυξάνεται το χρονικό διάστημα μετά την εμβάπτιση του υφαλοχρώματος στο θαλασσινό νερό, μεγεθύνεται και ο κενός χώρος (πορώδες) εξαιτίας της διάλυσης των υδατοδιαλυτών σωματιδίων της βαφής. Το τελευταίο γεγονός οδηγεί σε αύξηση της ψαθυρότητας της επικάλυψης καθώς και σε ευκολότερη διάβρωσή της από το θαλασσινό νερό. Τελικά, παρατηρείται αυθόρμητη αφαίρεση του ψαθυρού φιλμ και ανάδειξη βαθύτερων ανέγγιχτων στρωμάτων πλούσιων σε συστατικά με αντιβιοεπιστρωτική δράση (φαινόμενο αυτοκαθαρισμού).

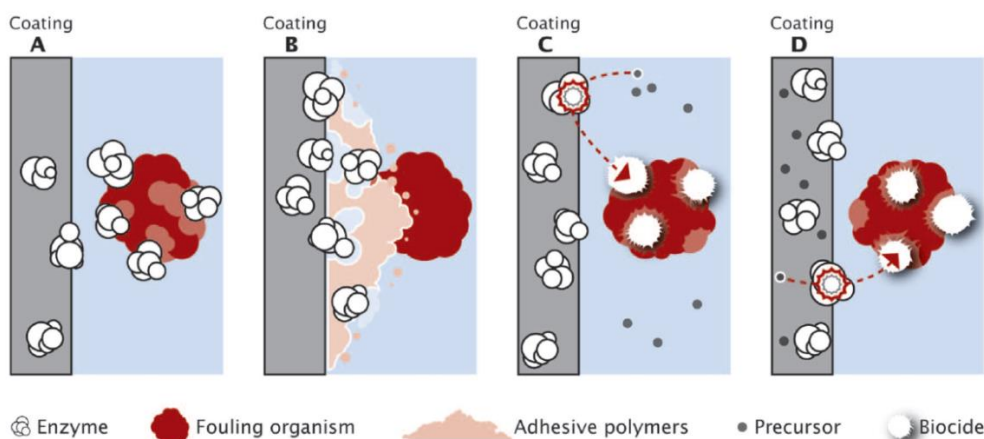
Η διαφοροποίηση μεταξύ των υφαλοχρωμάτων διαλυτής μήτρας και των αυτοκαθαριζόμενων συμπολυμερικών επικαλύψεων είναι ότι στη πρώτη περίπτωση ο αντιβιοεπιστρωτικός μηχανισμός βασίζεται στην ενυδάτωση και διάλυση της πολυμερικής μήτρας, ενώ στη δεύτερη περίπτωση βασίζεται στην ελεγχόμενη υδρόλυση του συμπολυμερικού συνδετικού μέσου [4].

Ο ρυθμός αποδέσμευσης των βιοκτόνων στις SPC επικαλύψεις είναι συνάρτηση του βαθμού πολυμερισμού (μοριακό βάρος) της πολυμερικής μήτρας και του βαθμού υδροφιλικότητας/υδροφοβικότητας που παρουσιάζει, ο οποίος εξαρτάται από τον αριθμό και το είδος των υδρολύσιμων ομάδων εντός των συμπολυμερικών αλυσίδων [4]. Τα SPC υφαλοχρώματα παρουσιάζουν συνήθως ρυθμό καθαρισμού επικάλυψης της τάξης των 5 έως 20 μm ετησίως οδηγώντας σε αυξημένους χρόνους ζωής που προσεγγίζουν τα 5 έτη [3] [4].

d. Υφαλοχρώματα ενζυμικής βάσης

Τα υφαλοχρώματα ενζυμικής βάσης (enzyme-based coatings) αναδύθηκαν τη δεκαετία του 1980' ως εναλλακτική φιλική προς το περιβάλλον τεχνολογία εξαιτίας της ταχείας βιοαποδόμησης των ενζύμων [4] [18]. Τα ένζυμα είναι πρωτεΐνες με καταλυτικά χαρακτηριστικά ορισμένα εκ των οποίων έχουν την ιδιότητα να παρουσιάζουν άμεση ή έμμεση αντιβιοεπιστρωτική δράση [18]:

1. Άμεση αντιβιοεπιστρωτική δράση: μέσω της υποβάθμισης του μικροοργανισμού απευθείας (Σχήμα 2.5 A) είτε μέσω της υποβάθμισης των βιοσυγκολλητικών του (Σχήμα 2.5 B).
2. Έμμεση αντιβιοεπιστρωτική δράση: μέσω της παραγωγής βιοκτόνων ενώσεων από συστατικά του θαλασσινού νερού (Σχήμα 2.5 C) ή της βαφής (Σχήμα 2.5 D).



Σχήμα 2.5. Αντιβιοεπιστρωτικοί μηχανισμοί ενζύμων [18]

Σύμφωνα με το [18], τα ενζυμικής βάσης υφαλοχρώματα παρουσιάζουν τέσσερις απαιτήσεις για τα ένζυμα που θα εισαχθούν σε αυτά:

1. πρέπει να διατηρούν την ενεργότητά τους μετά την ανάμειξή τους με τη υπόλοιπα συστατικά του υφαλοχρώματος,
2. δεν πρέπει να αλλοιώνουν τη συμπεριφορά και τα χαρακτηριστικά της επίστρωσης,
3. πρέπει να παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα αντιβιοεπιστρωτικής δράσης,
4. πρέπει να παρουσιάζουν μακροχρόνια σταθερότητα τόσο στη ξηρή επικάλυψη όσο και μετά την εισαγωγή της επικάλυψης στο θαλασσινό νερό.

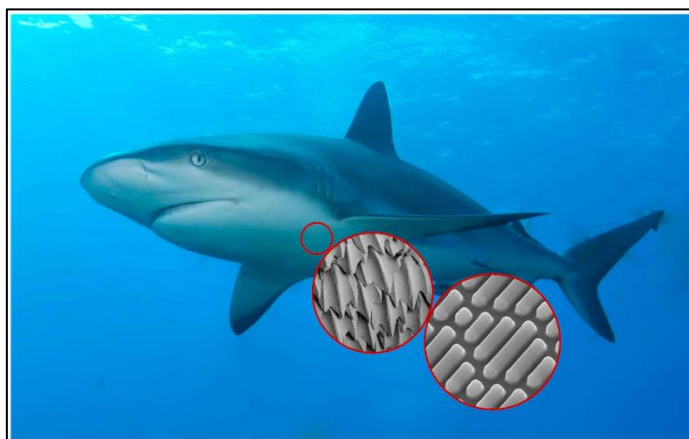
Τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα ένζυμα για εφαρμογές υφαλοχρωμάτων είναι οι πρωτεάσες (proteases) και οι γλυκοζυλάσες (glycosylases) οι οποίες αποικοδομούν το βιοσυγκολλητικό, που αποτελείται κυρίως από πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες [4] [18]. Το κύρια πρόβλημα που αντιμετωπίζουν τα υφαλοχρώματα ενζυμικής βάσης είναι η διατήρηση της σταθερότητας των ενζύμων για εμπορικώς ικανοποιητικά χρονικά διαστήματα [18].

II. Μη τοξικές επικαλύψεις με αντιβιοεπιστρωτική δράση

Οι μη τοξικές επικαλύψεις αποτελούν τη βασική εναλλακτική τεχνολογία για τα χημικώς ενεργά υφαλοχρώματα. Η αρχή λειτουργίας των μη τοξικών επικαλύψεων είναι συνήθως ο σχεδιασμός συστημάτων με αντιβιοεπιστρωτική δράση λόγω των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών της επιφάνειας τα οποία δυσχεραίνουν ή αποτρέπουν την εγκατάσταση και ανάπτυξη οργανισμών σε αυτές.

a. Επικαλύψεις διαμόρφωσης μικροτοπογραφίας

Οι επικαλύψεις διαμόρφωσης μικροτοπογραφίας (Engineered Microtopographical Surfaces) αποτελούν απόπειρες βιομιμητισμού των επιφανειακών χαρακτηριστικών θαλάσσιων μακροοργανισμών οι οποίοι δεν παρουσιάζουν φαινόμενα βιοεπίστρωσης στην εξωτερική επιφάνειά τους. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το δέρμα του καρχαρία, το οποίο αποτρέπει τη φυσική προσκόλληση θαλάσσιων οργανισμών στην επιφάνειά του [4].

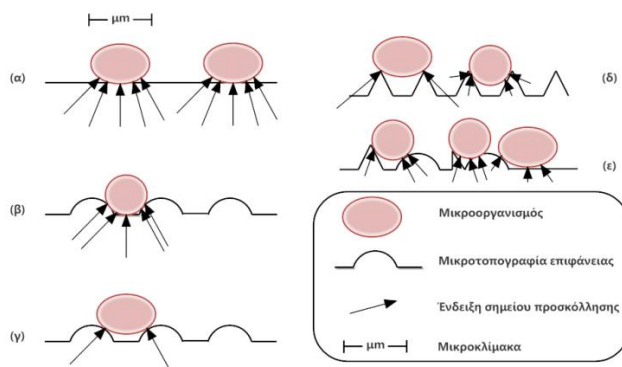


Σχήμα 2.6. Μικροτοπογραφία δέρματος καρχαρία με αντιβιοεπιστρωτικές δράσεις

Ο μηχανισμός που αποτρέπει την εγκατάσταση των οργανισμών δεν είναι ακόμα σαφής, ωστόσο η επικρατέστερη θεωρία υποστηρίζει ότι η δύναμη προσκόλλησης σχετίζεται με το διαθέσιμο αριθμό των σημείων πρόσδεσης του θαλάσσιου οργανισμού στην επιφάνεια του ξενιστή-οργανισμού [4] [19]. Άλλες θεωρίες υποστηρίζουν ότι ο αντιβιοεπιστρωτικός μηχανισμός βασίζεται σε φαινόμενα μεταβολής της επιφανειακής διαβρεξιμότητας εξαιτίας της ιδιαίτερης μικροτοπογραφίας κάθε επιφάνειας [20]. Επιπλέον, στην αναφορά [21] αναφέρεται ότι η μικροτοπογραφία επηρεάζει ενδεχομένως τα μικροϋδροδυναμικά χαρακτηριστικά της επιφάνειας δυσχεραίνοντας τελικά την ικανότητα εγκατάστασης των μικροοργανισμών σε αυτή.

Η εγκατάσταση των μικροοργανισμών στην επιφάνεια εξαρτάται καταρχάς από το είδος του υποστρώματος και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του. Αυτά μπορεί να είναι η επιφανειακή ενέργεια, ο υδρόφιλος/υδρόφοβος χαρακτήρας του, η διαβρεξιμότητά του και η συγγένεια που παρουσιάζει εν γένει με τον προσκολλούμενο μικροοργανισμό. Φυσικά, ιδιαίτερα σημαντική κρίνεται η μορφολογία της επιφάνειας και η τραχύτητά της. Αύξηση της τραχύτητας οδηγεί σε πιο ακανόνιστες/άτακτες

δομές, επομένως μεγεθύνεται το εύρος οργανισμών που μπορεί να εγκατασταθεί λόγω ποικιλίας μεγέθους (Σχήμα 2.7-ε). Επιπλέον, λείες επιφάνειες με εκτεταμένες «κοιλιάδες εγκατάστασης» ευνοούν την προσκόλληση μικροοργανισμών (Σχήμα 2.7-α). Από την άλλη μεριά, επιφάνειες με επαναλαμβανόμενη και χαρακτηριστική μικροτοπογραφία ελαττώνουν τα σημεία πρόσδεσης (Σχήμα 2.7-γ) δυσχεραίνοντας την εγκατάστασή τους. Φυσικά, όσο ελαττώνεται η κλίμακα μεγέθους του μικροοργανισμού ή/και αυξάνεται το μέγεθος των κοιλιάδων ανάμεσα στις κορυφές τόσο ευνοείται το φαινόμενο της βιοεπίστρωσης (Σχήμα 2.7-β).



Σχήμα 2.7. Μικροτοπογραφίες επιφανειών και μελέτη διαφοροποίησης σημείων πρόσδεσης

Οι κύριες δυσκολίες που αποτρέπουν τη διάδοση των επικαλύψεων διαμόρφωσης μικροτοπογραφίας στην αγορά είναι το κόστος παραγωγής τους και τα προβλήματα εφαρμογής σε μεγαλύτερης κλίμακας πλεούμενα [4].

β. Επικαλύψεις απελευθέρωσης ρύπων

Οι επικαλύψεις απελευθέρωσης ρύπων (Fouling Release Coatings ή FRC) αποτελούν μία διαδεδομένη επιλογή μη τοξικών επικαλύψεων [4] [22]. Η αρχή λειτουργίας τους βασίζεται στην ελαχιστοποίηση της πρόσφυσης μεταξύ οργανισμού και επιφάνειας, καθώς και στην ανάπτυξη τάσεων ικανών για να αφαιρέσουν τους ελαφρώς προσκολλημένους οργανισμούς της επιφάνειας [4]. Οι τάσεις απελευθέρωσης της βιοεπίστρωσης αναπτύσσονται είτε αυθόρμητα κατά τη πλοήγηση του πλοίου (υδροδυναμικές τάσεις), οπότε λαμβάνει χώρα αυτοκαθαρισμός της επιφάνειας, είτε εκούσια με απλό μηχανικό καθαρισμό [4].

Η ικανότητα μίας επιφάνειας για αυτοκαθαρισμό είναι συνάρτηση των επιφανειακών χαρακτηριστικών της (υδροφοβικότητα, επιφανειακή ενέργεια, τραχύτητα, μέτρο ελαστικότητας, πάχος επίστρωσης) και των αναπτυσσόμενων υδροδυναμικών τάσεων, οι οποίες εξαρτώνται από τη γεωμετρία του πλοίου, τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας και του μέσου πλεύσης, καθώς και της αναπτυσσόμενης ταχύτητας του πλοίου. Οι κυριότεροι εκπρόσωποι των επικαλύψεων τύπου FR (fouling-release) είναι σιλικονούχα και φθοριωμένα πολυμερικά υλικά τα οποία παρουσιάζουν ικανοποιητικές ιδιότητες αυτοκαθαρισμού [4] [22]. Περισσότερες πληροφορίες για τα χαρακτηριστικά και τους μηχανισμούς αυτοκαθαρισμού αυτών των υλικών διατίθενται στην αναφορά [22].

Οι επικαλύψεις τύπου FR εκτιμώνται ότι έχουν τυπικό χρόνο ζωής από 5 έως 10 χρόνια [4]. Παρά το γεγονός ότι παρουσιάζουν υψηλότερους χρόνους ζωής συγκριτικά με τις χημικώς ενεργές επικαλύψεις και αποτελούν ταυτόχρονα φιλικότερη προς το περιβάλλον τεχνολογία, οι FR επικαλύψεις μειονεκτούν ως προς τα μηχανικά τους χαρακτηριστικά, ενώ μη αμελητέο είναι το γεγονός ότι απαραίτητη προϋπόθεση για τον ικανοποιητικό αυτοκαθαρισμό τους είναι η ανάπτυξη ταχυτήτων μεγαλύτερων από 8 κόμβους ή περίπου 15 km hr^{-1} [4].



Σχήμα 2.8. Αναπαράσταση αυτοκαθαρισμού επικάλυψης τύπου FRC με ανάπτυξη υδροδυναμικών τάσεων

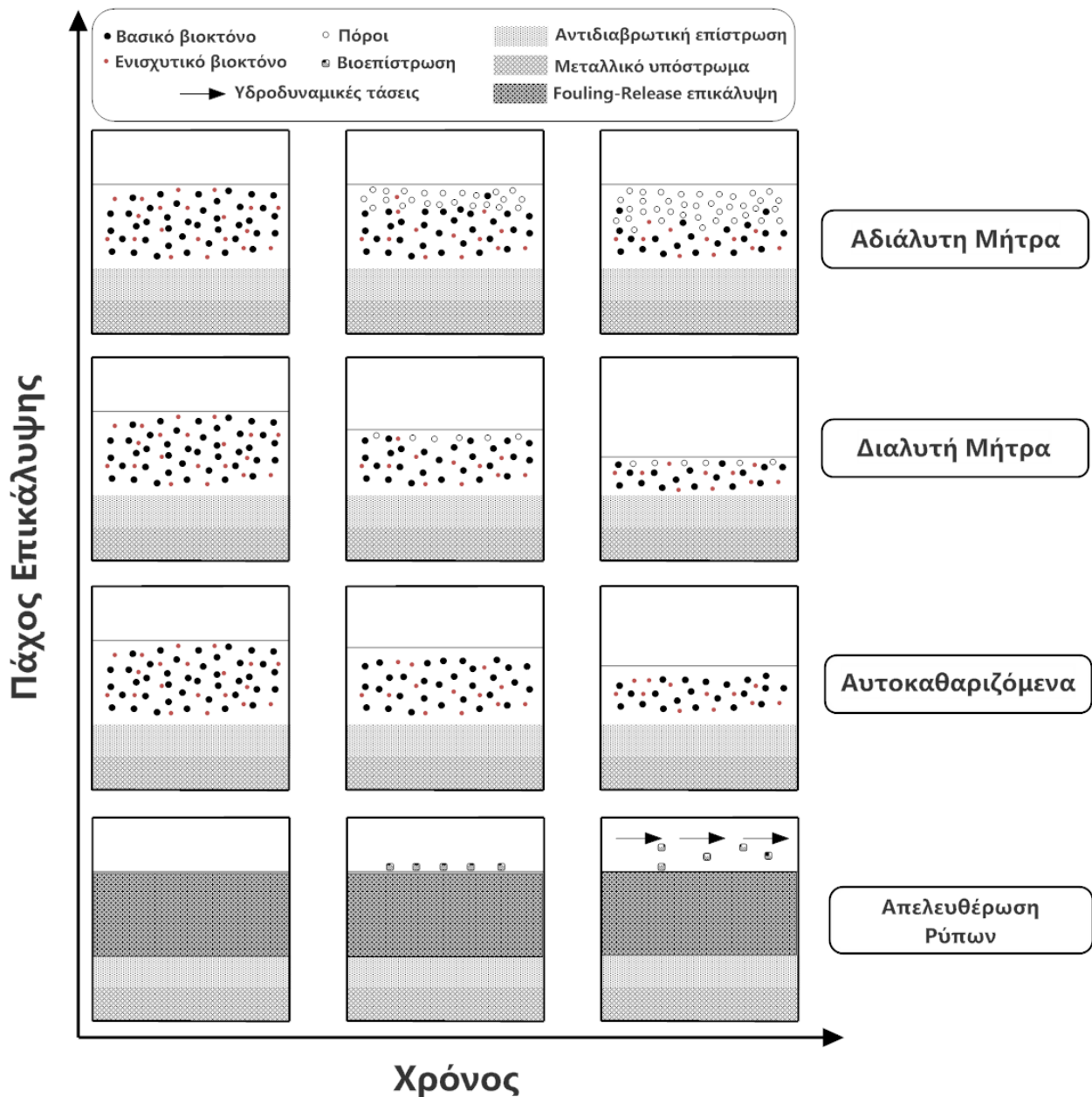
III. Υβριδικές επικαλύψεις

Οι υβριδικές επικαλύψεις αποτελούν συνήθως συνδυασμούς των προαναφερθέντων τεχνολογιών ή/και ενσωματώνουν καινοτόμα στοιχεία που στόχο έχουν τη βελτίωση των ιδιοτήτων της τελικής επικάλυψης. Η ανάπτυξη νέων προϊόντων, η ανάγκη για διερεύνηση του πεδίου εφαρμογής υφαλοχρώματων και οι πιέσεις για φιλικότερες προς το περιβάλλον λύσεις δημιούργησαν τα τεχνολογικά υβρίδια των επικαλύψεων με αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες. Φυσικά, οι μηχανισμοί λειτουργίας των υβριδικών επικαλύψεων είναι ακόμα πιο σύνθετοι συγκριτικά με τις κλασσικές τεχνολογίες. Οι υβριδικές επικαλύψεις δύναται να κατηγοριοποιηθούν σε:

- Υβριδικά αυτοκαθαριζόμενα συστήματα: Η απελευθέρωση των βιοκτόνων στηρίζεται τόσο στην υδρόλυση της πολυμερικής μήτρας (SPC χαρακτήρας), όσο και στους μηχανισμούς ενυδάτωσης (χαρακτήρας διαλυτής μήτρας). Ο συνδυασμός των δύο τεχνολογιών βελτιώνει τα μηχανικά χαρακτηριστικά του υφαλοχρώματος, καθώς και το ρυθμό αποδέσμευσης των βιοκτόνων. Το υφαλόχρωμα διατηρεί συνήθως την αποτελεσματικότητά του για 3 έως 5 χρόνια.
- Υβριδικά σιλικονούχα υφαλοχρώματα απομάκρυνσης ρύπων: οι καινοτόμες τεχνολογίες που χρησιμοποιούνται στα σιλικονούχα υφαλοχρώματα περιλαμβάνουν την προσθήκη νανοϋλικών [23], την μετατροπή/ενίσχυση της μήτρας σιλικόνης με πολυουρεθανικά [24] [25], εποξειδικά [26] και φθοριωμένα τμήματα ή την εισαγωγή ενώσεων με αντιβιοεπιστρωτική δράση [4]. Στόχος είναι η μεταβολή των ιδιοτήτων της επιφάνειας, η ενίσχυση των μηχανικών ιδιοτήτων των επικαλύψεων και η βελτίωση των αντιβιοεπιστρωτικών χαρακτηριστικών του συστήματος [4].

IV. Σύνοψη κύριων επικαλύψεων με αντιβιοεπιστρωτική δράση

Η κατηγοριοποίηση των επικαλύψεων με αντιβιοεπιστρωτική δράση πραγματοποιείται συνήθως με βάση τη χημική ενεργότητά τους και στη συνέχεια με βάση το μηχανισμό τους. Το Σχήμα 2.9 αποτελεί μία γραφική απεικόνιση των κυριότερων αντιβιοεπιστρωτικών μηχανισμών [27]. Ο μηχανισμός διαφέρει ανάλογα με το είδος της επικάλυψης και εξαρτάται από την αλληλεπίδραση μεταξύ επικάλυψης και νερού (π.χ ενυδάτωση-διάλυση, υδρόλυση). Τέλος, ο Πίνακας 2.2 συνοψίζει και συγκρίνει τα κυριότερα στοιχεία που αφορούν τα πιο διαδεδομένα είδη επικαλύψεων με αντιβιοεπιστρωτική δράση [3] [4] [17].



Σχήμα 2.9. Αντιβιοεπιστρωτικοί μηχανισμοί κυριότερων επικαλύψεων και ποιοτική απεικόνιση συμπεριφοράς επικάλυψης στο χρόνο

Πίνακας 2.2. Συγκριτική σύνοψη στοιχείων για τα κυριότερα εμπορικά είδη επικαλύψεων με αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες

Είδος Επικάλυψης	Έναρξη Εφαρμογής	Είδος Μήτρας	Περιγραφή	Μηχανισμός	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα	Χρόνος ζωής (έτη)	Συν. Κόστος Εφαρμογής (\$)
Αδιάλυτης Μήτρας (Insoluble matrix)	1955	Ακρυλικές, εποξειδικές και βινυλικές ρητίνες, χλωριωμένα ελαστομερή	Μήτρες υψηλού μοριακού βάρους αδιάλυτες στο νερό που περιέχουν βιοκτόνα (ανόργανα & οργανικά)	Διάχυση νερού και διάλυση μεγάλου όγκου υδατοδιαλυτών βιοκτόνων	Καλές μηχανικές ιδιότητες	<ul style="list-style-type: none"> Ελάττωση ρυθμού αποδέσμευσης βιοκτόνων (αντιβιοεπιστρωτικής δράσης) με το χρόνο. Αποδέσμευση τοξικών ενώσεων στο περιβάλλον. Υπόκειται σε συνεχώς αυστηρότερους κανονισμούς περί χρήσης βιοκτόνων. 	1-2	-
Διαλυτής Μήτρας (Soluble matrix)	1950	Κολοφόνιο και παράγωγά του	Υδατοδιαλυτή μήτρα που περιέχει βιοκτόνα (ανόργανα & οργανικά)	Διάλυση της πολυμερικής μήτρας και απελευθέρωση των βιοκτόνων	Χαμηλότερο αρχικό κόστος εφαρμογής συγκριτικά με τις αυτοκαθαριζόμενες επικαλύψεις (όμως παρόμοια απόσβεση μακροπρόθεσμα)	<ul style="list-style-type: none"> Δύσκολος έλεγχος του ρυθμού απελευθέρωσης των βιοκτόνων (αστάθεια ρυθμού). Χαμηλή αντιβιοεπιστρωτική ενεργότητα σε περιόδους ακινησίας. Προβλήματα κατά την επαναβαφή. Αποδέσμευση τοξικών ενώσεων στο περιβάλλον. Υπόκειται σε συνεχώς αυστηρότερους κανονισμούς περί χρήσης βιοκτόνων. 	≤3	50 \$/m ² 17 \$/m ² /yr
Αυτοκαθαριζόμενη Συμπολυμερική (Self-polishing copolymer / SPC)	1974	Ακρυλικά και μεθακρυλικά συμπολυμερή με χαρακτηριστικές εστερικές ομάδες	Υδρολύσιμα στο νερό συμπολυμερή ως μήτρες με διεσπαρμένα βιοκτόνα (ανόργανα & οργανικά)	Υδρόλυση της μήτρας και απελευθέρωση των βιοκτόνων	<ul style="list-style-type: none"> Σταθερός ρυθμός αποδέσμευσης βιοκτόνων σε συνάρτηση με το χρόνο. Διατήρηση προστασίας σε περιόδους ακινησίας. Μεγάλοι χρόνοι ζωής. Διατήρηση λείας επιφάνειας (μείωση κατανάλωσης καυσίμων) λόγω αυτοκαθαρισμού. 	<ul style="list-style-type: none"> Λιγότερο αποδοτικά σε σύγκριση με τα αντίστοιχα TBT υφαλοχρώματα. Απελευθέρωση βιοκτόνων στο περιβάλλον. Υπόκειται σε συνεχώς αυστηρότερους κανονισμούς περί χρήσης βιοκτόνων. 	5	75 \$/m ² 15 \$/m ² /yr
Απελευθέρωσης Ρύπων (Fouling-release)	1977	Σιλικονούχες και φθοριωμένες πολυμερικές ρητίνες	Λείες, χαμηλής επιφανειακής ενέργειας και πρόσφυσης επιφάνειες	Αυτοκαθαρισμός λόγω χαμηλής πρόσφυσης και ανάπτυξης τάσεων κατά την πλοήγηση	<ul style="list-style-type: none"> Μειωμένη ικανότητα πρόσφυσης οργανισμών και τραχύτητα επιφάνειας. Δεν επηρεάζεται από τη νομοθεσία αφού δεν χρησιμοποιεί βιοκτόνα. Ελαττωμένες εκπομπές VOCs. Μεγάλοι χρόνοι ζωής. 	<ul style="list-style-type: none"> Υψηλότερο αρχικό κόστος αγοράς και εφαρμογής. Αδυναμία αυτοκαθαρισμού σε ταχύτητες μικρότερες των 8 κόμβων. Ευπάθεια σε μηχανικές καταπονήσεις. 	5-10	116 \$/m ² 12 \$/m ² /yr

2.3 Οργανικές ενώσεις με αντιβιοεπιστρωτική δράση

2.3.1 Γενικά στοιχεία περί ενισχυτικών βιοκτόνων

Η απαγόρευση της χρήσης του τριβουτυλοκασσιτέρου (TBT) στα χημικώς ενεργά υφαλοχρώματα εξαιτίας των τοξικών επιπτώσεών του πυροδότησε την ανάγκη για εύρεση νέων χημικών ενώσεων οι οποίες θα μπορούσαν να λειτουργήσουν συμπληρωματικά στην αντιβιοεπιστρωτική δράση του χαλκού [1] [17] [28]. Ο χαλκός, με τη μορφή του Cu_2O , του CuSCN , μεταλλικού κράματος (π.χ με Ni) ή την απλή μεταλλική του κατάσταση, αποτελεί το ευρύτερα χρησιμοποιούμενο χημικό μέσο με αντιβιοεπιστρωτική δράση [28] [29]. Ωστόσο, αν και παρουσιάζει εκτεταμένο εύρος καταπολέμησης οργανισμών δεν δύναται να δώσει λύση για όλες τις μορφές ζωής που συμμετέχουν σε φαινόμενα βιοεπίστρωσης [1] [28]. Πιο συγκεκριμένα, ορισμένα είδη φυκών (π.χ *Enteromorpha* spp., *Ectocarpus* spp., *Achnanthes* spp.) είναι ανθεκτικά στο χαλκό, επομένως απαιτείται η χρήση ενισχυτικών βιοκτόνων τα οποία θα παρουσιάζουν επικουρική δράση σε αυτή του χαλκού [28]. Αυτές οι ενώσεις είναι οργανικές, φυσικές ή τεχνητές, και ονομάζονται ενισχυτικά βιοκτόνα (booster biocides).

Τα ενισχυτικά βιοκτόνα είναι μεταλλικές ή μη μεταλλικές οργανικές ενώσεις οι οποίες ανάλογα με τη δομή τους, τα χημικά στοιχεία που φέρουν και τον τρόπο που είναι συνδεδεμένα μεταξύ τους παρουσιάζουν διαφορετικό αντιβιοεπιστρωτικό μηχανισμό [29]. Οι περισσότερες από αυτές τις ενώσεις βασίζονται σε πέντε είδη στοιχείων εκτός του άνθρακα και του υδρογόνου: άζωτο (N), οξυγόνο (O), αλογόνα (F, Cl, Br, I), θείο (S) και βόριο (B) [29]. Ο χαλκός (Cu) και ο ψευδάργυρος (Zn) αποτελούν τα πιο διαδεδομένα μέταλλα στα μεταλλικά οργανικά βιοκτόνα. Εν γένει, τα ενισχυτικά βιοκτόνα ανήκουν συνήθως στις ακόλουθες κατηγορίες ενώσεων: ετεροκυκλικές αμίνες, αρωματικά αλογονίδια, καρβαμιδικά και άλλες [29].

Πολλά από τα ενισχυτικά βιοκτόνα θαλάσσιων υφαλοχρωμάτων βασίζονται σε αγροχημικά όπως παρασιτοκτόνα, ζιζανιοκτόνα, μυκητοκτόνα και βακτηριοκτόνα [29]. Οι συνθήκες εφαρμογής του υφαλοχρώματος (π.χ είδη υδάτων, είδος πλοίου κ.α) καθορίζουν το είδος ή τα είδη των ενισχυτικών βιοκτόνων που πρέπει να χρησιμοποιηθούν προκειμένου να παρουσιάσει το υφαλόχρωμα ικανοποιητική αντιβιοεπιστρωτική δράση. Επιπλέον, η χρησιμοποίηση ενός ενισχυτικού βιοκτόνου προϋποθέτει καταρχάς την περιβαλλοντική έγκρισή του από την αρμόδια αρχή κάθε χώρας. Μάλιστα, η φιλοσοφία υιοθέτησης όσο το δυνατό περιβαλλοντικά φιλικότερων τεχνολογιών δημιουργεί όλο και αυστηρότερες προδιαγραφές έγκρισης νέων βιοκτόνων [30]. Επομένως, δυσχεραίνεται η είσοδος νέων χημικών ενώσεων στην αγορά, ενώ ταυτόχρονα η ερευνητική κοινότητα προτρέπεται προς άλλες κατευθύνσεις [30].

Το ακόλουθο υποκεφάλαιο αποτελείται από ένα πίνακα (Πίνακας 2.3) ο οποίος συνοψίζει τα ονόματα, τις δομές και τον τρόπο δράσης ορισμένων εκ των πιο διαδεδομένων εμπορικών οργανικών βιοκτόνων με αντιβιοεπιστρωτική δράση [27]

[31], ενώ στη συνέχεια λαμβάνει χώρα περαιτέρω ανάλυση τριών επιλεγμένων οργανικών ενώσεων (Irgarol 1051TM, EconeaTM, Zinc Pyrithione) οι οποίες χρησιμοποιούνται στο πειραματικό μέρος.

2.3.2 Εμπορικά ενισχυτικά βιοκτόνα

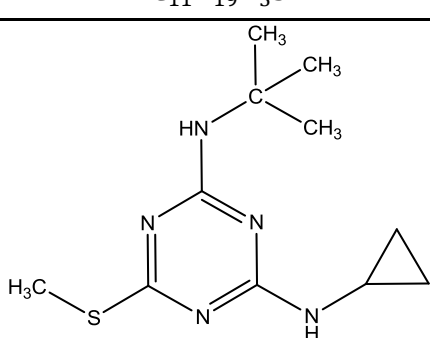
Πίνακας 2.3. Συνοπτική απεικόνιση των πιο διαδεδομένων εμπορικών ενισχυτικών βιοκτόνων

Εμπορική Ονομασία	Αριθμός CAS	Χημική Κλάση	Κατηγορία Βιοκτόνου	Τεχνική Δράσης	Δομή
Chlorothalonil	1897-45-6	Οργανοχλωριούχο	Μυκητοκτόνο	Αναστολέας μεταφοράς e ⁻ στα μιτοχόνδρια	
Copper pyrithione (CuPT)	154592-20-8	Οργανομεταλλικό άλας	Μικροβιοκτόνο	Αναστολέας πολλαπλών σημείων (μεταβολικές διεργασίες)	
Dichlofluanid	1089-98-9	Οργανοχλωριούχο	Μυκητοκτόνο	Αναστολέας μεταφοράς e ⁻ στο Φωτοσύνστημα II	
Diuron	330-54-1	Φαινιλουρία	Ζιζανιοκτόνο	Αναστολέας μεταφοράς e ⁻ στο Φωτοσύνστημα II	
Econea	122454-29-9	Αρωματικό αλογονίδιο	Παρασιτοκτόνο	Αναστολέας μεταφοράς e ⁻ στα μιτοχόνδρια	
Irgarol 1051	28159-98-0	s-Τριαζίνη	Ζιζανιοκτόνο	Αναστολέας μεταφοράς e ⁻ στο Φωτοσύνστημα II	
Sea-Nine 211 (DCOIT)	64359-81-5	Ισοθειαζολινόνη	Ζιζανιοκτόνο	Αναστολέας μεταφοράς e ⁻ στο Φωτοσύνστημα II	
TCMS pyridine	13108-52-6	Πυριδίνη	Μυκητοκτόνο	Αναστολέας μεταφοράς e ⁻ στα μιτοχόνδρια	
TCMTB	21564-17-0	Βενζοθειαζόλη	Μυκητοκτόνο	Αναστολέας μεταφοράς e ⁻ στα μιτοχόνδρια	
Thiram	137-26-8	Διθειοκαρβαμιδικό	Μυκητοκτόνο	Αναστολέας πολλαπλών σημείων (μεταβολικές διεργασίες)	
Zinc pyrithione (ZnPT)	13463-41-7	Οργανομεταλλικό άλας	Μικροβιοκτόνο	Αναστολέας πολλαπλών σημείων (μεταβολικές διεργασίες)	
Zineb	12122-67-7	Διθειοκαρβαμιδικό	Μυκητοκτόνο	Αναστολέας πολλαπλών σημείων (μεταβολικές διεργασίες)	

I. Irgarol 1051TM

Το Irgarol 1051TM (2-methylthio-4-*tert*-butylamino-6-cyclopropylamino-*s*-triazine) είναι μία συμμετρική μη μεταλλική 1,3,5 – τριαζίνη με χαρακτηριστική ικανότητα την εξουδετέρωση φυκών και κυανοβακτηρίων.

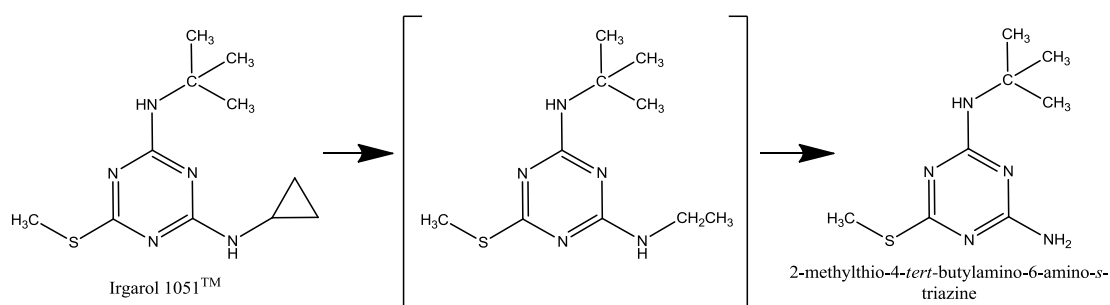
Πίνακας 2.4. Κύρια χαρακτηριστικά Irgarol 1051TM

Irgarol 1051 TM	
Μοριακός τύπος	C ₁₁ H ₁₉ N ₅ S
Μοριακή δομή	
Μοριακό βάρος (g/mol)	253,367
Συνώνυμα	Cybutryne
Ονομασία IUPAC	<i>N</i> ² -(<i>tert</i> -butyl)- <i>N</i> ⁴ -cyclopropyl-6-(methylthio)-1,3,5-triazine-2,4-diamine
CAS	28159 – 98 – 0
Φυσική κατάσταση [STP]	Στερεό
Εμφάνιση	Λευκή σκόνη με ελαφρά κίτρινη απόχρωση
Σημείο τήξης (°C)	128,4 – 133
Πυκνότητα (g/cm³) [20 °C]	1,11
Διαλυτότητα στο νερό (mg/L) [20 °C]	7 – 9
Διαλυτότητα σε άλλους διαλύτες (g/L) [20 °C]	50,58 (μεθανόλη) 2,04 (κ-εξάνιο)

Η έναρξη της εφαρμογής του Irgarol στα υφαλοχρώματα χρονολογείται τη δεκαετία του '80 [32]. Σύμφωνα με το [33], θεωρείται το συχνότερα ανιχνευόμενο βιοκτόνο με αντιβιοεπιστρωτική δράση παγκοσμίως. Συναντάται τόσο σε παράκτια όσο και σε γλυκά ύδατα με σημαντικές συγκεντρώσεις σε περιοχές με έντονη δραστηριότητα σε ναυσιπλοΐα [33] [34]. Οι μαρίνες παρουσιάζουν συνήθως υψηλότερες συγκεντρώσεις της ένωσης συγκριτικά με τα λιμάνια, ωστόσο αυτή η συμπεριφορά ενδεχομένως να μεταβληθεί λόγω των περιορισμών στη χρήση του Irgarol σε μικρού μεγέθους σκάφη [34]. Το εύρος συγκεντρώσεών του σε θαλάσσια ύδατα κυμαίνεται μεταξύ μη ανιχνεύσιμων τιμών και μερικών ppb [35]. Εν γένει, η παρουσία του Irgarol στο υδατικό περιβάλλον συσχετίζεται σημαντικά με την εφαρμογή του σε υφαλοχρώματα.

Μετά την έκπλυσή του (leaching) σε θαλάσσιους αποδέκτες κατακερματίζεται σε νερό, ιζήματα και αιωρούμενα σωματίδια [36] [37] [38]. Συγκριτικά με τα υπόλοιπα μέλη της οικογένειας των τριαζινών είναι πιο υδρόφοβη, επομένως αναμένεται να ανιχνεύεται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις σε ιζηματικά δείγματα, ενώ αντίστροφη συμπεριφορά αναμένεται για τα υδατικά δείγματα [33] [38]. Επομένως, η συγκέντρωση της ένωσης στο νερό αυξάνεται μετά από εργασίες βυθοκόρου σε μαρίνες [38] [39]. Ο υδρόφοβος χαρακτήρας της ένωσης οφείλεται στην παρουσία της *τερτ*-βουτυλικής και της κυκλοπροπυλικής ομάδας [33]. Η χαμηλή διαλυτότητα του Irgarol στο νερό (7 mg/L) συνεπάγεται υψηλότερη συνάφεια ως προς τα αιωρούμενα σωματίδια σε σύγκριση με την αντίστοιχη ένωση της ατραζίνης η οποία είναι πιο υδατοδιαλυτή (33 mg/L) [33] [38].

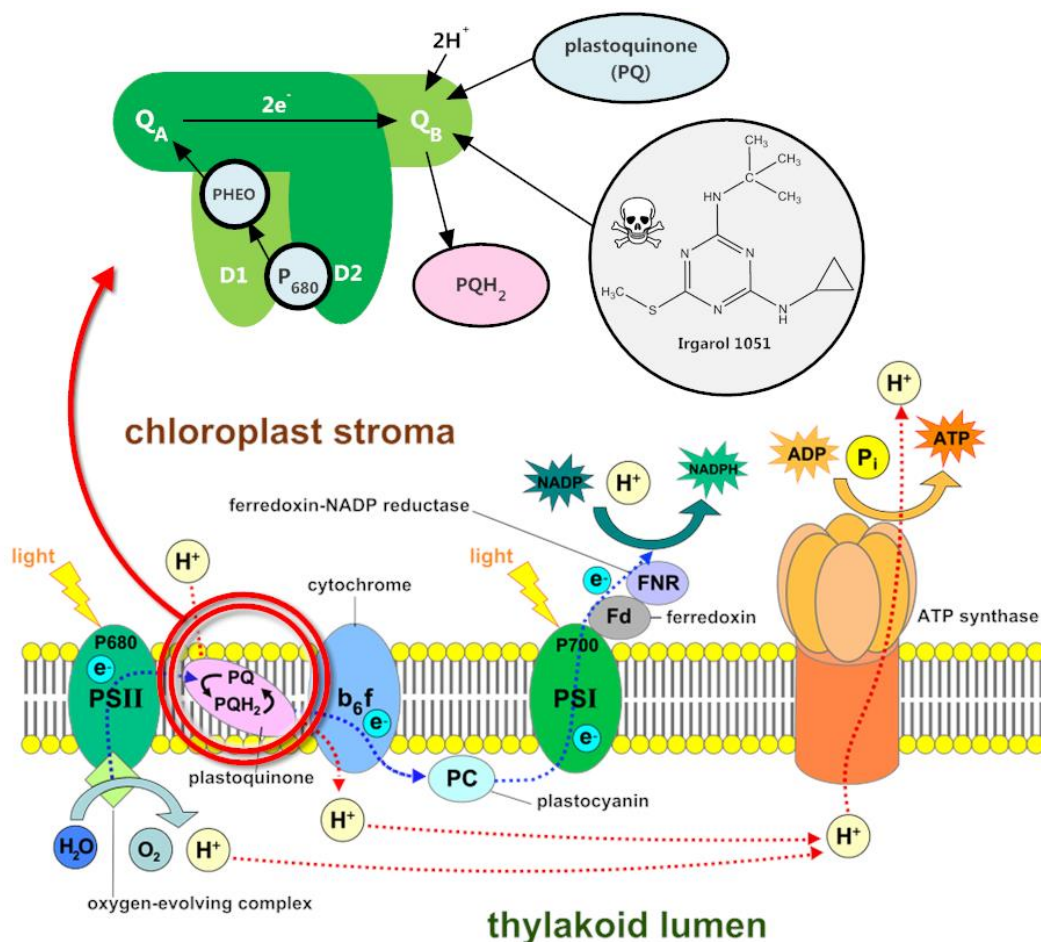
Σύμφωνα με το [32], το Irgarol υφίσταται ταχεία φωτοαποδόμηση, η οποία είναι της τάξης του 80 % σε θαλάσσιο περιβάλλον για περίοδο 15 εβδομάδων. Τα προϊόντα της φωτοαποδόμησής του είναι πολλαπλά [40], ωστόσο δημοφιλέστερο προϊόν είναι ο σταθερός μεταβολίτης GS26575 ή 2-methylthio-4-*tert*-butylamino-6-amino-*s*-triazine (M1), ο οποίος παρουσιάζει 2,5 έως 10 φορές χαμηλότερη τοξικότητα σε σύγκριση με το Irgarol 1051TM [32] [33] [38] [41]. Όσον αφορά την υδρολυτική του συμπεριφορά, το Irgarol θεωρείται μία σχετικά σταθερή ένωση με χρόνο ημιζωής περίπου 100 και 200 ημέρες σε θαλάσσια και γλυκά ύδατα αντιστοίχως [32] [33], ενώ λογίζεται ως μη-βιοαποδομήσιμο σύμφωνα με τις αναφορές [33] και [42]. Η σταθερότητά του έχει ως συνέπεια την αύξηση της πιθανότητας συσσώρευσής του στο θαλάσσιο περιβάλλον [43].



Σχήμα 2.10. Μηχανισμός N-αποαλκυλίωσης Irgarol 1051TM προς GS26575

Το Irgarol ανήκει στην ευρύτερη οικογένεια τριαζινών με ανασταλτική δράση στο φωτοσύστημα II των χλωροπλαστών [38]. Αυτοί οι αναστολείς λειτουργούν ανταγωνιστικά έναντι της εγγενούς πλαστοκίνησης η οποία προσδέεται στην κόγχη Q_B της D1 πρωτεΐνης του φωτοσυστήματος II με τοξικά αποτελέσματα για φωτοσυνθετικούς μικροοργανισμούς και φυτά [43] [44] [45]. Κύρια συνέπεια είναι η αναστολή της μεταφοράς ηλεκτρονίων, η οποία ισοδυναμεί με μειωμένη παραγωγή ATP και NADPH, καθώς και οξειδωτικό στρες λόγω της συσσώρευσης δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) στο φωτοσύστημα II [44] [45]. Οι προηγούμενες δράσεις καθιστούν τις τριαζίνες ικανά ζιζανιοκτόνα. Ο μηχανισμός δράσης του Irgarol και γενικότερα παρόμοιων ανασταλτικών παρασιτοκτόνων συνοψίζεται στο Σχήμα 2.11

[45]. Τέλος, το Irgarol θεωρείται λιγότερο τοξικό για τους ετερότροφους οργανισμούς [44] [46].



Σχήμα 2.11. Μηχανισμός ανασταλτικής δράσης Irgarol στους χλωροπλάστες

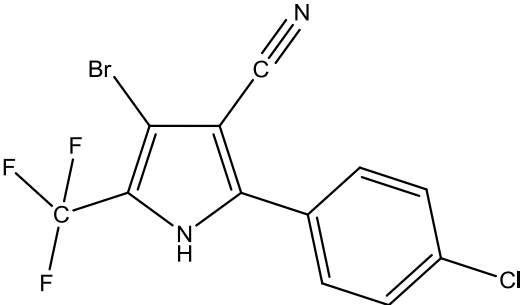
II. EconeTM

Η EconeTM με ονομασία κατά CAS: 1H-Pyrrole-3-carbonitrile και 4-bromo-2-(4-chlorophenyl)-5-trifluoromethyl είναι ένα μη μεταλλικό οργανικό μόριο με αντιβιοεπιστρωτική δράση της Janssen Preservation & Material Protection. Η έναρξη της κυκλοφορίας της Econe σε υφαλοχρώματα χρονολογείται το 2009 και αποτελεί ένα νέας γενιάς βιοκτόνο [47]. Η σχετικά πρόσφατη έναρξη της εφαρμογής της δικαιολογεί τον περιορισμένο αριθμό πληροφοριών που υπάρχουν διαθέσιμες βιβλιογραφικά.

Η Econe βασίζεται στο εντομοκτόνο chlorfenapyr με τη δομική διαφοροποίησή του τελευταίου να εντοπίζεται στο δακτύλιο της πυρρόλης όπου το άζωτο σχηματίζει δεσμό με μία *N*-αιθοξυμεθυλική ομάδα [38]. Η χημική ένωση της Econe μπορεί να αποτελέσει υποκατάστατο του χαλκού στα υφαλοχρώματα εξαιτίας της ικανότητάς της για καταπολέμηση μεγάλου εύρους οργανισμών συμπεριλαμβανομένων των σκληρών επικαθίσεων [38] [48]. Ωστόσο, ο κατασκευαστής προτείνει τη συνδυαστική εφαρμογή της με άλλες ενώσεις με αντιβιοεπιστρωτική δράση για

καταπολέμηση μεγαλύτερης ποικιλίας οργανισμών [48]. Αποτελεσματική εφαρμογή της Econea σε υφαλοχρώματα χωρίς χαλκό προϋποθέτει συγκέντρωση 4 – 6 % w/v υγρού υφαλοχρώματος [48]. Εναλλακτικά, δύναται να χρησιμοποιηθεί συνδυαστικά με βιοκτόνα που περιέχουν χαλκό, είτε για να ελαττώσει τα επίπεδα χαλκού στο υφαλόχρωμα με ταυτόχρονη διατήρηση των επιδόσεων είτε για να βελτιώσει τη συμπεριφορά του προϊόντος [48].

Πίνακας 2.5. Κύρια χαρακτηριστικά Econea™

Econea™													
Μοριακός τύπος	$C_{12}H_5BrClF_3N_2$												
Μοριακή δομή													
Μοριακό βάρος (g/mol)	349,5												
Συνώνυμα	Tralopyril												
Ονομασία IUPAC	4-bromo-2-(4-chlorophenyl)-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrrole-3-carbonitrile												
CAS	122454 – 29 – 9												
Φυσική κατάσταση [STP]	Στερεό												
Εμφάνιση	Λευκή σκόνη με υπόλευκη απόχρωση												
Σημείο τήξης (°C)	249												
Πυκνότητα (g/cm³) [20 °C]	1,714												
Διαλυτότητα στο νερό (mg/L) [20 °C]	0,16 – 0,17												
Διαλυτότητα σε άλλους διαλύτες (g/L) [20 °C]	<table style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td>300,5</td> <td>(ακετόνη)</td> </tr> <tr> <td>236,0</td> <td>(οξικός αιθυλεστέρας)</td> </tr> <tr> <td>109,1</td> <td>(μεθανόλη)</td> </tr> <tr> <td>85,2</td> <td>(κ-οκτανόλη)</td> </tr> <tr> <td>7,2</td> <td>(κ-επτάνιο)</td> </tr> <tr> <td>5,6</td> <td>(ξυλένιο)</td> </tr> </table>	300,5	(ακετόνη)	236,0	(οξικός αιθυλεστέρας)	109,1	(μεθανόλη)	85,2	(κ-οκτανόλη)	7,2	(κ-επτάνιο)	5,6	(ξυλένιο)
300,5	(ακετόνη)												
236,0	(οξικός αιθυλεστέρας)												
109,1	(μεθανόλη)												
85,2	(κ-οκτανόλη)												
7,2	(κ-επτάνιο)												
5,6	(ξυλένιο)												

Η Econea παρουσιάζει τάσεις ταχείας υδρόλυσης και φωτόλυσης στο υδατικό περιβάλλον προς σχηματισμό δευτερευόντων βιοαποδομήσιμων προϊόντων πολύ χαμηλής τοξικότητας [38] [48]. Ο χρόνος ημιζωής της Econea στο θαλάσσιο περιβάλλον είναι 3 ώρες σύμφωνα με τον κατασκευαστή, ωστόσο αυτό το δεδομένο είναι υπό αμφισβήτηση απουσία πληροφοριών περί της πειραματικής διαδικασίας [47].

Ο αντιβιοεπιστρωτικός μηχανισμός της Econea είναι μη διαθέσιμος βιβλιογραφικά, ωστόσο υπάρχουν πληροφορίες για το μηχανισμό δράσης του συγγενούς chlorfenapyr [49]. Το τελευταίο, αφού μεταβολιστεί από τους οργανισμούς, μετατρέπεται σε ένα μεταβολίτη ο οποίος απορυθμίζει την οξειδωτική φωσφορυλίωση διαταράσσοντας τη βαθμίδα των πρωτονίων εγκαρσίως των μιτοχονδριακών μεμβρανών [49]. Έτσι, επηρεάζεται η ικανότητα των κυττάρων για παραγωγή ATP από ADP, το οποίο οδηγεί τελικά σε κυτταρικό θάνατο που επάγει το θάνατο του οργανισμού. Ο προηγούμενος μηχανισμός αναφέρεται στο chlorfenapyr, ωστόσο είναι σημαντικό το ενδεχόμενο να αντιπροσωπεύει και την Econea εξαιτίας της παρόμοιας χημικής δομής των δύο ενώσεων.

III. Zinc Pyrithione

Το Zinc Pyrithione (ZPT) είναι ένα δημοφιλές οργανομεταλλικό βακτηριοκτόνο και μυκητοκτόνο με πολλαπλές εμπορικές εφαρμογές (Σχήμα 2.12) [38] [50]. Δύναται να χρησιμοποιηθεί ως συντηρητικό ή αντιμικροβιακό σε ιατροφαρμακευτικά και καλλυντικά προϊόντα, (π.χ αντιπυτιριδικά σαμπουάν) ενώ σημαντική είναι και η εφαρμογή του ως αντιμικροβιακό πρόσθετο σε πλαστικά (PVC, πολυολεφίνες, πολυουρεθάνες, φυσικό και συνθετικό λάτεξ, SBR, EPDM), ρευστά κοπής, προϊόντα οικιακής χρήσης (π.χ σπόγγους), επικαλύψεις και χρώματα [38] [50] [51].

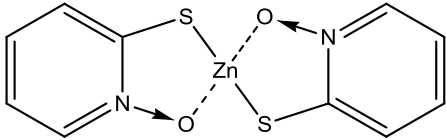


Σχήμα 2.12. Επιλεγμένες εμπορικές εφαρμογές Zinc Pyrithione

Το ZPT συντέθηκε για πρώτη φορά στα μέσα της δεκαετίας του `50 και έγινε αποδεκτό από τον Οργανισμό Ελέγχου Φαρμάκων και Τροφίμων των ΗΠΑ (US FDA) ως αντιπυτιριδικό πρόσθετο στις αρχές του `60 [52]. Η εφαρμογή του ZPT στα υφαλοχρώματα χρονολογείται ότι ξεκίνησε το 1987 [53]. Η αποτελεσματική δράση του ενάντια στις μαλακές επικαθίσεις (π.χ φύκια, βακτήρια, διάτομα) το καθιστά ένα δημοφιλές βιοκτόνο με αντιβιοεπιστρωτική δράση [54]. Δύναται να χρησιμοποιηθεί ακόμα σε πλεούμενα με μέγεθος μικρότερο των 25 m, παρά τις σχετικά πρόσφατες ριζικές νομοθετικές απαγορεύσεις περί χρήσης βιοκτόνων σε μικρού μεγέθους

πλεούμενα [55]. Σύμφωνα με το [29], το Zinc Pyrithione είναι το ευρύτερα χρησιμοποιούμενο οργανικό ενισχυτικό μέσο σε επικαλύψεις με αντιβιοεπιστρωτική δράση χωρίς κασσίτερο στην Ιαπωνία. Η αποτελεσματική δράση του ZPT προϋποθέτει συγκεντρώσεις της τάξης 2 – 4 % w/v στο τελικό υφαλόχρωμα [54].

Πίνακας 2.6. Κύρια χαρακτηριστικά Zinc Pyrithione

Zinc Pyrithione													
Μοριακός τύπος	$C_{10}H_8N_2O_2S_2Zn$												
Μοριακή δομή													
Μοριακό βάρος (g/mol)	317,68												
Συνώνυμα	ZPT, Bis(2-pyridylthio-1-oxide)zinc, zinc 2-pyridinethiol-1-oxide, zinc pyridinethione, Zinc Omadine®, Zinc PYRION™, PROTX2™ P												
Ονομασία IUPAC	Bis[1-Hydroxy-2(1H)-pyridinethionato-O,S]-T-4 zinc												
CAS	13463 – 41 – 7												
Φυσική κατάσταση [STP]	Στερεό												
Εμφάνιση	Μπεζ σκόνη												
Σημείο τήξης (°C)	(διασπάται στους 240 °C πριν ην τήξη)												
Πυκνότητα (g/cm³) [20 °C]	1,78												
Διαλυτότητα στο νερό (mg/L) [20 °C]	4,93												
Διαλυτότητα σε άλλους διαλύτες (g/L) [25 °C]	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; text-align: right;">80,0</td> <td>(διμεθυλοφορμαμίδιο)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">3,0</td> <td>(χλωροφόρμιο)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">2,0</td> <td>(πολυαιθυλενογλυκόλη)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">0,2</td> <td>(προπυλενογλυκόλη)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">0,1</td> <td>(αιθανόλη)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">0,08</td> <td>(ισοπροπανόλη)</td> </tr> </table>	80,0	(διμεθυλοφορμαμίδιο)	3,0	(χλωροφόρμιο)	2,0	(πολυαιθυλενογλυκόλη)	0,2	(προπυλενογλυκόλη)	0,1	(αιθανόλη)	0,08	(ισοπροπανόλη)
80,0	(διμεθυλοφορμαμίδιο)												
3,0	(χλωροφόρμιο)												
2,0	(πολυαιθυλενογλυκόλη)												
0,2	(προπυλενογλυκόλη)												
0,1	(αιθανόλη)												
0,08	(ισοπροπανόλη)												

Το Zinc Pyrithione, όπως και η αντίστοιχη ένωση του Copper Pyrithione, εμπορεύεται ως περιβαλλοντικά ουδέτερο, μη εμμένον αντιβιοεπιστρωτικό βιοκτόνο εξαιτίας της φωτόλυσης και της ταχείας υποβάθμισής του σε λιγότερο τοξικές ενώσεις [38]. Στο νερό, το ZPT υφίσταται ταχεία φωτόλυση και βιοαποδόμηση παρουσιάζοντας χρόνο ημιζωής περίπου 30 min [56]. Ωστόσο, ένας περιβαλλοντικός κίνδυνος που σχετίζεται με τη χρήση του ZPT είναι η trans-συμπλοκοποίηση της ένωσης με χαλκό και πιθανώς μαγγάνιο, αντικαθιστώντας το ιόν του ψευδαργύρου, αυξάνοντας τελικά τα επίπεδα διαλυμένου ψευδαργύρου στα θαλάσσια ύδατα [36]. Εξάλλου, υποστηρίζεται ότι σε ύδατα όπου η υπερϊώδης αποδόμηση είναι πενιχρή έχει την τάση να συγκεντρώνεται σε ιζήματα πριν την βιοαποδόμηση ή/και την υδρόλυσή του [36] [38]. Περισσότερα στοιχεία για τα προϊόντα της αποδόμησης του

ZPT και τους χρόνους αποδόμησής του είναι διαθέσιμα στο [57]. Γενικά, το ZPT θεωρείται ευαίσθητο σε ισχυρά οξειδωτικά ή αναγωγικά μέσα, αλλά και στο φως [54].

Ο μηχανισμός δράσης του ZPT είναι σύνθετος και ακόμα δεν έχει κατανοηθεί πλήρως [58] [52]. Η γενική ιδέα είναι ότι προκαλεί αποπόλωση των κυτταρικών μεμβρανών και διαταράσσει τη βαθμίδα των πρωτονίων εγκαρσίως των μεμβρανών αναστέλλοντας τη μεταφορά διαλυμένων ουσιών δια μέσω [52] [58] [59] [60] [61]. Αυτές οι διαταραχές οδηγούν σε μείωση των επιπέδων ATP εντός του κυττάρου καθώς και της συντιθέμενης πρωτεΐνης [58] [60]. Άλλη προτεινόμενη δράση του ZPT είναι ότι αποτελεί παράγοντα σιδηροπενίας σε μικροοργανισμούς εξαιτίας της συμπλοκοποίησης του σιδήρου των κυττάρων [58]. Το τελευταίο έχει ως συνέπεια την εξάντληση της αίμης, ενώ μπορεί να οδηγήσει και σε μειωμένα επίπεδα ATP [58]. Τέλος, το [52] αναφέρει ότι το zinc pyrithione περιορίζει τη μυκητιακή ανάπτυξη μέσω της εισαγωγής χαλκού εντός των κυττάρων και των βλάβων που προκαλεί στις σιδηροθειούχες πρωτεΐνες.

2.3.3 Φυσικά ενισχυτικά βιοκτόνα

Η εκτεταμένη εφαρμογή ορισμένων εμπορικών ενισχυτικών βιοκτόνων οδήγησε σε συγκέντρωση αυτών σε παράκτια ύδατα σε συγκεντρώσεις τοξικές για τους θαλάσσιους οργανισμούς [29] [33] [47] [62] [63]. Η ανάγκη εύρεσης εναλλακτικών περιβαλλοντικά φιλικότερων λύσεων μετατόπισε την ερευνητική θεματολογία στην ανακάλυψη, το χαρακτηρισμό και την ανάπτυξη προϊόντων που βασίζονται στις αυθόρμητες χημικές άμυνες άμισχων θαλάσσιων οργανισμών οι οποίες αποτρέπουν ή αναστέλλουν μερικώς, συνδυαστικά με φυσικές και μηχανικές άμυνες, την βιοεπίστρωση της επιφάνειας του οργανισμού [6] [63] [64] [65] [66] [67] [68].

Πληθώρα φυσικών χημικών ενώσεων με αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες, γνωστά και ως φυσικά προϊόντα με αντιβιοεπιστρωτική δράση (Natural Product Antifoulants ή NPAs) [69] [70] [64], έχουν απομονωθεί από θαλάσσια φύκη και άμισχα θαλάσσια ασπόνδυλα [71] [64]. Μάλιστα, ορισμένες από αυτές τις ενώσεις έχουν ήδη εφαρμοστεί ως ενισχυτικά μόρια σε υφαλοχρώματα [72] [73]. Η εμπορική εκμετάλλευση αυτών των ενώσεων καθίσταται συνήθως δύσκολη εξαιτίας της αδυναμίας εύρεσης των ενώσεων σε εμπορικής κλίμακας ποσότητες [63] [74]. Η διερεύνηση της πιθανότητας απομόνωσης αυτών των βιοκτόνων από ποικίλες βιολογικές πηγές (π.χ θαλάσσια βακτήρια, μύκητες, κυανοβακτήρια, θαλάσσια και επίγεια φυτά) αποτελεί μονόδρομο προκειμένου να ξεπεραστεί το εμπόδιο της κλιμάκωσης [29] [63] [71] [74] [75] [76]. Επιπλέον, ένα ακόμα ζητούμενο για την εισαγωγή τους στο εμπόριο αποτελεί η διατήρηση της αντιβιοεπιστρωτικής δράσης τους εντός του υφαλοχρώματος για επαρκή χρονικά διαστήματα. Ενδεδειγμένο υλικό για τη φύση, τις δομές, τους μηχανισμούς και τις πηγές εύρεσης αυτών των NPAs είναι συνοπτικά διαθέσιμες στο βιβλίο [72].

Κεφάλαιο 3. Εγκλεισμός ενώσεων με αντιβιοεπιστρωτική δράση

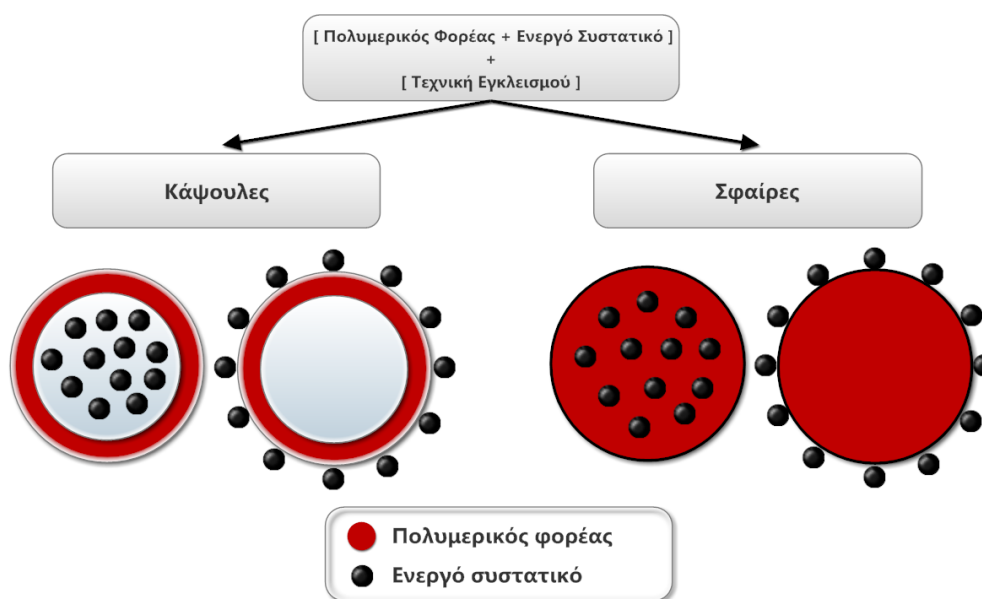
3.1 Εγκλεισμός ενώσεων σε βιοδιασπώμενα πολυμερή

3.1.1 Γενικές έννοιες, ορισμοί και αιτίες εγκλεισμού ενώσεων

I. Γενικές έννοιες και ορισμοί

Ο εγκλεισμός (encapsulation) ενώσεων αποτελεί μία διαδικασία εγκλωβισμού δραστικών συστατικών εντός μίας μήτρας ή κελύφους, συνήθως πολυμερικής φύσης [77]. Η εγκλεισμένη ουσία δύναται να είναι στερεή, υγρή, αέρια, υδρόφιλη ή λιπόφιλη [77] [78] [79]. Τα παραγόμενα σωματίδια από τη διαδικασία του εγκλεισμού διακρίνονται σε δύο κατηγορίες ανάλογα με τη μορφολογία τους:

1. τις κάψουλες και
2. τις σφαίρες.



Σχήμα 3.1. Παραγόμενες δομές σωματιδίων από διαδικασίες εγκλεισμού ενώσεων σε πολυμερή

Ο όρος της κάψουλας περιγράφει το σύστημα στο οποίο η εγκλεισμένη ουσία βρίσκεται συγκεντρωμένη στον πυρήνα του σωματιδίου και ταυτόχρονα περιβάλλεται πλήρως από ένα πολυμερικό κέλυφος (μεμβράνη) [77] [78]. Ο πυρήνας είναι στερεός, υγρός, αέριος ή συνδυασμός φάσεων (π.χ γαλακτώματα, αιωρήματα) ενώ το κέλυφος είναι συνεχές, πορώδες ή χωρίς πόρους [77] [78]. Οι κάψουλες αποτελούν ένα είδος δεξαμενής (reservoir) στον οποίο τα ενεργά συστατικά βρίσκονται διεσπαρμένα σε μία συνήθως υγρή (υδατική ή οργανική) φάση η οποία περιβάλλεται από ένα στερεό περίβλημα (κέλυφος ή μεμβράνη) [80] [81]. Από την άλλη μεριά, ο όρος της σφαίρας αντιστοιχίζεται σε ένα σύστημα στο οποίο τα ενεργά συστατικά είναι ομογενώς διαλυμένα ή διεσπαρμένα σε μία στερεή πολυμερική μήτρα [77] [81]. Στην

περίπτωση των σφαιρών όλο το σύστημα είναι στερεό [78] και περιγράφονται ως «μονολιθικού τύπου» στερεά διαλύματα ή αιωρήματα της ενεργής ουσίας στην πολυμερική μήτρα [77]. Η διαφορετική δόμηση των συστημάτων οδηγεί σε διαφορετικές ιδιότητες απελευθέρωσης των ενεργών συστατικών [77]. Τέλος, η δραστική ουσία δύναται να είναι εγκλεισμένη, προσροφημένη ή ακόμα και συζευγμένη πάνω στον πολυμερικό φορέα (carrier) (Σχήμα 3.1) [78] [80] [81] [82].

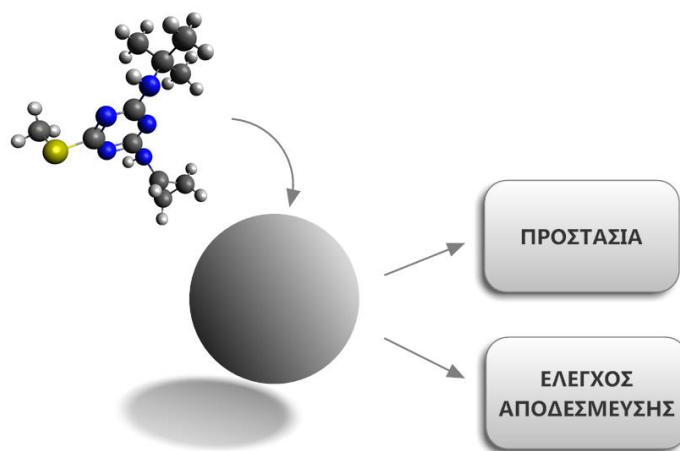
Τα παραγόμενα σωματίδια είτε σε μορφή κάψουλας είτε σε μορφή σφαιρών κατηγοριοποιούνται περαιτέρω σε μικρο- και νανο- κάψουλες/σφαίρες ανάλογα με το μέγεθός τους. Ο νανοεγκλεισμός ενώσεων περιλαμβάνει το σχηματισμό σωματιδίων με διαμέτρους που κυμαίνονται από 1 έως 1000 nm [80] [83] [84], ενώ ως μικροκάψουλες και μικροσφαίρες θεωρούνται όσα σωματίδια έχουν μέγεθος από 1 έως 1000 μm [77] [79] [84]. Για τη διαφοροποίηση μεταξύ νανο- και μικρο-σωματιδίων παρατηρείται μία βιβλιογραφική σύγχυση, αφού άλλοτε το ανώτατο όριο της νανοκλίμακας θεωρούνται τα 1000 nm και άλλοτε τα 100 nm, όπως για παράδειγμα στις αναφορές [82] και [85]. Στη δεδομένη εργασία πραγματοποιείται η παραδοχή ότι νανοδομή αποτελεί κάθε σωματίδιο μεγέθους από 1 έως 1000 nm.

II. Αιτίες εγκλεισμού βιοδραστικών ενώσεων

Ο εγκλεισμός ενώσεων αποτελεί μία ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνολογία με πολλαπλές βιομηχανικές εφαρμογές όπως σε τρόφιμα, φάρμακα, καλλυντικά, αγροχημικά, είδη εκτύπωσης, οικιακά απορρυπαντικά προϊόντα, χρωστικές, συγκολλητικές ύλες κ.α [77] [79]. Επομένως, αποτελεί μία δημοφιλή τεχνική βελτίωσης των χαρακτηριστικών του παραγόμενου συστήματος-προϊόντος λαμβάνοντας υπόψη το ευρύ φάσμα βιομηχανικών εφαρμογών της.

Ο εγκλεισμός δραστικών συστατικών σε κατάλληλους φορείς εξυπηρετεί δύο κύριους στόχους (Σχήμα 3.2):

1. την προστασία της εγκλεισμένης ουσίας από το περιβάλλον της και
2. τον έλεγχο της αποδέσμευσής της μετά τον εγκλεισμό της στο φορέα.



Σχήμα 3.2. Απεικόνιση των κύριων στόχων που εξυπηρετεί ο εγκλεισμός ενώσεων

Η προστασία από το περιβάλλον αφορά εν γένει ευαίσθητες (π.χ στην ακτινοβολία, σε οξειδωτικές συνθήκες, στην υγρασία, στη θερμότητα κ.α) και ασταθείς ενώσεις οι οποίες πρέπει να προστατευτούν από το περιβάλλον τους (π.χ για να μην μεταβολιστούν/μετατραπούν σε τρίτες ενώσεις) [79]. Επομένως, ο όρος της προστασίας αφορά κατά βάση τη συντήρηση/διατήρηση της δομής και εμμέσως των ιδιοτήτων της ένωσης. Επιπλέον, η έννοια της προστασίας λαμβάνει αντίστροφες διαστάσεις όταν το περιεχόμενο του πυρήνα των εγκλωβισμένων σωματιδίων είναι τοξικό ή επικίνδυνο για το περιβάλλον, οπότε ο εγκλωβισμός προστατεύει το περιβάλλον από την άμεση επαφή του με την ουσία [86].

Όσον αφορά τον έλεγχο της αποδέσμευσης, ο εγκλεισμός ενώσεων σε πολυμερικούς φορείς πραγματοποιείται συνήθως για να προσθέσει ένα επιπλέον εμπόδιο στη διάχυσή τους από περιοχές υψηλότερων συγκεντρώσεων προς περιοχές χαμηλότερων συγκεντρώσεων. Εν γένει, το είδος του φορέα (υλικό, κάψουλα ή σφαίρα) καθορίζει συνήθως τον ρυθμό απελευθέρωσης της ουσίας. Για παράδειγμα έχουν κατασκευασθεί φορείς όπου αντί να λειτουργούν με μηχανισμό συνεχούς σταδιακής αποδέσμευσης της ουσίας υφίστανται άμεση διάρρηξη οπότε αποβάλουν μαζικά το εσωτερικό περιεχόμενό τους τη στιγμή της ρήξης [86]. Σε κάθε περίπτωση και ανεξάρτητα από το μηχανισμό δράσης του φορέα, η απελευθέρωση της προς εγκλεισμό ένωσης μετατρέπεται από ανεξέλεγκτη σε ελεγχόμενη μετά τον εγκλεισμό της.

Άλλες αιτίες για τον εγκλεισμό συστατικών με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά αποτελούν [79] [86]:

- η δυνατότητα συγκάλυψης ανεπιθύμητων ιδιοτήτων των ενώσεων προς εγκλεισμό, όπως για παράδειγμα η οσμή ή η γεύση (συχνά σε εφαρμογές τροφίμων και φαρμάκων),
- η δυνατότητα συγκάλυψης χρήσιμων ιδιοτήτων των εγκλεισμένων συστατικών μέχρι την απαίτηση/ανάγκη για εμφάνισή τους (π.χ pH, καταλυτικές ιδιότητες κ.α),
- η δυνατότητα διαχωρισμού συστατικών επιτρέποντας τον έλεγχο της ασυμβατότητας των ενώσεων και την εξασφάλιση της ομαλής γειτνίασή τους,
- η δυνατότητα σχηματισμού αμιγώς στερεών συστημάτων οπότε υγρά συστατικά μετατρέπονται σε ελευθέρως κινούμενες σκόνες (π.χ υγρά πρόσθετα στη βιομηχανία τροφίμων),
- η δυνατότητα για στόχευση της περιοχής όπου πρέπει να δράσει το εγκλωβισμένο περιεχόμενο (κυρίως για φαρμακευτικά δραστικά υλικά), οπότε ελαχιστοποιούνται οι παρενέργειες δράσης της ένωσης και ταυτόχρονα αυξάνεται η αποδοτικότητα της,
- η ενίσχυση της ασφάλειας σε θέματα αποθήκευσης, μεταφοράς και χρησιμοποίησης επικίνδυνων ή τοξικών ενώσεων από τον άνθρωπο όπως σε περιπτώσεις αγροχημικών.

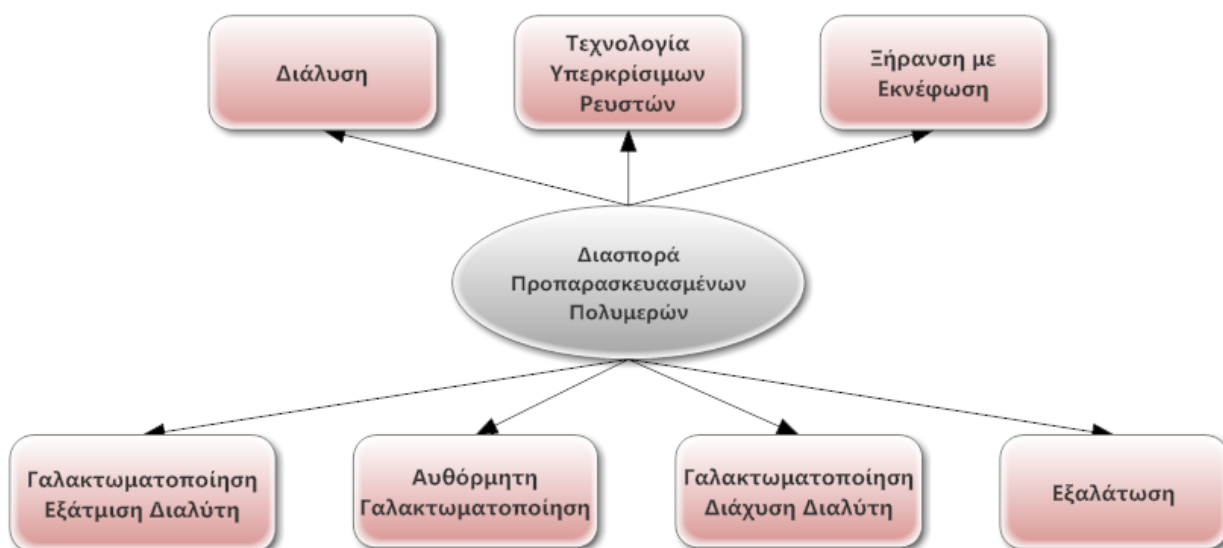
Οι πολυάριθμες θετικές επιδράσεις του εγκλεισμού ενώσεων με ιδιαίτερες ιδιότητες είτε επιθυμητές είτε ανεπιθύμητες αποτελεί την αίτια για την οποία έχει γνωρίσει εκτεταμένης αποδοχής τόσο από την ερευνητική κοινότητα αλλά και τη βιομηχανία.

3.1.2 Τεχνικές εγκλεισμού ενώσεων σε πολυμερικούς φορείς

I. Κατηγοριοποίηση τεχνικών παρασκευής πολυμερικών μικρο- και νανο- σωματιδίων

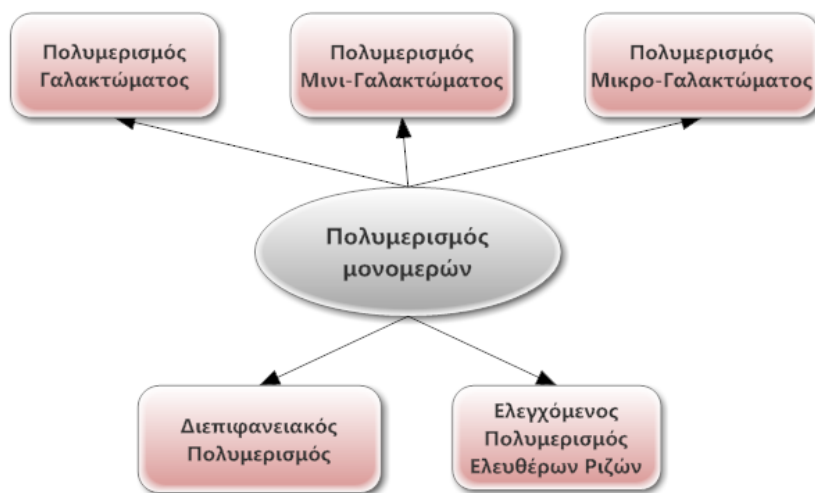
Στο παρόν υποκεφάλαιο επιχειρείται η καταγραφή των ευρύτερα χρησιμοποιούμενων τεχνικών εγκλεισμού ενώσεων σε πολυμερικούς φορείς που δύναται να σχηματίσουν σωματίδια τόσο στη νανοκλίμακα όσο και στη μικροκλίμακα ανάλογα με τη ρύθμιση των παραμέτρων κάθε διεργασίας. Οι τεχνικές που σχετίζονται αποκλειστικά με εγκλεισμούς στη μικροκλίμακα δεν καταγράφονται. Περισσότερες πληροφορίες για αυτές τις μεθόδους παρασκευής μικροσωματιδίων είναι διαθέσιμες στις αναφορές [79], [87] και [88]. Όσον αφορά τις γενικές τεχνικές παραγωγής νανο- και μικρο- σωματιδίων διακρίνονται οι ακόλουθες κατηγορίες [82] [89]:

1. **Διασπορά προπαρασκευασμένων πολυμερών**, η οποία γενική μέθοδος υποκατηγοριοποιείται στις τεχνικές τις οποίες παρουσιάζει το Σχήμα 3.3 [80] [83] [84] [90]. Οι τεχνικές της διασποράς προπαρασκευασμένων πολυμερών στηρίζονται συνήθως στη δημιουργία ενός γαλακτώματος και στη συνέχεια αφαίρεση του διαλύτη της διεσπαρμένης φάσης από το μέσο διασποράς για το σχηματισμό των πολυμερικών σωματιδίων.



Σχήμα 3.3. Κύριες τεχνικές παρασκευής πολυμερικών νανο- και μικρο- σωματιδίων μέσω διασποράς προπαρασκευασμένων πολυμερών

2. **Πολυμερισμός μονομερών**, η οποία γενική μέθοδος υποκατηγοριοποιείται περαιτέρω στις τεχνικές που παρουσιάζει το Σχήμα 3.4 [80] [83] [90].



Σχήμα 3.4. Κύριες τεχνικές παρασκευής πολυμερικών νανο- και μικρο- σωματιδίων μέσω πολυμερισμού μονομερών

3. **Αντιδράσεις διασταύρωσης φυσικών πολυμερών**, η οποία γενική τεχνική υποκατηγοριοποιείται περαιτέρω στις μεθόδους που παρουσιάζει το Σχήμα 3.5 [82] [89] [90].



Σχήμα 3.5. Κύριες τεχνικές παρασκευής πολυμερικών νανο- και μικρο- σωματιδίων μέσω αντιδράσεων διασταύρωσης φυσικών πολυμερών

Οι αναφορές [81], [83] και [89] επιχειρούν τη σύγκριση των προτερημάτων και μειονεκτημάτων των τεχνικών που βασίζονται σε προπαρασκευασμένα πολυμερή, πολυμερισμό μονομερών και διασταύρωση φυσικών πολυμερών. Η εκτεταμένη εφαρμογή των νανοσωματιδίων σε ανθρωποκεντρικές εφαρμογές (ιατρικός τομέας, φαρμακευτική, βιομηχανία τροφίμων) απαιτεί σχετικά ταχέως βιοδιασπώμενα πολυμερή καθώς και όσο το δυνατό χαμηλότερη τοξικότητα του φορέα [83] [91]. Οι τεχνικές παρασκευής πολυμερικών σωματιδίων με πολυμερισμό μονομερών οδηγεί συνήθως σε βραδέως βιοδιασπώμενα ή μη-βιοδιασπώμενα πολυμερή [83] [91]. Επιπλέον, μη αμελητέο θεωρείται το γεγονός ότι υπολείμματα του πολυμερισμού (μονομερή, ολιγομερή, επιφανειοδραστικές ενώσεις) παρουσιάζουν ενδεχομένως υψηλή τοξικότητα, οπότε απαιτείται σχολαστική επεξεργασία-καθαρισμός του κολλοειδούς υλικού πριν τη χρήση [83] [91]. Όλα τα προηγούμενα κοινά μειονεκτήματα των τεχνικών πολυμερισμού μονομερών καθιστούν τις τεχνικές προπαρασκευασμένων πολυμερών ως τις πιο δημοφιλείς για την παρασκευή βιοδιασπώμενων μικρο- και νανο- σωματιδίων [82] [91].

Περισσότερες πληροφορίες για τις επιμέρους τεχνικές παρασκευής πολυμερικών σωματιδίων του παρόντος υποκεφαλαίου είναι διαθέσιμες στις εκάστοτε παραπομπές πριν από κάθε σχήμα υποκατηγοριοποίησης των γενικών τεχνικών.

II. Τεχνικές γαλακτωματοποίησης – εξάτμισης του διαλύτη και αυθόρμητης γαλακτωματοποίησης

Η τεχνική γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης του διαλύτη (emulsification-solvent evaporation) και η τεχνική αυθόρμητης γαλακτωματοποίησης (spontaneous emulsification) είναι δύο συγγενείς και διαδεδομένες μέθοδοι παραγωγής πολυμερικών νανο- και μικρο- σωματιδίων από προπαρασκευασμένους πολυμερικούς φορείς. Στο παρόν υποκεφάλαιο πραγματοποιείται σύντομη καταγραφή των κυριότερων χαρακτηριστικών τους και σύνοψη των βασικών διαφοροποιήσεων τους που οδηγεί στην διακριτή καταγραφή τους στην βιβλιογραφία. Η επιλογή της ανάλυσης των δεδομένων τεχνικών οφείλεται στη συνδυαστική χρήση τους κατά την πειραματική διαδικασία, η οποία συγκεκριμενοποιείται σε επόμενα κεφάλαια.

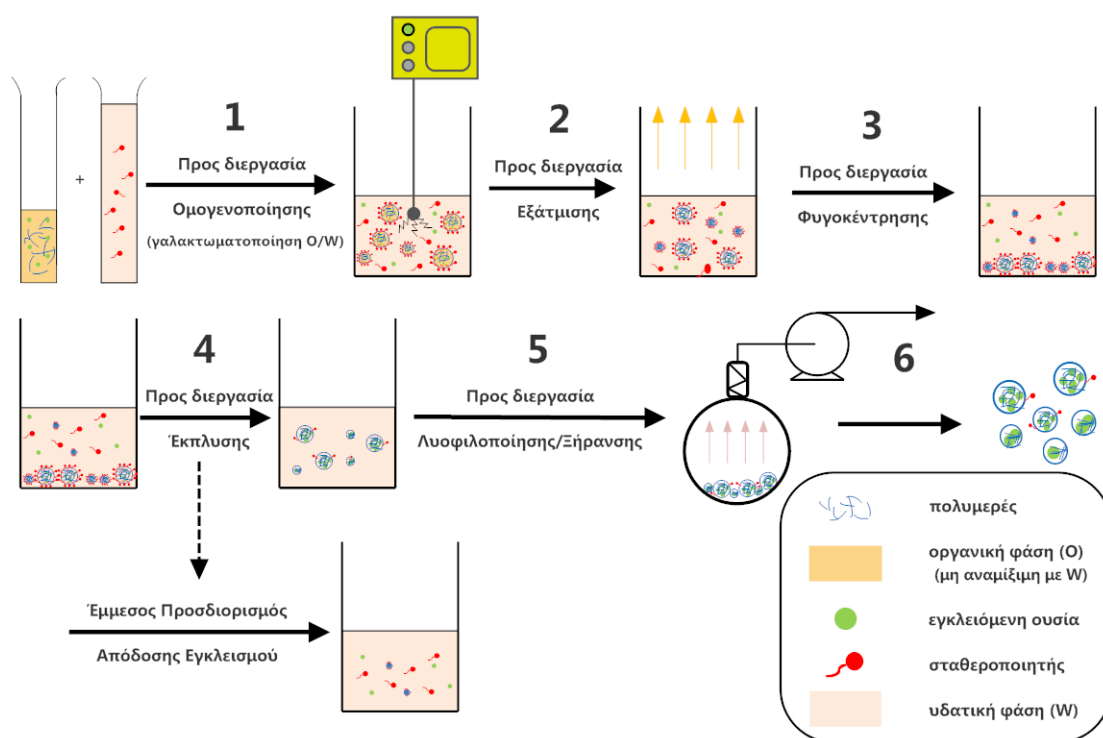
a. Γαλακτωματοποίηση-εξάτμιση του διαλύτη

Η τεχνική γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης του διαλύτη περιλαμβάνει δύο κύρια στάδια. Το πρώτο στάδιο απαιτεί την γαλακτωματοποίηση ενός πολυμερικού διαλύματος σε μία συνεχή φάση συνήθως υδατικής φύσης, εξαιτίας της ευκολίας διαχείρισης του νερού, του κόστους του, της απλοποίησης της διαδικασίας παραλαβής των σωματιδίων και της ελαχιστοποίησης των φαινομένων συσσωμάτωσης [83]. Το δεύτερο στάδιο της τεχνικής αποτελείται από τη διαδικασία εξάτμισης του πολυμερικού διαλύτη που οδηγεί σε καταβύθιση του πολυμερούς σε μορφή νανο- ή μικρο- σωματιδίων.

Η δραστική ουσία προς εγκλεισμό διαλύεται συνήθως απευθείας στο διαλύτη του πολυμερούς, όμως δύναται να διαλυθεί και σε άλλο διαλύτη, οργανικό ή υδατικό. Αν ο διαλύτης της προς εγκλεισμό ένωσης είναι αναμείξιμος με το διαλύτη του πολυμερούς τότε σχηματίζεται μία ενιαία οργανική «ελαιώδης» (oil ή O) φάση. Αν όμως ως διαλύτης της προς εγκλεισμό ένωσης επιλεγθεί το νερό (υδατική ή W φάση) ή σπανιότερα κάποια μη αναμείξιμη οργανική φάση με αυτή του πολυμερούς, τότε απαιτείται υψηλής ενέργειας ομογενοποίηση (π.χ vortex, υπέρηχοι) των φάσεων [89]. Τελικά, μετά την ομογενοποίηση των φάσεων της δραστικής ένωσης και του πολυμερούς σχηματίζεται ένα γαλάκτωμα τύπου W/O και O/O, αντίστοιχα.

Στη συνέχεια, η ομογενοποιημένη φάση πολυμερούς-δραστικής ένωσης τύπου O ή W/O ή σπανιότερα O/O διασπείρεται σε μορφή νανο- και μικρο- σταγονιδίων σε μία συνεχή φάση η οποία όπως προαναφέρθηκε είναι συνήθως υδατική, οπότε σχηματίζονται γαλακτώματα τύπου O/W, W/O/W και O/O/W. Στην συγκεκριμένη τεχνική, η ομογενοποιημένη φάση πολυμερούς-δραστικής ένωσης είναι μη αναμείξιμη (π.χ διχλωρομεθάνιο, χλωροφόρμιο) ή μερικώς αναμείξιμη (π.χ οξικός αιθυλεστέρας) με τη συνεχή υδατική φάση στην οποία πρέπει να πραγματοποιηθεί η γαλακτωματοποίηση [83]. Επομένως, απαιτείται η προσφορά επαρκούς ενέργειας στο

σύστημα προκειμένου να σχηματιστούν σταθερά σταγονίδια της διεσπαρμένης φάσης στην κύρια υδατική φάση. Οι ενεργειακές ανάγκες είναι συνάρτηση του μεγέθους των σχηματιζόμενων σταγονιδίων της μη συνεχούς φάσης καθώς όσο ελαττώνεται το μέγεθός τους ή ισοδύναμα αυξάνεται η διεπιφάνεια μη συνεχούς φάσης – υδατικής φάσης τόσο αυξάνονται οι ενεργειακές απαιτήσεις του συστήματος για τη σταθεροποίησή του. Ενέργεια μεταφέρεται στο σύστημα συνήθως είτε με τη μορφή υπερήχων (sonication) είτε με κατάλληλους ομογενοποιητές (homogenizers) υψηλής ταχύτητας [80] [89]. Επιπλέον, η υδατική φάση περιλαμβάνει συνήθως μία αμφιφιλική επιφανειοδραστική ουσία (surfactant) (π.χ PVA, πολοξαμερή, πολυσορβίτες, δεξτράνη), γνωστή και ως γαλακτωματοποιητής (emulsifying agent) ή σταθεροποιητής (stabilizer), η οποία ευνοεί τη σταθεροποίηση της μη συνεχούς φάσης στη συνεχή υδατική φάση ελαττώνοντας την επιφανειακή τάση [89] [92].



Σχήμα 3.6. Τεχνική γαλακτωματοποίησης – εξάτμισης του διαλύτη μονού γαλακτώματος (O/W) και διεργασίες παραλαβής πολυμερικών σωματιδίων

Μετά το σχηματισμό σταθερού γαλακτώματος τύπου O/W (μονό γαλάκτωμα ή single emulsion) ή W/O/W ή O/O/W (διπλά γαλακτώματα ή double emulsions) απαιτείται η εξάτμιση του πολυμερικού διαλύτη προκειμένου να πραγματοποιηθεί καταβύθιση (precipitation) του πολυμερούς και σκλήρυνση (hardening) ή στερεοποίηση (solidification), με τη βοήθεια των επιφανειοδραστικών ουσιών, της μη συνεχούς φάσης προς σταθερές σωματιδιακές δομές [89] [92]. Η εξάτμιση πραγματοποιείται είτε με απλή ανάδευση σε ατμοσφαιρικές συνθήκες είτε με τη βοήθεια εξεταμιστήρα σε κατάλληλα τροποποιημένες συνθήκες θερμοκρασίας και πίεσης λαμβάνοντας υπόψη τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της εκάστοτε εγκλειόμενης ένωσης (π.χ ευαισθησία στη θερμοκρασία) και του χρησιμοποιούμενου πολυμερικού φορέα [80] [83] [89]. Τα παραγόμενα νανο- και μικρο- σωματίδια βρίσκονται

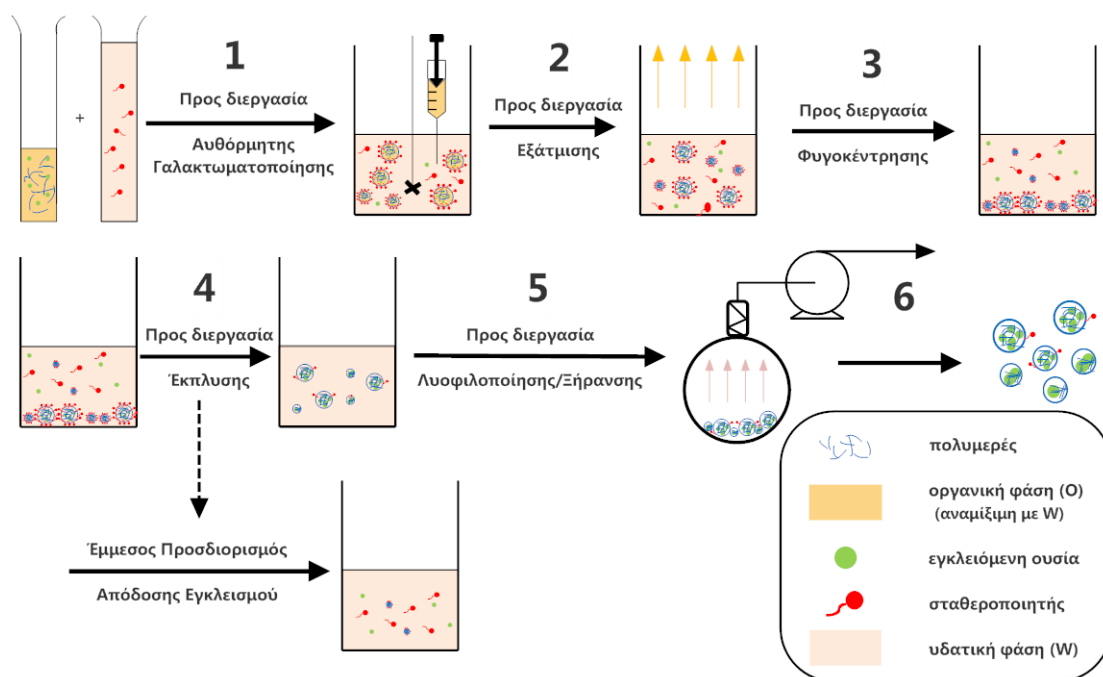
διεσπαρμένα στη συνεχή υδατική φάση από την οποία δύναται να επεξεργαστούν περαιτέρω και να απομονωθούν με κατάλληλες φυσικές διεργασίες όπως η φυγοκέντρωση και η λυοφιλοποίηση [80]. Τα σωματίδια παραλαμβάνονται συνήθως σε στερεή μορφή εξαιτίας της τάσης τους για υδρόλυση, επομένως υφίστανται λυοφιλοποίηση και κατάψυξη για αύξηση του χρόνου ζωής τους [89]. Η αποφυγή της συσσωμάτωσης των σωματιδίων κατά την παραλαβή τους σε στερεή μορφή υποβοηθείται από την παρουσία των επιφανειοδραστικών ενώσεων [89] [92].

Η ανωτέρω διαδικασία οδηγεί στο σχηματισμό νανο- και μικρο- σφαιρών και όχι καψουλών. Επομένως, η παραπάνω διαδικασία οδηγεί σε διασπορά του εγκλειόμενου συστατικού στη χρησιμοποιούμενη πολυμερική μήτρα. Όσον αφορά στις κάψουλες, η παραγωγή τους απαιτεί τη χρήση ενός σταθερού, χαμηλής πτητικότητας ελαίου ή υπερφθοράνθρακα (perfluorocarbon) στη μη συνεχή φάση κάτω από τα όρια αναμειξιμότητας το οποίο συστατικό κατά την εξάτμιση του πτητικού οργανικού διαλύτη του πολυμερούς θα αποτελέσει τον πυρήνα των καψουλών [91]. Εν γένει, η τεχνική γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης του διαλύτη χρησιμοποιείται για τον εγκλεισμό υδρόφοβων ενώσεων, ωστόσο υδρόφιλες ενώσεις δύναται να εγκλειστούν με τη διαδικασία του σχηματισμού γαλακτώματος τύπου W/O/W [91]. Λεπτομερέστερες πληροφορίες για την τεχνική γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης του διαλύτη είναι διαθέσιμες στις αναφορές [92] και [93].

b. Αυθόρμητη γαλακτωματοποίηση

Η τεχνική αυθόρμητης γαλακτωματοποίησης ή εκτόπισης διαλύτη (solvent displacement) ή νανοκαταβύθισης (nanoprecipitation) είναι μία παρόμοια τεχνική με αυτή της γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης του διαλύτη. Στην πραγματικότητα οι δύο τεχνικές διαφέρουν ως προς το πρώτο σκέλος της διαδικασίας γαλακτωματοποίησης.

Η ομογενοποιημένη οργανική φάση διασπείρεται σε μορφή σταγονιδίων σε μία συνεχή υδατική φάση με την οποία είναι πλήρως αναμειξιμη. Η οργανική φάση περιλαμβάνει έναν ημιπολικό, πτητικό, αναμειξιμο διαλύτη με το νερό, όπως η ακετόνη (συνήθης περίπτωση) ή η αιθανόλη [78] [89] [94]. Αυτή η φάση αποχύνεται ή εγχέεται ή εισάγεται στάγδην στη συνεχή υδατική φάση η οποία περιέχει συνήθως μία επιφανειοδραστική ουσία με σταθεροποιητική δράση [89] [94]. Ταυτόχρονα, λαμβάνει χώρα ήπια μαγνητική ανάδευση του μίγματος [89] [94]. Τα νανοσωματίδια σχηματίζονται αυθόρμητα εξαιτίας της ταχείας διάχυσης του αναμειξιμου με τη συνεχή φάση οργανικού διαλύτη [78] [89] [94]. Η ταχεία διάχυση του οργανικού διαλύτη προς την υδατική φάση οδηγεί σε παραγωγή διεπιφανειακής τύρβης [89] [94]. Σταγονίδια του οργανικού διαλύτη αποσχίζονται αυθόρμητα από τη διεπιφάνεια μεταξύ των δύο φάσεων εξαιτίας της ελαττωμένης επιφανειακής τάσης στη διεπιφάνεια και σταθεροποιούνται ταχέως από τις επιφανειοδραστικές ενώσεις της συνεχούς φάσης μέχρι ολοκλήρωσης της διάχυσης του διαλύτη και συσσωμάτωσης του πολυμερούς [94]. Στη συνέχεια ακολουθεί η διαδικασία της εξάτμισης του οργανικού διαλύτη καθώς και των υπόλοιπων φυσικών διεργασιών για την απομόνωση των σωματιδίων [78] [91].



Σχήμα 3.7. Τεχνική αυθόρμητης γαλακτωματοποίησης και διεργασίες παραλαβής πολυμερικών σωματιδίων

Η τεχνική της νανοκαταβύθισης οδηγεί συνήθως σε σχηματισμό νανοσφαιρών, ωστόσο δύναται να σχηματιστούν νανοκάψουλες αν μικρός όγκος μη τοξικού ελαίου εισαχθεί στην οργανική φάση όπως και στην περίπτωση της γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης του διαλύτη [83] [91]. Επομένως, τόσο η αυθόρμητη γαλακτωματοποίηση όσο και η τεχνική γαλακτωματοποίησης εξάτμισης του διαλύτη δύναται να χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή πολυμερικών νανοσωματιδίων. Ένα σημαντικό πλεονέκτημα της τεχνικής αυθόρμητης γαλακτωματοποίησης είναι ότι δεν χρησιμοποιεί πηγή ενέργειας (π.χ υπέρηχοι, ομογενοποιητές υψηλής ταχύτητας κ.α) για το σχηματισμό του γαλακτώματος το οποίο τελικά σχηματίζεται αυθόρμητα εξαιτίας της ταχείας διάχυσης του αναμειξίμου με την υδατική φάση διαλύτη. Τέλος, η τεχνική της νανοκαταβύθισης είναι ιδανική επιλογή για τον εγκλεισμό υδρόφοβων ενώσεων, ωστόσο δεν παρουσιάζει την ίδια ικανότητα εγκλεισμού υδρόφιλων ενώσεων εξαιτίας της ταχείας διάχυσης της προς εγκλεισμό δραστικής ένωσης προς τη συνεχή υδατική φάση, οπότε η δεδομένη τεχνική αποφεύγεται [78].

ε. Παράγοντες διεργασίας

Τα συστήματα των προαναφερθέντων τεχνικών παραγωγής πολυμερικών σωματιδίων είναι πολυπαραμετρικά και ανάλογα με τις ρυθμίσεις κάθε συστήματος μεταβάλλονται τα χαρακτηριστικά των παραγόμενων σωματιδίων όπως το μέγεθος και η απόδοση του εγκλεισμού. Εξαιτίας των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών κάθε συστήματος δεν υπάρχει άριστη ρύθμιση παραμέτρων η οποία να αντιστοιχίζεται σε κάθε περίπτωση. Ωστόσο, καταγράφονται γενικές συμπεριφορές της επίδρασης ορισμένων κρίσιμων παραμέτρων της τεχνικής γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης του διαλύτη στο μέγεθος των σωματιδίων και στην απόδοση του εγκλεισμού τις οποίες συνοψίζει ποιοτικά ο Πίνακας 3.1 [84] [92] [93] [95] [96] [97].

Πίνακας 3.1. Επίδραση κρίσιμων παραμέτρων τεχνικής γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης του διαλύτη στο μέγεθος των σωματιδίων και στην απόδοση του εγκλεισμού

Παράμετρος	Μέγεθος	Απόδοση Εγκλεισμού	Φυσιολογική αιτιολόγηση συμπεριφοράς
M.B Πολυμερούς ή/και % w/v πολυμερούς	↑	↑	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ του M.B → ↑ του ιξώδους της Ο φάσης → δυσκολότερη διάσπαση των Ο σταγονιδίων → ↑ μεγέθους μικκυλίων και άρα των σωματιδίων • ↑ του M.B → ↑ του ιξώδους της Ο φάσης → δυσκολότερη διάχυση ενεργών συστατικών από Ο προς W φάση → ↑ της απόδοσης εγκλεισμού (A.E) • ↑ % πολυμερούς στην Ο φάση → ↓ ποσότητας διαλύτη προς εξάτμιση ή ισοδύναμα ↑ πολυμερούς → ταχύτερη στερεοποίηση σωματιδίων → ↑ A.E
% w/v σταθεροποιητή	↓	↑	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ % σταθεροποιητή στην W φάση → ↓ πιθανότητας συγκόλλησης των Ο σταγονιδίων → ↓ μεγέθους σωματιδίων • ↑ % σταθεροποιητή στην W φάση → ↑ του ιξώδους της W φάσης → ↑ των διατμητικών τάσεων → ↓ μεγέθους Ο σταγονιδίων και άρα των σωματιδίων • ↑ % σταθεροποιητή στην W φάση → ταχύτερη στερεοποίηση σωματιδίων → ↑ A.E
Λόγος οργανικής προς υδατική φάση	↓	↓	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ λόγο Ο προς W → ↑ μεταφερόμενης ενέργειας στην Ο φάση → ↓ μεγέθους Ο σταγονιδίων και άρα των σωματιδίων • ↑ λόγο Ο προς W → ↑ ποσότητας εξατμιζόμενου διαλύτη → βραδύτερη στερεοποίηση σωματιδίων → ↓ A.E
Λόγος εγκλειόμενης ουσίας προς πολυμερές (φόρτωση)	↑	↓	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ % φόρτωσης → ↑ η εγκλειόμενη μάζα ουσίας → ↑ μεγέθους σωματιδίων • ↑ % φόρτωσης → ↑ η ποσότητα της εγκλειόμενης ουσίας → ↑ το δυναμικό διάχυσης της ουσίας από την Ο φάση προς την W φάση → ↓ A.E
Χρόνος υπερήχησης ή ομογενοποίησης	↓	↓ / ↑	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ χρόνου → ↑ της μεταφερόμενης ισχύος στην Ο φάση → ↓ μεγέθους Ο σταγονιδίων και άρα των σωματιδίων • ↑ χρόνου → ↑ της μεταφερόμενης ισχύος και της τύρβης του μίγματος → είτε ταχύτερη και αποτελεσματικότερη σταθεροποίηση των σωματιδίων (↑ A.E) είτε απώλειες της δραστικής ουσίας στην υδατική φάση λόγω της μεγάλης διάρκειας έντονης ανάμιξης (↓ A.E)
Ένταση υπερήχησης ή ομογενοποίησης	↓	↓ / ↑	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ έντασης → ↑ της μεταφερόμενης ισχύος στην Ο φάση → ↓ μεγέθους Ο σταγονιδίων και άρα των σωματιδίων • ↑ έντασης → ↑ της μεταφερόμενης ισχύος και της τύρβης του μίγματος → είτε ταχύτερη και αποτελεσματικότερη σταθεροποίηση των σωματιδίων (↑ A.E) είτε απώλειες της δραστικής ουσίας στην υδατική φάση λόγω της έντονης ανάμιξης (↓ A.E) (συσχέτιση με χρόνο υπερήχησης / ομογενοποίησης)
Ρυθμός εξάτμισης	↓ / ↑	↑	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ ρυθμού εξάτμισης → δύνανται να οδηγήσει είτε σε αύξηση του μεγέθους των σωματιδίων είτε σε μείωση. Σημαντική επίδραση από τον οργανικό διαλύτη (σημείο βρασμού, αναμειξιμότητα με συνεχή φάση κ.α) • ↑ ρυθμού εξάτμισης → ↑ του δυναμικού διάχυσης του οργανικού διαλύτη προς τη συνεχή W φάση → ταχύτερη στερεοποίηση σωματιδίων → ↑ A.E ειδικά για υδρόφιλες ουσίες

3.1.3 Βιοδιασπώμενα πολυμερικά συστήματα

I. Ορισμός και αιτίες χρήσης βιοδιασπώμενων πολυμερών

Τα οργανικά πολυμερή αποτελούν μία ιδιαίτερα διαδεδομένη κατηγορία υλικών εξαιτίας του βάρους τους, του κόστους τους, της ευελιξίας τους, της συμβατότητάς τους και άλλων παραγόντων που τα καθιστούν καταλληλότερα υλικά για εφαρμογές εγκλεισμών. Τα πολυμερή που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή μικρο- και νανο- σωματιδίων είναι είτε βιοδιασπώμενα (biodegradable), είτε μη βιοδιασπώμενα.

Βιοδιάσπαση ή βιοαποδόμηση πολυμερών ονομάζεται ένα σύνολο βιολογικών ή μη-βιολογικών διεργασιών που λαμβάνει χώρα στο φυσικό περιβάλλον και οδηγεί σε αλλαγές στη χημική δομή, σε απώλεια μηχανικών και δομικών ιδιοτήτων και τελικά μετατροπή του υλικού σε κοινά φυσικά παραπροϊόντα όπως αέρια (CO₂, N₂), υγρά (συνήθως νερό) και στερεά (ανόργανα άλατα, ενδιάμεσα προϊόντα βιομάζας, χουμικά) [98] [99]. Λεπτομερέστερο υλικό για τους μηχανισμούς βιοδιάσπασης πολυμερών είναι διαθέσιμο στην αναφορά [99]. Τα βιοδιασπώμενα πλαστικά και

πολυμερή δύναται να είναι είτε συνθετικά είτε βιολογικής προέλευσης (βιοπολυμερή). Τα βιοπολυμερή είναι διαθέσιμα σε μεγάλες ποσότητες εξαιτίας του ανανεώσιμου χαρακτήρα τους, ενώ τα συνθετικά βιοδιασπώμενα πολυμερή έχουν πεπερασμένο και μη ανανεώσιμο χαρακτήρα εξαιτίας της πετροχημικής προέλευσής τους [100] [101].

Η επιλογή βιοδιασπώμενων πολυμερών για εφαρμογές εγκλεισμών έναντι των μη-βιοδιασπώμενων πολυμερικών υλικών οφείλεται σε πληθώρα παραγόντων οι οποίοι συνοψίζονται ως εξής:

- υψηλή βιοσυμβατότητα και χαμηλή τοξικότητα βιοδιασπώμενων υλικών ειδικά για τις περιπτώσεις βιολογικών πολυμερών εξαιτίας της φυσικής προέλευσής τους [100] [101],
- δυνατότητα εισαγωγής των υλικών απευθείας στο σώμα (μη-συσσώρευση των βιοδιασπώμενων υλικών στους ανθρώπινους ιστούς) χωρίς την ανάγκη για αφαίρεσή τους χειρουργικά σε επόμενο στάδιο αφού υποβαθμίζονται αυθόρμητα [101], σε αντίθεση με τα μη-βιοδιασπώμενα πολυμερή τα οποία δύναται να συσσωρευτούν σε διάφορους ιστούς με ανεπιθύμητες συνέπειες (π.χ τοπικοί ερεθισμοί) [102],
- δυνατότητα ελέγχου των ρυθμών αποδέσμευσης των ενεργών συστατικών στο επιθυμητό σημείο-στόχος (π.χ ιστός οργανισμού) διατηρώντας τις τιμές συγκέντρωσης της δραστικής ένωσης σε επιθυμητά επίπεδα (π.χ εντός του θεραπευτικού παραθύρου μίας φαρμακευτικής ένωσης) για μεγάλα χρονικά διαστήματα [89] [101],
- φιλικότερο περιβαλλοντικό αποτύπωμα εξαιτίας της μη-συσσώρευσης των υλικών στο περιβάλλον μετά την χρήση τους και της αποδόμησής τους σε φυσικά προϊόντα [100],
- σταδιακός απογαλακτισμός από τα πετροχημικά πολυμερή και μεταβολή ενδιαφέροντος προς τα ανανεώσιμου χαρακτήρα βιοπολυμερή.

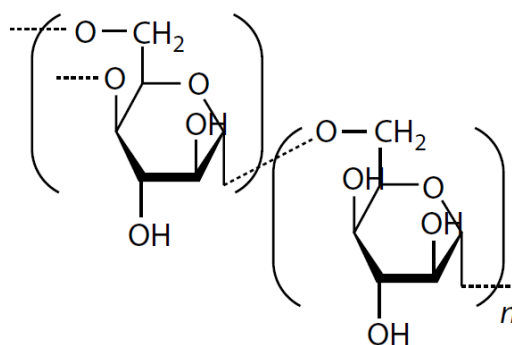
II. Κριτήρια επιλογής πολυμερικού φορέα και υποψήφια βιοδιασπώμενα πολυμερή

Η επιλογή του βιοδιασπώμενου πολυμερικού φορέα, όπως και της χρησιμοποιούμενης τεχνικής εγκλεισμού, βασίζεται σε διάφορα κριτήρια του σχεδιασμού και εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το είδος της τελικής εφαρμογής. Ορισμένοι παράγοντες που επηρεάζουν την επιλογή του βιοδιασπώμενου οργανικού φορέα είναι [82]:

1. το επιθυμητό μέγεθος των τελικών σωματιδίων,
2. οι ιδιότητες της ουσίας προς εγκλεισμό (π.χ διαλυτότητα στο νερό, σταθερότητα κλπ),
3. τα επιφανειακά χαρακτηριστικά και η λειτουργικότητα,
4. ο βαθμός βιοαποδομησιμότητας και βιοσυμβατότητας,
5. το προφίλ αποδέσμευσης της ουσίας στο τελικό προϊόν.

a. Φυσικά πολυμερή

Τα εφαρμοζόμενα φυσικά πολυμερή είναι πολυσακχαρίτες ή πρωτεΐνες. Οι πολυσακχαρίτες είναι ένα από τα ευρύτερα ευρισκόμενα πολυμερή με ποικιλίες δομών. Έχουν διερευνηθεί εκτεταμένα για την εφαρμογή τους ως πολυμερικοί φορείς σε βιοδιασπώμενα νανοσωματίδια [89] [101]. Ορισμένοι από τις πιο δημοφιλείς πολυσακχαρίτες για αυτές τις εφαρμογές είναι η κυτταρίνη (cellulose), η χιτίνη (chitin), η χιτοζάνη (chitosan), η δεξτράνη (dextran) και το αλγινικό (alginate) [101] [89]. Η παρασκευή των βιοδιασπώμενων νανοσωματιδίων πραγματοποιείται συνήθως μέσω σταυροσύνδεσης των γραμμική πολυσακχαριτών που προαναφέρθηκαν όπως επίσης και με συν-ενσωμάτωση ή τροποποίηση άλλων πολυμερών (π.χ συνθετικών) μέσω ομοιοπολικών δεσμών [89]. Όσον αφορά τις πρωτεΐνες, η αλβουμίνη (albumin) και το κολλαγόνο (collagen), συνήθως με την υδρολυμένη μορφή του (ζελατίνη), αποτελούν τις πιο συνήθεις περιπτώσεις φυσικών πρωτεϊνικών υλικών για βιοεφαρμογές [81] [89]. Οι μέθοδοι σχηματισμού πρωτεϊνικών νανοσωματιδίων ποικίλουν, ωστόσο επιτυχημένες κρίνονται κατάλληλη τροποποιημένες τεχνικές που βασίζονται σε ήδη υπάρχουσες μεθόδους παραλαβής πρωτεϊνικών σκονών (powders), όπως π.χ η ξήρανση με εκνέφωση (spray-drying) και η λυοφιλοποίηση (lyophilization) [89].



Σχήμα 3.8. Δομική μονάδα του φυσικού πολυμερούς της δεξτράνης

b. Συνθετικά/προπαρασκευασμένα πολυμερή

Τα προπαρασκευασμένα πολυμερή είναι συνήθως εμπορικοί πολυεστέρες, πολυανυδρίτες και πολυακρυλικά (polyacrylates) [82] [89]. Χαρακτηριστικοί αντιπρόσωποι της οικογένειας των πολυεστέρων αποτελούν το πολυ(γαλακτικό οξύ) (PLA), το πολυ(γλυκολικό οξύ) (PGA), το συμπολυμερές τους πολυ(γαλακτικό-συν-γλυκολικό οξύ) (PLGA), η πολυ(καπρολακτόνη) (PCL) και το πολυ(β-υδροξυβουτυρικό) (PHB) [89] [91]. Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι πολυανυδρίτες βασίζονται στο σεβακικό οξύ, το *p*-(καρβοξυφαινοξυ) προπάνιο και το *p*-(καρβοξυφαινοξυ) εξάνιο [77] [101]. Τέλος, τα πιο συνηθισμένα πολυακρυλικά πολυμερή για χρήση ως φορείς σε εγκλεισμούς ιατροφαρμακευτικών εφαρμογών αποτελούν το πολυ(2-υδροξυ-αιθυλ μεθακρυλικό) (pHEMA) και τα πολυ(κυανοακρυλικά) (PCA) (π.χ τα πολυ(αλκυλ κυανοακρυλικά) ή PACA) [89] [91] [103]. Ο Πίνακας 3.2 καταγράφει τις δομικές μονάδες των ευρύτερα χρησιμοποιούμενων προπαρασκευασμένων πολυμερών.

Πίνακας 3.2. Δομικές μονάδες διαδεδομένων προπαρασκευασμένων πολυμερών για χρήση ως φορείς σε πολυμερικά μικρο- και νανο- σωματίδια

Πολυμερές	Δομική Μονάδα
πολυ(γαλακτικό οξύ) (PLA)	$\left[\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} - \text{C} - \text{O} \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} \right]_n$
πολυ(γλυκολικό οξύ) (PGA)	$\left[\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} - \text{C} - \text{O} \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{H} \end{array} \right]_n$
πολυ(γαλακτικό-συν-γλυκολικό οξύ) (PLGA)	$\left[\left(\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} - \text{C} - \text{O} \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} \right)_x \left(\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} - \text{C} - \text{O} \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{H} \end{array} \right)_y \right]_n$
πολυ(καπρολακτόνη) (PCL)	$\left[\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} - (\text{CH}_2)_5 - \text{O} \end{array} \right]_n$
πολυ(β-υδροξυ-βουτυρικό) (PHB)	$\left[\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{O} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} \right]_n$
πολυανυδρίτες	$\left[\begin{array}{c} \text{O} \quad \quad \text{O} \\ \parallel \quad \quad \parallel \\ \text{C} - \text{R} - \text{C} - \text{O} \end{array} \right]_n$
πολυ(αλκυλ κυανοακρυλικά) (PACA)	$\left[\begin{array}{c} \text{CN} \\ \\ \text{H}_2\text{C} - \text{C} - \\ \\ \text{O} = \text{C} \\ \\ \text{O} - \text{R} \end{array} \right]_n$

III. Η περίπτωση του πολυ(γαλακτικού οξέος) (PLA)

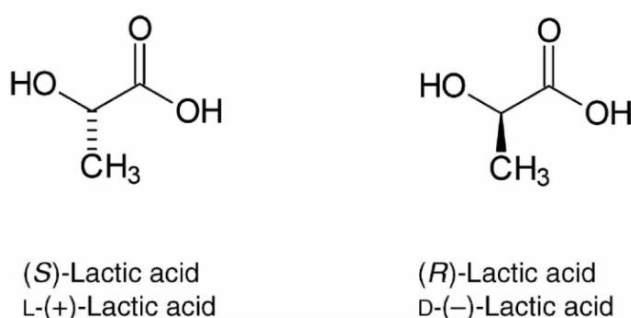
a. Εφαρμογές και ιστορικά στοιχεία

Το πολυ(γαλακτικό οξύ) (poly-lactic acid ή PLA) είναι ένα από τα ευρύτερα χρησιμοποιούμενα πολυμερή για βιοϊατρικές εφαρμογές (π.χ οδοντιατρική, ορθοπεδική, ελεγχόμενη χορήγηση φαρμάκων) [84]. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι είναι βιοαπορροφήσιμο και βιοσυμβατό υλικό, μη-τοξικό και με καλά χαρακτηριστικά βιοαποδομησιμότητας [84]. Οι εφαρμογές του δεν περιορίζονται εκεί, αλλά επεκτείνονται στον τομέα της συσκευασίας, περιβαλλοντικές εφαρμογές, ηλεκτρικές συσκευές, ως υλικό για τμήματα αυτοκινήτων, υφάσματα κ.α [104].

Το PLA παρήχθη χημικά το 1932 από τον Wallace Carothers μέσω πολυμερισμού λακτιδίων [104]. Παρά το γεγονός ότι το PLA ήταν γνωστό από τη δεκαετία του 30', οι εφαρμογές του περιορίζονταν στον βιοϊατρικό τομέα εξαιτίας του υψηλού κόστους παραγωγής του και του χαμηλού μοριακού βάρους του [104]. Σημαντική εξέλιξη για την μετατροπή του PLA από υλικό εξειδικευμένων εφαρμογών σε ευρείας κλίμακας παραγόμενο θερμοπλαστικό έλαβε χώρα στις αρχές της δεκαετίας του 90' όταν η Cargil Inc. ανακάλυψε μία διεργασία παραγωγής υψηλού μοριακού βάρους PLA μέσω διάνοιξης λακτιδικών δακτυλίων [104]. Το PLA αποτελεί τον πιο μελετημένο και εφαρμοσμένο βιοδιασπώμενο θερμοπλαστικό πολυεστέρα [105].

b. Δομικά στοιχεία

Το PLA είναι ένα άμορφο ή ημικρυσταλλικό θερμοπλαστικό με δομική μονάδα το γαλακτικό οξύ στις δύο οπτικά ισομερείς μορφές του L- και D-. Επομένως, τα αντίστοιχα παραγόμενα πολυμερή είναι το PLLA και το PDLA. Η αναλογία και η κατανομή των L- και D- εναντιομερών επηρεάζει τα χαρακτηριστικά του παραγόμενου πολυμερούς όπως την ικανότητα μορφοποίησης, την κρυσταλλικότητα και τη συμπεριφορά αποδόμησης του υλικού [104] [106]. Εν γένει, η παρουσία του L- ισομερούς αυξάνει το σημείο τήξης και την ικανότητα κρυστάλλωσης του πολυμερούς [104].



Σχήμα 3.9. Οπτικά ισομερείς μορφές του γαλακτικού οξέος: (S)- ή L και (R)- ή D

Στην πραγματικότητα όλες οι διεργασίες παραγωγής του PLA έχουν ως αρχικό δομικό υλικό τις ισομερείς μορφές του γαλακτικού οξέος, ωστόσο ανάλογα με τη παραγωγική διαδικασία που ακολουθείται δύναται να αλλάξει το αντιδρόν όπως στην περίπτωση του διαδεδομένου εμπορικά πολυμερισμού διάνοιξης δακτυλίου (ring-opening polymerization ή ROP) των λακτιδίων (κυκλικά διμερή) οπότε το

παραγόμενο προϊόν είναι το πολυ(λακτίδιο) [106]. Ωστόσο, τόσο το πολυ(λακτίδιο) όσο και το πολυ(γαλακτικό οξύ) αναφέρονται με τον όρο PLA [106]. Περισσότερα στοιχεία για τη δομή και τις διεργασίες παραγωγής του PLA είναι διαθέσιμες στα [104] και [106].

c. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα

Τα πλεονεκτήματα του PLA έναντι τρίτων πολυμερών, βιοδιασπώμενων ή μη βιοδιασπώμενων, είναι [98] [105] [107]:

- Οικολογικός χαρακτήρας: εκτός του γεγονότος ότι η δομική του μονάδα είναι βιολογικής προέλευσης, το PLA είναι βιοδιασπώμενο, ανακυκλώσιμο και κομποστοποιήσιμο. Επιπλέον, η δομική μονάδα του παράγεται εμμέσως με χρήση του CO₂ της ατμόσφαιρας. Επομένως, παρουσιάζει στοιχεία αειφορίας τα οποία το καθιστούν ελκυστικό υποψήφιο υλικό.
- Βιοσυμβατότητα: η βιοσυμβατότητα του PLA αποτελεί το κύριο χαρακτηριστικό του που το καθιστά ένα από τα πιο διαδεδομένα υλικά για βιοϊατρικές εφαρμογές. Τα προϊόντα αποδόμησης του PLA είναι μη τοξικά και δεν παρουσιάζουν συνήθως επιπλοκές με το ανθρώπινο σώμα.
- Δυνατότητα επεξεργασίας: το PLA παρουσιάζει καλύτερα χαρακτηριστικά θερμικής επεξεργασίας συγκριτικά με άλλα ανταγωνιστικά βιοπολυμερή όπως η πολυ(αιθυλενογλυκόλη) (PEG) και η πολυ(καπρολακτόνη) (PCL), ενώ διαθέτει σε ευρύτερο πλαίσιο τα χαρακτηριστικά για τροποποίηση των ιδιοτήτων του ανάλογα με τις απαιτήσεις της εφαρμογής
- Μη ενεργοβόρες παραγωγικές διαδικασίες: το PLA απαιτεί από 25 έως και 55% λιγότερη ενέργεια για την παραγωγή του συγκριτικά με τα πετροχημικής προέλευσης πολυμερή με προοπτικές περαιτέρω μείωσης αυτού του ποσοστού μελλοντικά έως και λιγότερο από 10%.

Από την άλλη μεριά, το PLA υστερεί έναντι τρίτων πολυμερών στα εξής σημεία [105]:

- Χαμηλή ανθεκτικότητα: το PLA είναι ένα ψαθυρό υλικό, εξαιτίας του υψηλού σημείου υαλώδους μετάπτωσης ($T_g \cong 50 - 60 \text{ }^\circ\text{C}$) με μόλις 10% επιμήκυνση πριν τη θραύση του. Παρά το γεγονός ότι η αντοχή σε εφελκυσμό και το μέτρο ελαστικότητας του υλικού είναι συγκρίσιμο με του PET, η ψαθυρότητά του δεν του επιτρέπει μορφοποίηση και εφαρμογή σε περιβάλλον υψηλών τάσεων,
- Αργός ρυθμός αποδόμησης: το PLA υφίσταται σταδιακή υδρόλυση των εστερικών του δεσμών. Ο ρυθμός αποδόμησης εξαρτάται σημαντικά από τα χαρακτηριστικά του PLA (κρυσταλλικότητα, μοριακό βάρος, κατανομή μοριακών βαρών, μορφολογία, ρυθμός διάχυσης νερού κ.α). Ο αργός ρυθμός αποδόμησης δύναται να είναι πλεονέκτημα σε ορισμένες εφαρμογές, ωστόσο για βιοϊατρικά συστήματα αποτελεί συνήθως μη αμελητέο μειονέκτημα.

- Υδροφοβικότητα: το PLA είναι σχετικά υδρόφοβο οπότε δύναται να οδηγήσει σε φλεγμονώδεις αντιδράσεις σε ορισμένα βιολογικά συστήματα.
- Απουσία δραστικών πλευρικών ομάδων στο σκελετό του: το PLA είναι χημικώς αδρανές οπότε δεν ευνοεί περαιτέρω μορφοποιήσεις του.

3.1.4 Φυσικοχημικές ιδιότητες και χαρακτηρισμός σωματιδίων

Ο εγκλεισμός δραστικών ενώσεων σε πολυμερικούς φορείς οδηγεί στο σχηματισμό ποικίλων σωματιδίων ως προς τις ιδιότητες τους ανάλογα με το σύστημα παραγωγής τους (πρώτες ύλες, μέθοδος παραγωγής κ.α). Οι βασικότερες φυσικοχημικές ιδιότητες των παραγόμενων σωματιδίων είναι το μέγεθός και η κατανομή μεγεθών τους, το ζ-δυναμικό τους και η μορφολογία τους. Τα παραπάνω χαρακτηριστικά καθορίζουν την ικανότητα χρησιμοποίησης των παραγόμενων σωματιδίων σε εξειδικευμένες εφαρμογές όπως για παράδειγμα αν το μέγεθος των σωματιδίων είναι αρκετά μικρό ώστε να διέρχεται εντός κυτταρικών δομών.

I. Μέγεθος και Δείκτης Πολυδιασποράς (PDI)

Κάθε εφαρμογή παρουσιάζει διαφορετικές απαιτήσεις μεγέθους σωματιδίων επομένως δεν υφίσταται κανόνας άριστου μεγέθους. Οι ιατροφαρμακευτικές εφαρμογές έχουν συνήθως αυστηρότερες προϋποθέσεις συγκριτικά με άλλες εφαρμογές εξαιτίας του απαιτητικού περιβάλλοντος εφαρμογής των σωματιδίων. Στις περισσότερες περιπτώσεις μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει ο δείκτης πολυδιασποράς ή PDI (polydispersity index) παρά το μέγεθος των σωματιδίων. Ο PDI είναι ένα στατιστικό μέγεθος το οποίο αντιπροσωπεύει το μέτρο της ομοιογένειας ή ετερογένειας του μεγέθους των σωματιδίων και λαμβάνει τιμές από 0 (πλήρης ομοιογένεια, μονοδιάσπαρτα σωματίδια) έως 1 (πλήρης ανομοιογένεια, πολυδιάσπαρτα σωματίδια). Ο PDI υπολογίζεται από την (3.1) [108]:

$$PDI = \frac{(\sigma)^2}{d} \quad (3.1)$$

όπου:

σ : η τυπική απόκλιση και

d : η μέση διάμετρος των σωματιδίων.

Επομένως, όσο ο PDI τείνει προς τη μονάδα τόσο αυξάνεται η ανομοιογένεια των σωματιδίων ως προς το μέγεθος, άρα αυξάνεται η πιθανότητα να φέρουν διαφορετικό φορτίο δραστικής ουσίας και να παρουσιάζουν ανομοιογένεια ως προς τα χαρακτηριστικά αποδέσμευσης της εγκλεισμένης ένωσης.

Το μέγεθος των σωματιδίων επηρεάζει τη συμπεριφορά του υλικού σε μεγάλο βαθμό. Τα νανοσωματίδια, αν θεωρηθούν σφαιρικά, παρουσιάζουν μεγαλύτερους λόγους επιφάνειας ($SA = 4\pi r^2$) προς όγκο ($V = 4/3\pi r^3$) συγκριτικά με τα σφαιρικά μικροσωματίδια εξαιτίας της ελαττωμένης ακτίνας τους [109] [110]. Το παραπάνω

γεγονός επηρεάζει σημαντικά τη φύση και τη συμπεριφορά των σωματιδίων, όπως η ικανότητα εγκλεισμού της δραστικής ένωσης, ο ρυθμός απελευθέρωσης/διάχυσης των εγκλεισμένων συστατικών, τα επιφανειακά χαρακτηριστικά τους (π.χ συχνότερη προσρόφηση δραστικών ουσιών στην επιφάνεια όσο ελαττώνεται το μέγεθος) και η φυσικοχημική σταθερότητά τους (π.χ ρυθμός ενυδάτωσης, τάση συσσωμάτωσής τους) κ.α [85] [109] [110]. Επομένως, η εφαρμογή αποτελεί το σημαντικότερο παράγοντα καθορισμού του εύρους μεγεθών που πρέπει να λάβουν τα σωματίδια.

Οι κυριότερες τεχνικές προσδιορισμού του μεγέθους των σωματιδίων είναι [91]:

1. η δυναμική σκέδαση φωτός (Dynamic Light Scattering ή DLS),
2. η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (Scanning Electron Microscopy ή SEM),
3. η ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης (Transmission Electron Microscopy ή TEM).

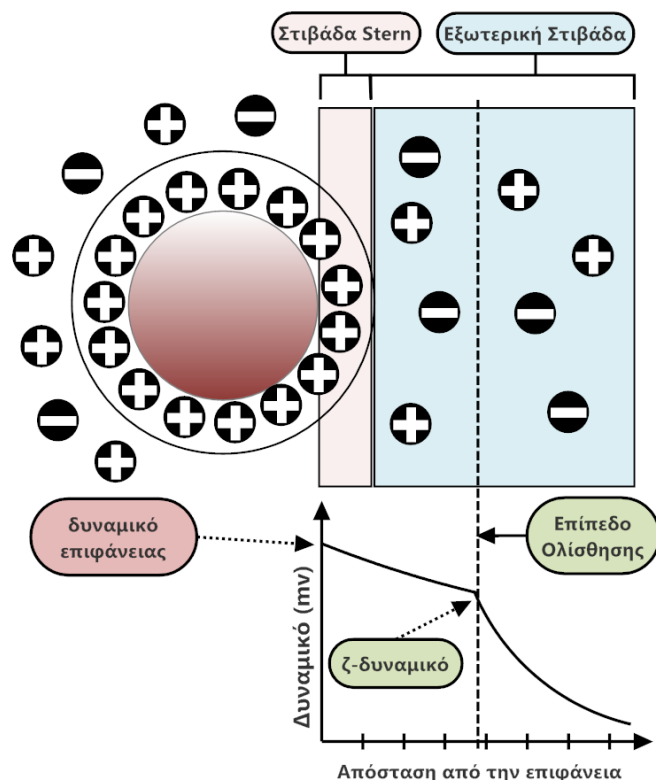
Η δυναμική σκέδαση φωτός, γνωστή και ως φασματοσκοπία συσχέτισης φωτονίων (Photon Correlation Spectroscopy ή PCS) ή ψευδο-ελαστική σκέδαση φωτός (Quasi-Elastic Light Scattering ή QELS), είναι μία μη-επεμβατική, σύντομης διάρκειας, σχετικά οικονομική και εύκολη στην πραγματοποίηση μέθοδος προσδιορισμού σωματιδιακών μεγεθών και κατανομών μεγεθών [91] [111] [112]. Η αρχή λειτουργίας της μεθόδου βασίζεται στον υπολογισμό του συντελεστή διάχυσης των σωματιδιακών δομών μέσω της φωτοβόλησης του δείγματος με μονοχρωματική ακτινοβολία (laser) και της καταγραφής των διακυμάνσεων της έντασης του σκεδαζόμενου φωτός εξαιτίας των τυχαίων κινήσεων Brown των σωματιδίων της [91] [111] [112]. Ο συντελεστής διάχυσης συσχετίζεται μέσω της εξίσωσης Stokes-Einstein με την υδροδυναμική διάμετρο των σωματιδιακών δομών, οπότε πέρα από το πραγματικό μέγεθος των σωματιδίων λαμβάνεται υπόψη και η στιβάδα επιδιалύτωσης (solvatation) / ενυδάτωσης (hydration) της επιφάνειάς τους [91] [111]. Επομένως, η υδροδυναμική διάμετρος μεταβάλλεται ενδεχομένως ανάλογα με τη συγκέντρωση των σωματιδίων στη διασπορά, καθώς και τη συγκέντρωση και τον τύπο των ιόντων του μέσου διασποράς [91]. Η δυναμική σκέδαση φωτός δεν πληροφορεί το χρήστη για τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των σωματιδίων αφού δεν προβάλλει οπτικά αποτελέσματα αλλά στατιστικά νούμερα μεγεθών.

Από την άλλη μεριά, η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) και διέλευσης (TEM) είναι δύο τεχνικές με οπτικό αποτέλεσμα οπότε με αμεσότερο χαρακτήρα. Τα μεγέθη των σωματιδίων και οι κατανομές μεγεθών είναι διαφορετικές συνήθως συγκριτικά με τις προσδιοριζόμενες τιμές από τη δυναμική σκέδαση φωτός εξαιτίας της υδροδυναμικής στιβάδας των σωματιδίων. Σε αντίθεση με τη δυναμική σκέδαση φωτός, η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης είναι επεμβατική μέθοδος και απαιτεί αρχικά την εναπόθεση του δείγματος σε ξηρή μορφή, είτε μετά από λυοφιλοποίηση του δείγματος είτε μετά από συμβατική ή υπό κενό ξήρανση της διασποράς, σε αγωγίμη ανθρακική ή μεταλλική ταινία-βάση [89] [91]. Στη συνέχεια το δείγμα επιμεταλλώνεται συνήθως με μία λεπτή επίστρωση αγωγίμου μετάλλου και είναι

έτοιμο προς παρατήρηση [91]. Όσον αφορά την ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης, οι διασπορές εναποτίθενται είτε απευθείας σε ένα χάλκινο πλέγμα είτε επεξεργάζονται με αρνητική χρώση (π.χ με οξικό ουρανύλιο του φωσφοβολφραμικού οξέος) για βελτίωση του οπτικού αποτελέσματος και στη συνέχεια εναποτίθενται στο πλέγμα [91]. Η ποσοτική ανάλυση του μεγέθους των σωματιδίων δύναται να πραγματοποιηθεί με χρήση ειδικών λογισμικών [89].

II. Z – δυναμικό

Τα στερεά σωματίδια σε ένα υγρό μέσο διασποράς είναι θετικά ή αρνητικά φορτισμένα ανάλογα με το πρόσημο του φορτίου των ομάδων που αποτελούν το σωματίδιο και των προσροφημένων ιόντων από το μέσο διασποράς. Ανάλογα με το φορτίο των σωματιδίων παρατηρείται αυξημένη συγκέντρωση αντίθετα φορτισμένων ιόντων του μέσου διασποράς κοντά στην επιφάνεια των σωματιδίων. Οι υγρές στιβάδες οι οποίες περιβάλλουν το σωματίδιο είναι δύο: η εσωτερική στιβάδα, γνωστή και ως στιβάδα Stern, και η εξωτερική στιβάδα ή στιβάδα διάχυσης [113] [114]. Στη στιβάδα Stern, τα αντίθετα φορτισμένα ιόντα είναι ισχυρά δεσμευμένα πάνω στην επιφάνεια του σωματιδίου [113] [114]. Η εξωτερική στιβάδα φέρει ιόντα θετικά ή αρνητικά φορτισμένα τα οποία δέχονται έλξεις ή απώσεις από το επιφανειακό φορτίο των σωματιδίων [113] [114]. Επομένως, κάθε σωματίδιο περιβάλλεται από μία ηλεκτρική διπλοστιβάδα [113] [114].

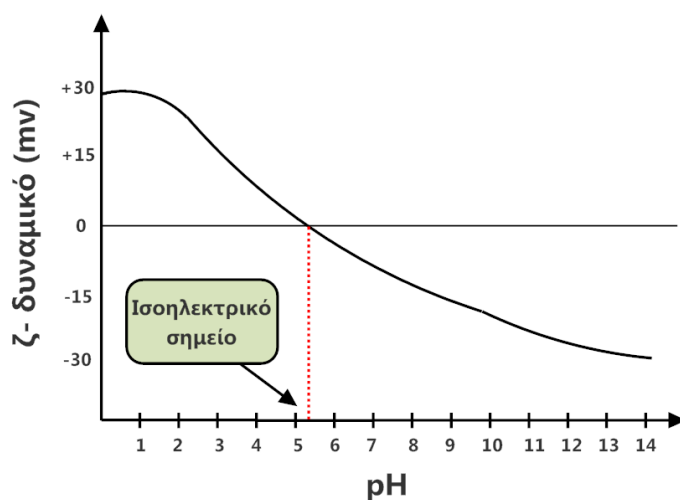


Σχήμα 3.10. Μοντέλο διπλοστιβάδας και απεικόνιση ζ-δυναμικού

Εντός της εξωτερικής στιβάδας υπάρχει ένα θεωρητικό σύνορο εντός του οποίου ιόντα και σωματίδια σχηματίζουν μία ενιαία οντότητα [113] [114]. Αυτό σημαίνει ότι

όταν ένα σωματίδιο κινείται εξαιτίας κάποιας εξωτερικής δύναμης (π.χ βαρύτητα) και ένα ιόν βρίσκεται στην ενδιάμεση ζώνη μεταξύ επιφάνειας σωματιδίου και θεωρητικού συνόρου, τότε το ιόν ακολουθεί την κίνηση του σωματιδίου. Αντίθετα, αν το ιόν βρίσκεται εκτός της ζώνης τότε δεν κινείται μαζί με το σωματίδιο. Αυτό το θεωρητικό σύνορο ονομάζεται επίπεδο ολίσθησης (slipping plane) ή επιφάνεια υδροδυναμικής διάτμησης (surface of hydrodynamic shear) [113] [114]. Το δυναμικό στο επίπεδο ολίσθησης ονομάζεται ζ-δυναμικό (Σχήμα 3.10) [114].

Το μέτρο του ζ-δυναμικού αποτελεί μία ένδειξη της σταθερότητας του κολλοειδούς συστήματος σωματιδίων-υγρού μέσου διασποράς. Όσο αυξάνεται το ζ-δυναμικό μίας διασποράς κατά απόλυτη τιμή τόσο μεγαλύτερες είναι οι απώσεις μεταξύ των σωματιδίων οπότε ελαττώνεται η τάση για κροκίδωσή τους. Ωστόσο, αν το ζ-δυναμικό είναι χαμηλό κατά απόλυτη τιμή τότε δεν υπάρχει ικανή δύναμη αποφυγής της συσσωμάτωσης αφού οι έλξεις μεταξύ των σωματιδίων είναι ισχυρότερες από τις απώσεις. Η γενική διαχωριστική τιμή η οποία διακρίνει τις διασπορές σε σταθερές και ασταθείς είναι συνήθως τα ± 30 mV [114]. Επομένως, διασπορές με ζ-δυναμικά μεγαλύτερα από +30 mV ή μικρότερα από -30 mV θεωρούνται σταθερές. Το κυριότερο μέγεθος που επηρεάζει τις τιμές ζ-δυναμικών είναι το pH, αφού μεταβάλλει σημαντικά τη συγκέντρωση ενός συγκεκριμένου είδους φορτίων (π.χ αρνητικά φορτισμένων ιόντων OH^- στην αλκαλική περιοχή) οπότε αυξάνεται η τάση συγκέντρωσης συγκεκριμένου είδους φορτίου στην επιφάνεια των σωματιδίων. Επομένως, όσο ελαττώνεται το pH (περισσότερα H^+) τόσο αυξάνεται το ζ-δυναμικό ή αντίστροφα όσο μεταφέρεται το pH της διασποράς προς την αλκαλική περιοχή (περισσότερα OH^-) τόσο μειώνεται το ζ-δυναμικό [114]. Το σημείο ελάχιστης σταθερότητας της διασποράς ή ισοηλεκτρικό σημείο (isoelectric point) αντιστοιχίζεται στην τιμή του pH για την οποία το ζ-δυναμικό μηδενίζεται (Σχήμα 3.11) [114]. Περισσότερες πληροφορίες για το ζ-δυναμικό είναι διαθέσιμες στην αναφορά [113].



Σχήμα 3.11. Ποιοτική απεικόνιση καμπύλης ζ-δυναμικού - pH

Το ζ-δυναμικό δύναται να μετρηθεί με καταγραφή της κινητικότητας των σωματιδίων παρουσία ηλεκτρικού πεδίου (ηλεκτροφορητικές μετρήσεις). Η εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου σε έναν ηλεκτρολύτη οδηγεί σε κινητικότητα των

φορτισμένων σωματιδίων προς τα ηλεκτρόδια αντίθετου φορτίου. Η αυθόρμητη κίνηση προς τα αντίθετα φορτία δυσχεραίνεται από τις ιξώδεις δυνάμεις. Όταν οι δυνάμεις εξισορροπηθούν, τότε το σωματίδιο κινείται με σταθερή ταχύτητα [114].

Η ταχύτητα του σωματιδίου σε ένα ηλεκτρικό πεδίο αναφέρεται και ως ηλεκτροφορητική κινητικότητα (electrophoretic mobility) και εξαρτάται από αρκετούς παράγοντες [114]. Η συσχέτιση της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας με αυτούς του παράγοντες πραγματοποιείται μέσω της εξίσωσης Henry (3.2) [113] [114]:

$$U_E = \frac{2 \varepsilon z f(ka)}{3\eta} \quad (3.2)$$

όπου:

U_E : η ηλεκτροφορητική κινητικότητα του σωματιδίου,

ε : η διηλεκτρική σταθερά του μέσου διασποράς,

z : το ζ-δυναμικό του σωματιδίου,

η : το ιξώδες του μέσου διασποράς.

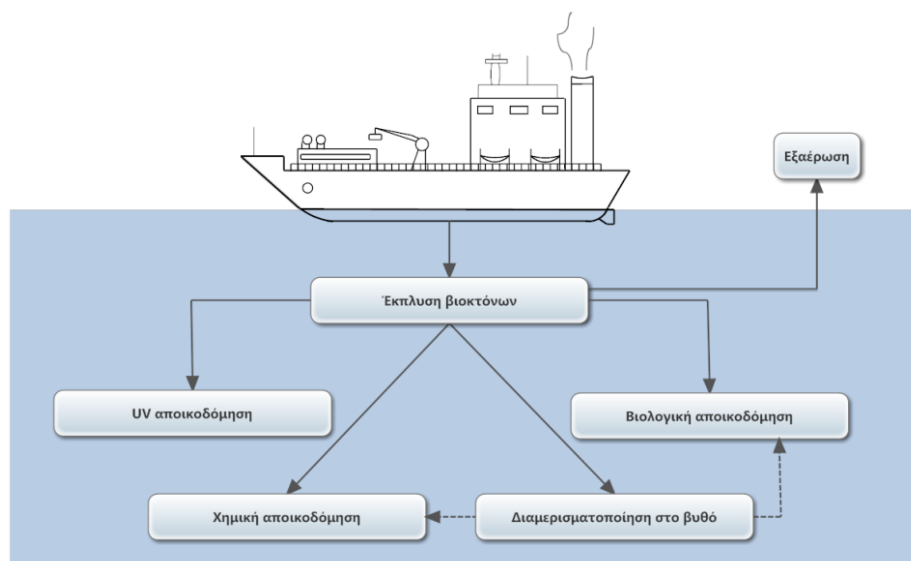
Η $f(ka)$ αποτελεί μία συνάρτηση για την οποία γίνεται η παραδοχή ότι είναι ίση με 1,5 ή 1, οπότε χρησιμοποιούνται οι προσεγγίσεις Smoluchowski και Huckel αντίστοιχα. Η χρησιμοποίηση της προσέγγισης Smoluchowski απαιτεί σωματίδια μεγέθους μεγαλύτερο από 200 nm διεσπαρμένα σε ηλεκτρολύτες που περιέχουν περισσότερα από 10^{-3} mol αλάτων. Η προσέγγιση Smoluchowski εφαρμόζεται συνήθως σε υδατικά διαλύματα, ενώ η προσέγγιση Huckel αφορά μη-υδατικά διαλύματα [114].

III. Μορφολογία

Η απεικόνιση της μορφολογίας των σωματιδίων δίνει πληροφορίες τόσο για το μέγεθός τους όσο και για τα εξωτερικά τους χαρακτηριστικά όπως η παρουσία ρωγμών, το σχήμα τους, πιθανές συσσωματώσεις, το πορώδες τους, την τραχύτητά τους κ.α. Εν γένει η μορφολογία των σωματιδίων διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στα λειτουργικά χαρακτηριστικά των σωματιδίων όπως η αλληλεπίδραση με στερεά ή υγρά περιβάλλοντα. Η πιο διαδεδομένη μέθοδος απεικόνισης των σωματιδίων είναι η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) ή παραλλαγές της όπως η FE-SEM και η E-SEM. Οι τεχνικές προετοιμασίας του δείγματος για SEM περιγράφηκαν στο υποκεφάλαιο I και πιο συγκεκριμένα στη σελίδα 45. Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σαρώνει την επιφάνεια του επεξεργασμένου δείγματος με τη βοήθεια μίας δέσμης ηλεκτρονίων. Τα ηλεκτρόνια αλληλεπιδρούν με τα άτομα του δείγματος παράγοντας ποικίλα σήματα τα οποία ανιχνεύονται, καταγράφονται και μετατρέπονται σε οπτική εικόνα αποκαλύπτοντας πληροφορίες για την τοπογραφία της επιφάνειας του δείγματος και για την ατομική σύστασή του.

3.2 Ενώσεις με αντιβιοεπιστρωτική δράση: αιτίες για τον εγκλεισμό τους

Οι πιο διαδεδομένες εμπορικά τεχνολογίες με αντιβιοεπιστρωτική δράση ανήκουν στην κατηγορία των χημικώς ενεργών επικαλύψεων. Αυτό σημαίνει ότι ο αντιβιοεπιστρωτικός μηχανισμός τους βασίζεται στη χρήση τοξικών ως προς τους οργανισμούς ενώσεων. Οι εφαρμοζόμενες ενώσεις είναι είτε ανόργανες είτε οργανικές οι οποίες σε κάθε περίπτωση καταλήγουν στον υδροφόρο ορίζοντα (Σχήμα 3.12). Η τυχαία διασπορά των βιοκτόνων στις πολυμερικές μήτρες των υφαλοχρωμάτων και η ανάγκη για επαρκή κινητικότητα αυτών ώστε να μεταναστεύουν στην διεπιφάνεια επικάλυψης-οργανισμών αυξάνει την πιθανότητα έκπλυσής (leaching) τους στον νερό πριν προλάβει να αναδειχθεί η αντιβιοεπιστρωτική δράση τους [115]. Επιπλέον, πολλές φορές λαμβάνει χώρα πρόωρη υποβάθμιση των βιοκτόνων εξαιτίας του χημικού περιβάλλοντος της επικάλυψης όπου φιλοξενούνται [116]. Επομένως, προκειμένου να διατηρηθούν οι αντιβιοεπιστρωτικές επιδόσεις της επικάλυψης σε ικανοποιητικά επίπεδα για μεγάλα χρονικά διαστήματα απαιτείται επιπλέον ποσότητα διεσπαρμένων βιοκτόνων από ότι θα χρειαζόταν αν οι ενώσεις δεν εκπλένονταν ή δεν υποβαθμίζονταν πριν τη δράση τους [115] [116].



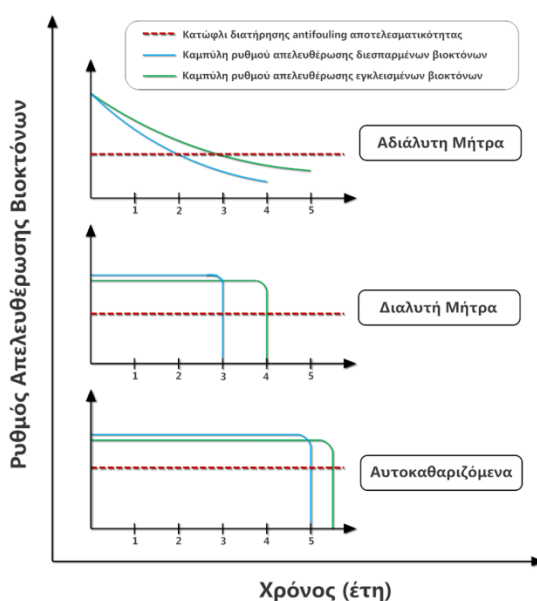
Σχήμα 3.12. Κατάληξη βιοκτόνων μετά την έκπλυσή τους στη θάλασσα. Η ανεξέλεγκτη έκπλυση των βιοκτόνων αποτελεί αντικείμενο περιβαλλοντικού προβληματισμού.

Η πρόωρη έκπλυση αποτελεί πρακτικά ένα πρόβλημα αποδέσμευσης με περιβαλλοντικές (μεγέθυνση των θαλάσσιων ρύπων, κατανάλωση επιπλέον πόρων κ.α) και οικονομικές συνέπειες (κατανάλωση επιπλέον πόρων, έμμεσα με συχνότερες μεταβολές στην αυστηρότητα των κανονισμών περί χρήσης βιοκτόνων, υποβάθμιση των antifouling επιδόσεων κ.α). Μία ιδιαίτερα διαδεδομένη χρησιμοποιούμενη λύση σε προβλήματα αποδέσμευσης αποτελεί ο εγκλεισμός σε κατάλληλους φορείς. Μάλιστα, ο εγκλεισμός αντιμικροβιακών παραγόντων χρησιμοποιείται ήδη από τη βιομηχανία τροφίμων [117].

Ο στόχος του εγκλεισμού αντιμικροβιακών παραγόντων για εφαρμογές τροφίμων εξαρτάται από το σύστημα οπότε μπορεί να εξυπηρετεί [117]:

- τη βελτίωση της συμβατότητας μεταξύ μήτρας τροφίμου και αντιμικροβιακού παράγοντα,
- τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας,
- τον έλεγχο του ρυθμού αποδέσμευσης,
- τη συγκάλυψη δυσάρεστων οσμών,
- την ενίσχυση της ασφάλειας σε θέματα αποθήκευσης, μεταφοράς και χρησιμοποίησης.

Ο εγκλεισμός παραγόντων με αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες για εφαρμογές υφαλοχρωμάτων αποτελεί μία υποσχόμενη διαδικασία για τον έλεγχο και τη βελτίωση του ρυθμού αποδέσμευσης των ενώσεων αποφεύγοντας φαινόμενα πρόωρης έκπλυσής τους (Σχήμα 3.13). Επιπλέον, ο εγκλεισμός φυσικών ή εμπορικών βιοκτόνων ενδεχομένως να λειτουργεί επικουρικά στην αύξηση της διάρκειας ζωής του αναλώσιμου προϊόντος, αφού ένα από τα βασικά πλεονεκτήματα του εγκλεισμού αποτελεί σε ευρύτερο πλαίσιο η προστασία του εσωτερικού περιεχομένου του φορέα από το πιθανώς καταστροφικό για αυτό περιβάλλον (π.χ πρόωρη υδρόλυση βιοκτόνων). Επομένως, ο εγκλεισμός των ενώσεων θα ευνοεί τη διατήρηση των αντιβιοεπιστρωτικών ιδιοτήτων τους για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα, γεγονός ιδιαίτερα χρήσιμο για τα φυσικά αντιβιοεπιστρωτικά προϊόντα τα οποία χάνουν την ενεργότητά τους μετά από λίγους μήνες [73]. Τέλος, η χρησιμοποίηση πολυμερικών φορέων για εγκλεισμό συστατικών με αντιβιοεπιστρωτική δράση δίνει ενδεχομένως τη δυνατότητα ταυτόχρονης εφαρμογής πολλαπλών δραστικών ενώσεων στο ίδιο υφαλόχρωμα σχηματίζοντας τοξικά κοκτέιλ εκτεταμένου εύρους καταπολέμησης οργανισμών τα οποία θα ήταν ασταθή αν τα βιοκτόνα αλληλεπιδρούσαν και ήταν απλώς διεσπαρμένα στο συνδετικό μέσο.

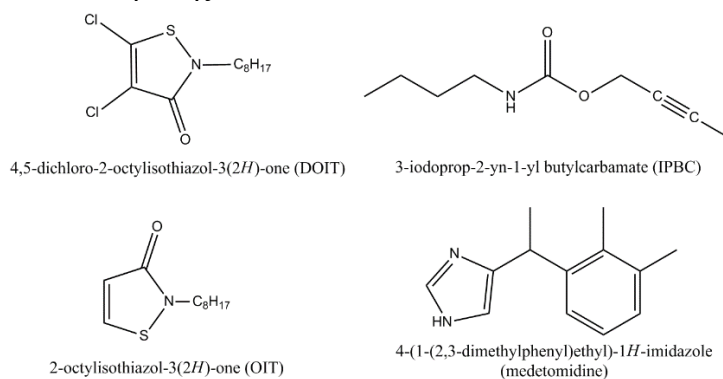


Σχήμα 3.13. Υποθετικός ρυθμός απελευθέρωσης βιοκτόνων πριν και μετά τον εγκλεισμό τους

3.3 Ανασκόπηση εργασιών εγκλεισμού παραγόντων με αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες

Το παρόν υποκεφάλαιο επιχειρεί την καταγραφή ορισμένων ερευνητικών προσπαθειών εγκλεισμού παραγόντων με αντιβιοεπιστρωτική δράση προκειμένου να βελτιωθούν οι ιδιότητες του τελικού παραγόμενου προϊόντος. Το πλήθος των δημοσιεύσεων που καταγράφηκαν και οι ημερομηνίες δημοσίευσής τους οδηγούν στο συμπέρασμα ότι ο εγκλεισμός βιοκτόνων αποτελεί μία υποσχόμενη τεχνική και ένα ανοιχτό ερευνητικό πεδίο με περαιτέρω προοπτικές. Ο Πίνακας 3.3 συνοψίζει όλες τις δημοσιεύσεις που εντοπίστηκαν και οι οποίες αφορούν απόπειρες εγκλεισμού βιοκτόνων για εφαρμογές υφαλοχρωμάτων. Στον ίδιο πίνακα καταγράφονται η μήτρα-φορέας που χρησιμοποιήθηκε, η ουσία που εγκλείστηκε καθώς και η τεχνική που χρησιμοποιήθηκε για την πραγματοποίηση της διαδικασίας του εγκλεισμού.

Κοινός παρανομαστής όλων των δημοσιεύσεων που καταγράφονται αποτελεί η στηλίτευση των προβλημάτων πρόωρης έκπλυσης και αποδόμησης των ενώσεων με τις υπάρχουσες εμπορικές τεχνολογίες. Στο πλαίσιο αυτό, κάθε ερευνητική ομάδα επιχειρεί τον εγκλεισμό μίας ή περισσότερων ενώσεων. Οι εγκλεισμένες ενώσεις είναι κατά βάση εμπορικά ενισχυτικά βιοκτόνα και συνήθως ισοθειαζολινόνες όπως το Sea-Nine 211, γνωστό και ως Kathon 287T ή DCOIT [115] [118] [119] [120]. Επιπλέον, ξεχωρίζουν τρεις περιπτώσεις «φυσικών» προϊόντων προς εγκλεισμό: του φυσικού εκχυλίσματος *Renilla* [121], του θεικού *p*-κουμαρικού οξέος [122] και του ενζύμου οξειδάση της εξόζης [123]. Τέλος, η μοναδική περίπτωση εγκλεισμένης ουσίας με αμιγώς ανόργανο χαρακτήρα αποτελεί ο άργυρος ο οποίος χρησιμοποιείται σε δύο δημοσιεύσεις από την ίδια ερευνητική ομάδα [124] [125] και επιλέγεται εξαιτίας της βιοκτόνου δράσης του [126].



Σχήμα 3.14. Δομές διαδεδομένων εγκλεισμένων βιοκτόνων για εφαρμογές υφαλοχρωμάτων

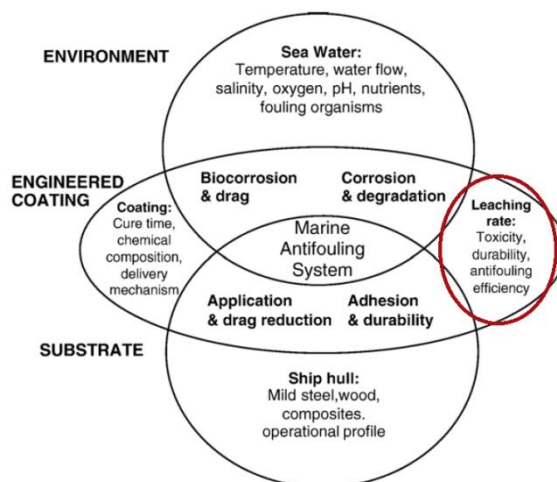
Όσον αφορά τις χρησιμοποιούμενες μήτρες-φορείς, η πλειοψηφία των δημοσιεύσεων χρησιμοποιεί οργανικές πολυμερικές μήτρες, οι οποίες είτε είναι προπαρασκευασμένες είτε παρασκευάζονται/πολυμερίζονται συνδυαστικά με τον εγκλεισμό των ενώσεων. Λιγότερο δημοφιλής επιλογή αποτελούν οι ανόργανοι φορείς με κύριο εκπρόσωπο τη σίλικα. Η ευρύτερα χρησιμοποιούμενη τεχνική εγκλεισμού στις αναγραφόμενες δημοσιεύσεις αποτελεί η τεχνική «γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης διαλύτη».

Πίνακας 3.3. Βιβλιογραφική ανασκόπηση αποπειρών εγκλεισμού παραγόντων με αντιβιοεπιστρωτική δράση για εφαρμογές υφαλοχρωμάτων

Έτος δημοσίευσης	Ερευνητική Ομάδα	Μήτρα-φορέας εγκλεισμένης ουσίας	Εγκλειόμενη ουσία	Τεχνική εγκλεισμού	Πηγή
1992	Price et al.	Μεταλλικοί (χάλκινοι) μικροκύλινδροι	Φυσικό εκχύλισμα <i>Renilla</i>	Εμβάπτιση ξηρής σκόνης μικροκυλίνδρων σε κορεσμένο διάλυμα της ενεργής ουσίας	[121]
2001	Edge et al.	Σίλικα, ζεόλιθοι	Ισοθειαζολινόνες (π.χ ΟΙΤ)	Προσρόφηση των διαλυμένων σε κατάλληλο διαλύτη (κυκλοεξάνιο) βιοκτόνων στις εσωτερικές επιφάνειες του φορέα	[115]
2004	Geiger et al.	Πολυ(στυρένιο) (PS)	Zosteric acid (ΖΑ, θειικό <i>p</i> -κουμαρικό οξύ)	Παραλλαγή της τεχνικής γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης διαλύτη ("In-liquid-drying" διεργασία) (περαιτέρω πληροφορίες στην αναφορά [127])	[122]
2005	Iconomopoulou et al.	"Χάντρες" (beads) πολύ(στυρενίου)-διβινυλοβενζολίου (PS-DVB)	Triclosan, άλας του φωσφονίου (phosphonium salt)	Πολυμερισμός διασποράς	[128]
2007	Zhang et al.	Ακρυλικά συμπολυμερή PMMA-PBA	Sea-Nine 211 (DCOIT)	Πολυμερισμός μινιγαλακτώματος (miniemulsion polymerization) (περισσότερες πληροφορίες στην αναφορά [129])	[118]
2008	Faÿ et al.	Πολυ(γαλακτικό οξύ) (PLA)	Χλωρεξιδίνη	Γαλακτωματοποίηση-εξάτμιση διαλύτη	[130]
2010	Kristensen et al.	Σίλικα	Οξειδάση της εξόζης (HOX, E.C. 1.1.3.5)	Συν-καταβύθιση (co-precipitation)	[123]
2010	Mok	Πολυ(μεθακρυλικός μεθυλεστέρας) (PMMA)	Μεδετομιδίνη, Irgarol 1051, Sea-Nine 211, τολυφλουανίδιο	Γαλακτωματοποίηση-εξάτμιση διαλύτη	[131]
2010	Nordstierna et al.	Πολυ(μεθακρυλικός μεθυλεστέρας) (PMMA)	Μεδετομιδίνη	Γαλακτωματοποίηση-εξάτμιση διαλύτη	[132]
2010	Nordstierna et al.	Πολυ(μεθακρυλικός μεθυλεστέρας) (PMMA)	4-νιτροανισόλη	Γαλακτωματοποίηση-εξάτμιση διαλύτη	[133]
2010	Sørensen et al.	Σίλικα	IPBC	Τροποποιημένη τεχνική γαλακτωματοποίησης (περισσότερα στο [119])	[119]
2011	Hart et al.	Μία ή περισσότερες πολυμερικές στρώσεις (π.χ PVA, φαινολική ρητίνη)	Kathon 287T (DCOIT)	Τροποποιημένη τεχνική γαλακτωματοποίησης για παραγωγή μικροκαμουλών πολλών τοιχωμάτων (περισσότερα στην αναφορά [134])	[134]
2011	Nordstierna et al.	Πολυ(μεθακρυλικός μεθυλεστέρας) (PMMA)	IPBC	Γαλακτωματοποίηση-εξάτμιση διαλύτη	[120]
2011	Szabó et al.	Φυσικό πολυμερές-ουρία	Άργυρος (Ag)	Πολυμερισμός γαλακτώματος	[124]
2011	Wallström et al.	Σίλικα	Zinc pyrithione	Τεχνολογία sol-gel - Σχηματισμός αερογέλης	[135]
2014	Bergek et al.	Πολυ(μεθακρυλικός μεθυλεστέρας) (PMMA)	OIT	Παραλλαγή της τεχνικής γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης διαλύτη (Μέθοδος διαχωρισμού εσωτερικής φάσης)	[136]
2014	Pelto et al.	Μίγματα πολυ(στυρενίου) – πολυ(καπρολακτόνης) (PS/PCL)	IPBC	Γαλακτωματοποίηση-εξάτμιση διαλύτη	[137]
2014	Szabó et al.	Ζελατίνη-ουρία	Άργυρος (Ag)	Πολυμερισμός διασποράς	[125]

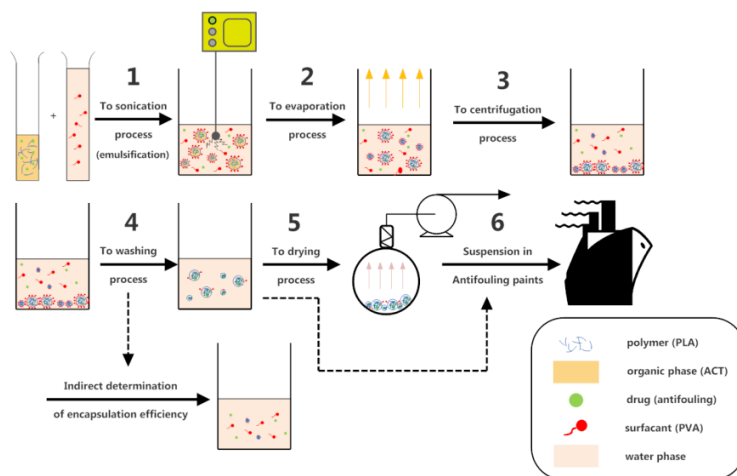
3.4 Σκοπός της διπλωματική εργασίας

Η παρούσα διπλωματική εργασία επιχειρεί τη διερεύνηση της δυνατότητας εγκλεισμού τριών ιδιαίτερα διαδεδομένων εμπορικών ενισχυτικών βιοκτόνων (Irgarol 1051TM, EconeaTM και Zinc Pyrithione) σε έναν ευρέως εφαρμοζόμενο βιοδιασπώμενο πολυμερικό φορέα, το πολυ(γαλακτικό οξύ) ή PLA. Το ευρύτερο αντικείμενο της εργασίας αποτελεί η ενασχόληση με τις επικαλύψεις με αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες και την προκαταρκτική μελέτη της δυνατότητας βελτίωσής τους με τον εγκλεισμό ενώσεων που σχετίζονται με φαινόμενα πρόωρης έκπλυσης. Η σχετικά πρόσφατη δημοσίευση παρόμοιων εργασιών εγκλεισμού κυρίως σε μη βιοδιασπώμενα πολυμερή και οι αυστηρότερες απαγορεύσεις σε ζητήματα εφαρμογής βιοκτόνων καθιστούν το αντικείμενο της εργασίας σύγχρονο, πρακτικό και στοχευμένο λαμβάνοντας υπόψη το πλήθος των σχετικών με τις επικαλύψεις παραμέτρων (Σχήμα 3.15, [17]).



Σχήμα 3.15. Κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν τα συστήματα επικαλύψεων με αντιβιοεπιστρωτική δράση. Οριοθέτηση αντικείμενου διπλωματικής εργασίας [17]

Η πειραματική διαδικασία της διπλωματικής εργασίας συνοψίζεται γραφικά στο Σχήμα 3.16.



Σχήμα 3.16. Πειραματικό αντικείμενο διπλωματικής εργασίας

Τα παραγόμενα νανοσωματίδια εξετάζονται ως προς ορισμένες βασικές φυσικοχημικές ιδιότητές τους, όπως το μέγεθος, η κατανομή μεγεθών τους, το ζ-δυναμικό τους όταν βρίσκονται σε μορφή διασποράς, καθώς και η απόδοση της διεργασίας και του εγκλεισμού των ενώσεων. Οι προαναφερθέντες φυσικοχημικές ιδιότητές τους εξετάστηκαν τόσο πριν όσο και μετά τη διεργασία λυοφιλοποίησης. Επιπλέον, πραγματοποιούνται πειράματα με χρήση των θερμικών εργαλείων DSC και TGA για τη συγκριτική μελέτη των πρώτων υλών των διεργασιών εγκλεισμού και των παραγόμενων σωματιδίων.

Κεφάλαιο 4. Πειραματικό μέρος

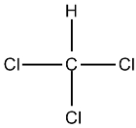
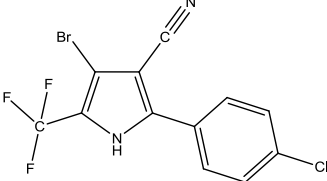
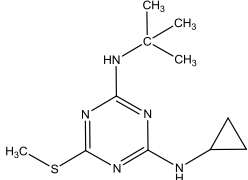
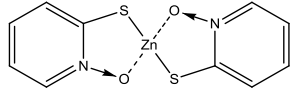
4.1 Χαρακτηρισμός πολυμερών και ενώσεων

Το παρόν υποκεφάλαιο συνοψίζει τις πειραματικές διαδικασίες που ακολουθήθηκαν για το χαρακτηρισμό των υλικών τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των νανοσωματιδίων. Αρχικά, πραγματοποιείται καταγραφή των υλικών που χρησιμοποιήθηκαν κατά τις διαδικασίες χαρακτηρισμού. Στη συνέχεια συνοψίζονται τα όργανα και οι συσκευές που αποτέλεσαν τα πειραματικά εργαλεία και τέλος καταγράφονται οι μέθοδοι χαρακτηρισμού των υλικών παρασκευής των νανοσωματιδίων με εγκλεισμένη ουσία (loaded nanoparticles).

4.1.1 Υλικά

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν κατά τις διαδικασίες χαρακτηρισμού κατηγοριοποιούνται ανάλογα με τη δομή τους σε απλά χημικά αντιδραστήρια και πολυμερικά υλικά. Ο Πίνακας 4.1 καταγράφει τα χημικά αντιδραστήρια που εφαρμόστηκαν στο πειραματικό στάδιο του χαρακτηρισμού των υλικών παρασκευής φορτωμένων νανοσωματιδίων, ενώ ο Πίνακας 4.2 συνοψίζει τα αντίστοιχα πολυμερικά υλικά της πειραματικής διαδικασίας.

Πίνακας 4.1. Χημικά αντιδραστήρια πειραματικής διαδικασίας χαρακτηρισμού πολυμερών και ενώσεων

Αντιδραστήριο	Προμηθευτής	Δομή	Σχόλια
Χλωροφόρμιο (CLF)	Chem-Lab nv (Βέλγιο)		Σταθεροποιημένο με αμυλένιο εργαστηριακής χρήσης, ISO, Ph. Eur.
Econea™ (ECO)	Janssen PMP (Βέλγιο)		Λεπτόκοκκη λευκή σκόνη, ελάχιστης καθαρότητας (χρωματογραφία) 95,0 % w/w
Irgarol 1051™ (IRG)	Ciba (Η.Π.Α)		Λεπτόκοκκη λευκή σκόνη, καθαρότητας από 96,0 % w/w έως 99,0 % w/w
Zinc Pyrithione (ZPT)	Janssen PMP (Βέλγιο)		Λεπτόκοκκη λευκή σκόνη, ελάχιστης καθαρότητας (ποτενσιομετρική τιτλοδότηση) 97,0 % w/w

Οι χλωριωμένοι οργανικοί διαλύτες, όπως το χλωροφόρμιο και διχλωρομεθάνιο, αποτελούν ικανότατους διαλύτες του PLA [104]. Εν προκειμένω, το χλωροφόρμιο

επιλέχθηκε για τη διάλυση του PLA κατά την πειραματική διαδικασία του προσδιορισμού του μέσου-ιξώδους μοριακού βάρους του. Όσον αφορά τα ενισχυτικά βιοκτόνα, Econea, Irgarol και Zinc Pyrithione διερευνήθηκαν ως προς τα θερμικά τους χαρακτηριστικά μέσω DSC και TGA.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε εκτίμηση του μέσου-ιξώδους μοριακού βάρους δύο διαφορετικών ποιοτήτων PLA (4042D και PLI 005) καθώς και μελέτη των θερμικών χαρακτηριστικών τους μέσω διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC) και θερμοβαρυσμικής ανάλυσης (TGA).

Πίνακας 4.2. Πολυμερικά υλικά πειραματικής διαδικασίας χαρακτηρισμού πολυμερών και ενώσεων

Πολυμερές	Προμηθευτής	Δομική Μονάδα	Σχόλια
πολυ(γαλακτικό οξύ) (PLA) 4042D	NatureWorks (Η.Π.Α)	$\left[\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} - \text{C} - \text{O} \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} \right]_n$	Κοκκώδης μορφή, υψηλού μοριακού βάρους υλικό για εφαρμογές φιλμ
πολυ(γαλακτικό οξύ) (PLA) PLI 005	Natureplast (Γαλλία)	$\left[\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} - \text{C} - \text{O} \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} \right]_n$	Κοκκώδης μορφή, υψηλού μοριακού βάρους υλικό για εφαρμογές έγχυσης και μόρφωσης με φύσημα
πολυ(βινυλική αλκοόλη) (PVA)	Alfa Aesar (Η.Π.Α)	$\left[\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{C} - \text{C} \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{H}_2 \end{array} \right]_n$	Υψηλού μοριακού βάρους, υδρολυμένη κατά 87–89%

4.1.2 Όργανα και συσκευές

Ο Πίνακας 4.3 καταγραφεί συνοπτικά τις συσκευές και τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία χαρακτηρισμού πολυμερών και ενώσεων για την παρασκευή των νανοσωματιδίων.

Πίνακας 4.3. Όργανα & συσκευές πειραματικής διαδικασίας χαρακτηρισμού πολυμερών και ενώσεων

Όργανο/Συσκευή	Κατασκευαστής	Μοντέλο
Φούρνος κενού	Gallenkamp	Vacuum Oven
Ιξωδόμετρο τριχοειδούς ροής τύπου Ubbelohde	Cannon	Calibrated UBC Series 9721-R53 Size 0C
Ζυγός ακριβείας	Mettler Toledo	NewClassic MF MS105DU
Συσκευή DSC	Mettler Toledo	DSC 1 STAR ^e System
Συσκευή TGA	Mettler Toledo	TGA/DSC 1 STAR ^e System

4.1.3 Μέθοδοι χαρακτηρισμού

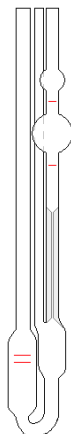
Η πειραματική διαδικασία περιλαμβάνει τεχνικές προσδιορισμού μοριακού βάρους πολυμερών (ιξωδομετρία) και θερμικές μεθόδους ανάλυσης (DSC, TGA) για τη μελέτη των θερμικών χαρακτηριστικών τόσο των πολυμερών όσο και των προς εγκλεισμό ενώσεων. Στα ακόλουθα υποκεφάλαια πραγματοποιείται σύνοψη των γενικών αρχών κάθε μεθόδου και της πειραματικής διαδικασίας που ακολουθήθηκε.

I. Προσδιορισμός μοριακού βάρους των PLA με μετρήσεις ιξωδομετρίας διαλύματος

a. Περιγραφή μεθόδου

Το υψηλό μοριακό βάρος των πολυμερών αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες καθορισμού των χαρακτηριστικών τους ιδιοτήτων. Επομένως, ο προσδιορισμός του μοριακού βάρους τους αποτελεί μία χρήσιμη αναλυτική διαδικασία. Οι μέθοδοι προσδιορισμού είναι είτε χημικές είτε φυσικές, όπως ο αναλυτικός προσδιορισμός των ακραίων δραστικών ομάδων, η ωσμωμετρία, η ζεσεοσκοπία, η κρυσκοπία, ο σκεδασμός του φωτός, η ισορροπία καταβύθισης και η ιξωδομετρία διαλύματος [138]. Η τελευταία μέθοδος αποτελεί μία ιδιαίτερα διαδεδομένη έμμεση τεχνική προσδιορισμού του μοριακού βάρους των πολυμερών εξαιτίας της ευκολίας υλοποίησής της, της ταχύτητάς της και του χαμηλού κόστους εξοπλισμού της [138] [139].

Απαραίτητη προϋπόθεση χρησιμοποίησης της ιξωδομετρίας ως μέθοδο προσδιορισμού του μοριακού βάρους αποτελεί η ύπαρξη κατάλληλου διαλύτη για το εξεταζόμενο πολυμερές [138]. Πιο συγκεκριμένα, ο ASTM αναφέρει στο πρωτόκολλό του για δοκιμές ιξωδομετρίας αραιών διαλυμάτων ότι η εφαρμογή της μεθόδου προϋποθέτει τα πολυμερή να διαλύονται πλήρως στο χρησιμοποιούμενο διαλύτη, να μην αντιδρούν με αυτόν, να μη συμμετέχουν σε αντιδράσεις αποπολυμερισμού και να σχηματίζουν σταθερά διαλύματα σε θερμοκρασίες από 25 °C έως 150 °C [140].



Σχήμα 4.1. Ιξωδόμετρο τριχοειδούς ροής αιωρούμενης στάθμης τύπου Ubbelohde

Το ιξώδες ενός αραιού διαλύματος πολυμερούς σχετίζεται με το μοριακό βάρος του πολυμερούς με μία γνησίως αύξουσα συμπεριφορά. Επιπλέον, το απόλυτο ιξώδες (η) συσχετίζεται με το χρόνο εκροής του υγρού (t) και με τις διαστάσεις ενός τριχοειδούς ιξωδομέτρου σύμφωνα με την εξίσωση του Poiseuille (4.1) [138] [139]. Επομένως, ο υπολογισμός του μοριακού βάρους του πολυμερούς δύναται να πραγματοποιηθεί έμμεσα με καταγραφή του χρόνου ροής ενός πολυμερικού διαλύματος από ένα τριχοειδές. Τα συνηθέστερα χρησιμοποιούμενα ιξωδομέτρα τριχοειδούς ροής είναι τα τύπου αιωρούμενης στάθμης, ευρύτερα γνωστά ως Ubbelohde (Σχήμα 4.1) και τα τύπου σωλήνα-U, γνωστά και ως Ostwald ιξωδομέτρα [139]. Περισσότερες πληροφορίες για τη διαφοροποίηση της λειτουργικότητας αυτών των ιξωδομέτρων είναι διαθέσιμες στο [139].

$$\eta = \frac{\Delta P \pi r^4}{8 V L} t \quad (4.1)$$

όπου:

η : το απόλυτο ιξώδες του ρευστού,

ΔP : η διαφορά πίεσης ανάμεσα στα δύο άκρα του τριχοειδούς,

r : η ακτίνα του τριχοειδούς,

t : ο χρόνος εκροής του ρευστού,

V : ο όγκος του εκρέοντος υγρού,

L : το μήκος του τριχοειδούς του ιξωδομέτρου.

Αν η διαφορά πίεσης ανάμεσα στα δύο άκρα του τριχοειδούς θεωρηθεί ίση με την υδροστατική πίεση την εξασκούμενη από την στήλη του υγρού τότε ισχύει η εξίσωση (4.2) [138] [139]:

$$\Delta P = \rho g h \quad (4.2)$$

όπου:

ρ : η πυκνότητα του ρευστού,

h : η διαφορά ύψους των στάθμεων της στήλης του ρευστού.

Συνδυάζοντας μεγέθη της εξίσωσης (4.1) και της (4.2) τα οποία αφορούν τα χαρακτηριστικά του ιξωδομέτρου, προκύπτει η εξίσωση (4.3) [138] [139]:

$$K_V = \frac{g h \pi r^4}{8 V L} \quad (4.3)$$

όπου:

K_V : η σταθερά του ιξωδομέτρου

Επομένως, η εξίσωση του Poiseuille (4.1) μετατρέπεται μέσω των (4.2) και (4.3) στην τροποποιημένη εξίσωση (4.4) [138] [139]:

$$\eta = K_V \rho t \tag{4.4}$$

όπου η το απόλυτο ιξώδες (cP), ρ η πυκνότητα του ρευστού (g ml^{-1}), K_V η σταθερά του ιξωδομέτρου ($\text{mm}^2 \text{s}^{-2}$) και t ο χρόνος εκροής (s).

Βάση της εξίσωσης (4.4) προκύπτουν ορισμένες χρήσιμες εκφράσεις ιξώδους οι οποίες υπολογίζονται πειραματικά χρησιμοποιώντας το χρόνο εκροής τόσο του διαλύτη (t_0) όσο και του πολυμερικού διαλύματος (t) γνωστή συγκέντρωσης (C). Ο Πίνακας 4.4 συνοψίζει αυτές τις εκφράσεις [138] [139]. Προφανώς η σταθερά του ιξωδομέτρου είναι σταθερή και δεν είναι συνάρτηση της φύσης του εξεταζόμενου ρευστού, επομένως διάλυμα και διαλύτης έχουν ίδια τιμή σταθεράς ιξωδομέτρου K_V .

Μία σημαντική παρατήρηση είναι ότι καθώς η συγκέντρωση του πολυμερούς στο διάλυμα, C , τείνει στο μηδέν, τότε η πυκνότητα του διαλύματος (ρ) τείνει να αποκτήσει την πυκνότητα του διαλύτη (ρ_0). Αυτή η συμπεριφορά οδηγεί σε απλοποίηση των υπολογισμών αν τα παρασκευαζόμενα πολυμερικά διαλύματα θεωρηθούν αρκούντως αραιά ($\leq 1\% \text{ w/v}$) [138].

Πίνακας 4.4. Χρήσιμες εκφράσεις ιξώδους για την ιξωδομετρία διαλύματος

Όρος	Μονάδες Μεγεθών	ISO (IUPAC)	BS 5168
$v = \frac{\eta}{\rho}$	η : σε cP ρ : σε $\frac{\text{g}}{\text{ml}}$ v : σε cSt	Λόγος Ιξώδους - Πυκνότητας	Κινηματικό Ιξώδες
$RV = \frac{\eta}{\eta_0}$	η_0 : απόλυτο ιξώδες διαλύτη σε cP	Λόγος Ιξώδους (Viscosity Ratio)	Σχετικό Ιξώδες (Relative Viscosity)
$\eta_{sp} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = RV - 1$	-	Σχετική Αύξηση Ιξώδους	Ειδικό Ιξώδες (Specific Viscosity)
$\eta_{red} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0 \cdot C} = \frac{\eta_{sp}}{C}$	C : συγκέντρωση διαλύματος σε ($\text{g}/100\text{ml}$) η_{red} : σε $\frac{\text{dl}}{\text{g}}$	Αριθμός Ιξώδους	Ανηγμένο Ιξώδες (Reduced Viscosity)
$\eta_{inh} = \frac{\ln \frac{\eta}{\eta_0}}{C} = \frac{\ln RV}{C}$	η_{inh} : σε $\frac{\text{dl}}{\text{g}}$	Λογαριθμικός Αριθμός Ιξώδους	Συμφυές Ιξώδες (Inherent Viscosity)
$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{C} = \lim_{C \rightarrow 0} \eta_{red}$	$[\eta]$: σε $\frac{\text{dl}}{\text{g}}$	Οριακός Αριθμός Ιξώδους (Limiting Viscosity Number)	Εσωτερικό Ιξώδες (Intrinsic Viscosity)

b. Προσδιορισμός οριακού αριθμού ιξώδους

Για άπειρη αραιώση διαλύματος, δηλαδή όταν η συγκέντρωση του πολυμερούς στο διαλύτη τείνει στο μηδέν, τότε η τιμή του αριθμού ιξώδους (η_{red}) ονομάζεται οριακός αριθμός ιξώδους ή εσωτερικό ιξώδες $[\eta]$. Σε αραιά διαλύματα πολυμερών, ($\eta_{\text{sp}} \ll 1, [\eta] C \ll 1$), ο προσδιορισμός του $[\eta]$ δύναται να πραγματοποιηθεί μέσω της σειράς Huggins (4.5) [138] [141]:

$$\eta_{\text{red}} = [\eta] + k_H [\eta]^2 C + \dots \quad (4.5)$$

όπου:

k_H : σταθερά Huggins, ανεξάρτητη του μοριακού βάρους, η οποία εξαρτάται από το σύστημα πολυμερούς-διαλύτη-θερμοκρασίας και λαμβάνει τιμές από 0,3 (πλούσιος διαλύτης) έως 0,5 (φτωχός διαλύτης).

Μία καλή εκτίμηση του οριακού αριθμού ιξώδους $[\eta]$ προκύπτει από μετρήσεις ιξώδους σε μία δεδομένη συγκέντρωση (single point determination) χρησιμοποιώντας τις εκφράσεις που συνοψίζει ο Πίνακας 4.5 [138] [141]. Οι συγκεκριμένες εκφράσεις προκύπτουν από τη σειρά Huggins (4.5) θεωρώντας τη σταθερά k_H ίση με 1/3 ή 3/8 και ταυτόχρονο μηδενισμό των όρων του δεξιού μέρους κάθε προόδου μετά το $[\eta]$.

Πίνακας 4.5. Μαθηματικές εκφράσεις για τον υπολογισμό του οριακού αριθμού ιξώδους

Μαθηματική έκφραση	
$\frac{1}{C} \sqrt{2 (\eta_{\text{sp}} - \ln(\eta_{\text{rel}}))} = [\eta] + (k_H - 1/3) [\eta]^2 C$	(4.6)
$\frac{1}{4} \frac{\eta_{\text{sp}}}{C} + \frac{3 \ln(\eta_{\text{rel}})}{4 C} = [\eta] + (k_H - 3/8) [\eta]^2 C$	(4.7)
$\frac{1}{3} \frac{\eta_{\text{sp}}}{C} + \frac{2 \ln(\eta_{\text{rel}})}{3 C} = [\eta] + (k_H - 1/3) [\eta]^2 C$	(4.8)
$\frac{\eta_{\text{sp}}}{C} \exp\left(-\frac{\eta_{\text{sp}}}{3}\right) = [\eta] + (k_H - 1/3) [\eta]^2 C$	(4.9)
$\frac{(1 + 1,5 \eta_{\text{sp}})^{1/2} - 1}{0,75 C} = [\eta] + (k_H - 3/8) [\eta]^2 C$	(4.10)
$\frac{(1 + 4/3 \eta_{\text{sp}})^{1/2} - 1}{0,67 C} = [\eta] + (k_H - 1/3) [\eta]^2 C$	(4.11)
$\frac{4}{C} (\eta_{\text{rel}}^{1/4} - 1) = [\eta] + (k_H - 3/8) [\eta]^2 C$	(4.12)
$\frac{3}{C} (\eta_{\text{rel}}^{1/3} - 1) = [\eta] + (k_H - 1/3) [\eta]^2 C$	(4.13)

Τέλος, ο οριακός αριθμός ιξώδους $[\eta]$ συνδέεται με το μέσου – ιξώδους μοριακό βάρος μέσω της εξίσωσης των Mark – Houwing – Sakurada (4.14) [138]:

$$[\eta] = K M_V^a \quad (4.14)$$

όπου:

K : σταθερά για ορισμένη θερμοκρασία και σύστημα πολυμερούς-διαλύτη με τιμές συνήθως από 0,5 έως $5 \times 10^{-4} (dl g^{-1})(g mol^{-1})^{-a}$,

M_V : μέσου – ιξώδους μοριακό βάρος πολυμερούς ($g mol^{-1}$),

a : σταθερά για ορισμένη θερμοκρασία και σύστημα πολυμερούς-διαλύτη με τιμές από 0,5 (φτωχός διαλύτης) έως 0,8 (πλούσιος διαλύτης).

c. Πειραματική διαδικασία

Δύο διακριτά εμπορικά δείγματα PLA (4042D, PLI 005) υπέστησαν ξήρανση σε φούρνο κενού για 4 ώρες σε συνθήκες 50 °C και 400 mbar. Η ξήρανση των δειγμάτων είναι απαραίτητη για την αφαίρεση της υγρασίας τους. Ακολούθησε μεταφορά των δειγμάτων σε ξηραντήρα με ξηραντικό υλικό Sicapent[®] (P₂O₅) όπου τα δείγματα αφέθηκαν μέχρι να προσεγγίσουν τη θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στη συνέχεια, ζυγίστηκαν ποσότητες 0,05 g από κάθε ξηραμένο πολυμερικό δείγμα και ακολούθησε διάλυσή τους σε 25 ml χλωροφορμίου σε εσφυρισμένες κωνικές φιάλες των 50 ml. Για κάθε ποιότητα PLA παρασκευάστηκαν δύο δείγματα, δηλαδή συνολικά τέσσερα διαλύματα χλωροφορμίου-PLA συγκέντρωσης 0,2 % w/v. Τα δείγματα αφέθηκαν στις περισσότερες περιπτώσεις υπό ήπια μαγνητική ανάδευση επί 16 ώρες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για τη διασφάλιση πλήρους διάλυσης των πολυμερικών κόκκων από το διαλύτη.

Μετά την προετοιμασία των δειγμάτων ακολουθεί η διαδικασία της ιξωδομετρίας. Αρχικά, ρυθμίζεται η θερμοκρασία του υδατόλουτρου όπου θα βυθιστεί το ιξωδόμετρο. Η επιλογή της θερμοκρασίας πραγματοποιείται λαμβάνοντας υπόψη τους περιορισμούς του πειράματος (π.χ πτητικότητα διαλύτη), αλλά και την τιμή θερμοκρασίας όπου αναφέρονται οι βιβλιογραφικές σταθερές K και a της εξίσωσης των Mark – Houwing – Sakurada (4.14) για το εξεταζόμενο σύστημα διαλύτη-πολυμερούς. Εν προκειμένω, επιλέχθηκαν οι σταθερές τις οποίες παρουσιάζει ο Πίνακας 4.6 και οι οποίες αναφέρονται στη θερμοκρασία των 30 °C για το σύστημα χλωροφορμίου-PLA [142]. Επομένως, η θερμοκρασία του υδατόλουτρου ρυθμίστηκε στους 30 °C.

Πίνακας 4.6. Βιβλιογραφικές σταθερές K και a της εξίσωσης Mark - Houwing - Sakurada

Διαλύτης	Πολυμερές	Θερμοκρασία (°C)	$K ((dl g^{-1})(g mol^{-1})^{-a})$	a
Χλωροφόρμιο	PLA	30	$1,31 \times 10^{-4}$	0,777

Με αντικατάσταση των σταθερών στην εξίσωση (4.14) προκύπτει η (5.3):

$$[\eta] = 1,31 \times 10^{-4} M_V^{0,777} \quad (4.15)$$

με $[\eta]$ σε ($dl g^{-1}$) και M_V σε ($g mol^{-1}$).

Επόμενο στάδιο της διαδικασίας είναι η επιλογή του ιξωδομέτρου. Το ιξωδόμετρο πρέπει να ικανοποιεί την προϋπόθεση ότι το δείγμα και ο καθαρός διαλύτης του θα πρέπει να έχουν χρόνους ροής $t > 100 \text{ sec}$ [138]. Αυτή η προϋπόθεση οφείλεται στο γεγονός ότι η εξίσωση Poiseuille (4.1) ισχύει για (μόνιμη νευτωνική) στρωτή και όχι τυρβώδη ροή [139]. Αύξηση της σταθεράς του ιξωδομέτρου K_V συνοδεύεται από αύξηση στο χρόνο εκροής του ρευστού. Το τριχοειδούς ροής ιξωδόμετρο της πειραματικής διαδικασίας ήταν τύπου Ubbelohde (Calibrated UBC Series 9721-R53 Size 0C) σταθεράς $K_V = 0,002807 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-2}$ το οποίο ικανοποιούσε τις χρονικές προϋποθέσεις που προαναφέρθηκαν. Δέον όπως επισημανθεί ότι απαιτείται προσεχτικός καθαρισμός του ιξωδομέτρου ώστε να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα από προηγούμενα διαλύματα πολυμερών και τυχόν ακαθαρσίες, όπως σκόνες. Επιπλέον, πριν από κάθε μέτρηση απαιτείται διήθηση του προς μέτρηση πολυμερικού δείγματος για αφαίρεση τυχόν ακαθαρσιών και ξήρανση του ιξωδομέτρου με πεπιεσμένο αέρα. Εν γένει, η παρεμπόδιση της φυσιολογικής ροής του ρευστού και η υποβάθμιση της καθαρότητας του αποτελούν παράγοντες λανθασμένης διαδικασίας μέτρησης.

Το εκάστοτε δείγμα αποχύνεται και ημιπληρώνει το μεγάλο θάλαμο του ιξωδομέτρου. Πριν από κάθε μέτρηση το πληρωμένο με δείγμα ιξωδόμετρο παραμένει επί 10 min περίπου μέσα στο υδατόλουτρο ώστε να αποκτήσει την απαιτούμενη θερμοκρασία εν προκειμένω τους $30 \text{ }^\circ\text{C}$. Στη συνέχεια προσαρμόζεται πουάρ στο σκέλος του τριχοειδούς και το δείγμα αναρροφάται μέχρι να ξεπεράσει κατά 1 με 2 cm την άνω χαραγή του ιξωδομέτρου. Η διαδικασία της αναρρόφησης προϋποθέτει ταυτόχρονα το κλείσιμο του χαρακτηριστικού βοηθητικού σκέλους των τύπου Ubbelohde ιξωδομέτρων ειδάλλως δεν λαμβάνει χώρα αναρρόφηση. Απαραίτητη προϋπόθεση για την εξασφάλιση της αξιοπιστίας των μετρήσεων είναι το ιξωδόμετρο να είναι κάθετα τοποθετημένο στο υδατόλουτρο κατά τη διάρκεια της μέτρησης ώστε η δύναμη της βαρύτητας να είναι κοινή για όλα τα δείγματα και να μην αναλύεται σε συνιστώσες. Ακολούθως, ανοίγεται το βοηθητικό σκέλος και διακόπτεται η αναρρόφηση του ρευστού οπότε το υγρό αφήνεται να ρεύσει υπό την επίδραση της βαρυτικής δύναμης. Ο χρόνος εκροής αντιστοιχίζεται στο χρόνο που χρειάζεται το ρευστό, διαλύτης ή πολυμερικό διάλυμα, να διέλθει από την άνω χαραγή έως την κάτω χαραγή του ιξωδομέτρου. Τέλος, απαραίτητη προϋπόθεση είναι η απουσία φυσαλίδων ή ασυνεχών τμημάτων στο χώρο μεταξύ των δύο χαραγών ή στο τριχοειδές. Επισημαίνεται ότι από κάθε διάλυμα λαμβάνονται 3 μετρήσεις, η απόκλιση των οποίων δεν πρέπει να ξεπερνά το 2 % [138]. Ως αποτέλεσμα λαμβάνεται ο μέσος όρος των μετρήσεων. Ο προσδιορισμός του οριακού αριθμού ιξώδους $[\eta]$ για το υπό μελέτη σύστημα πραγματοποιείται μέσω της εξίσωσης (4.16). Η επιλογή της δεδομένης εξίσωσης πραγματοποιήθηκε με δοκιμές των πειραματικών δεδομένων σε όλες τις εκφράσεις που παρουσιάζει ο Πίνακας 4.5 και εύρεση της εξίσωσης με τη μεγαλύτερη σύγκλιση.

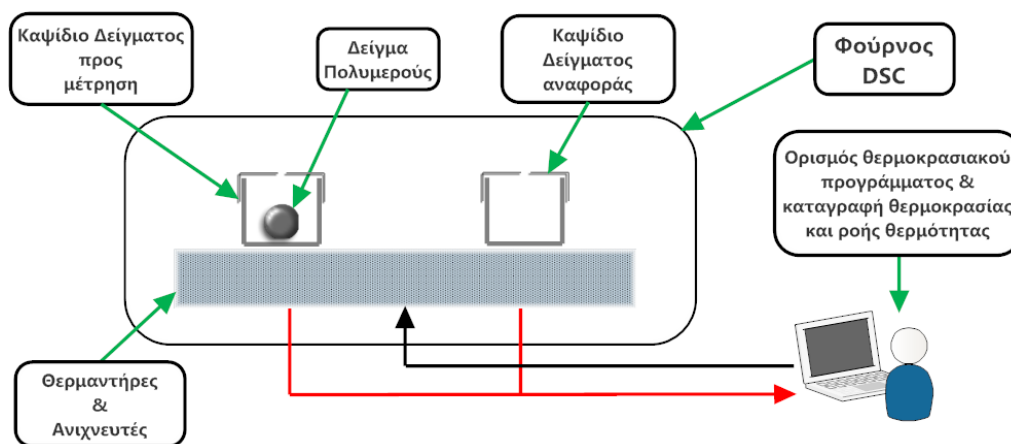
$$[\eta] = \frac{(1 + 1,5 \eta_{sp})^{1/2} - 1}{0,75 C} \quad (4.16)$$

II. Προσδιορισμός θερμικών μεταπτώσεων μέσω DSC

a. Περιγραφή μεθόδου

Η Διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC) αποτελεί μία διαδεδομένη μέθοδο θερμικής ανάλυσης πολυμερικών υλικών για την τη μελέτη των θερμικών μεταπτώσεών τους. Η συγκεκριμένη μέθοδος είναι ευρέως χρησιμοποιούμενη εξαιτίας κυρίως της ταχύτητας, της ευκολίας πραγματοποίησης και της διαθεσιμότητάς της [143]. Μέσω της DSC δύναται να προσδιοριστούν φυσικές ή χημικές αλλαγές σε ένα δείγμα ως συνέπεια της μεταβολής της θερμοκρασίας. Σε αυτές τις αλλαγές περιλαμβάνονται μεταξύ άλλων η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (T_g), η θερμοκρασία (T_c) και η ενθαλπία (ΔH_c) κρυσταλλώσεως, η θερμοκρασία (T_m) και η ενθαλπία (ΔH_m) τήξης κρυσταλλικών πολυμερών και η θερμοκρασία θερμικής διάσπασης (T_d).

Η διάταξη DSC πραγματοποιεί «σάρωση» μίας ορισμένης από το χρήστη θερμοκρασιακής περιοχής και μελετά τη συμπεριφορά του δείγματος του πολυμερούς καθώς θερμαίνεται. Ειδικότερα, η διάταξη φέρει δύο θερμαινόμενους υποδοχείς στους οποίους τοποθετούνται κατάλληλες κυψελίδες/δειγματοφορείς/καψίδια (pans) αλουμινίου. Η μία κυψελίδα περιέχει το δείγμα, ενώ η άλλη κυψελίδα ονομάζεται κυψελίδα αναφοράς (reference) και είναι συνήθως κενή. Το περιβάλλον των υποδοχέων είναι κλειστό και συνήθως αδρανές γεγονός που επιτυγχάνεται με ροή αζώτου ή ευγενών αερίων. Ο θερμικός ελεγκτής αρχίζει να θερμαίνει ταυτόχρονα τους υποδοχείς που φέρουν τις κυψελίδες με ρυθμό θέρμανσης ορισμένο από το χρήστη. Η θερμοκρασία των υποδοχέων προσδιορίζεται με μεγάλη ακρίβεια μέσω θερμοστοιχείων.



Σχήμα 4.2. Απλοποιημένη απεικόνιση διάταξης DSC

Τα δύο καψίδια διαφέρουν ως προς το περιεχόμενό τους (φορτωμένο και κενό) και επομένως το φορτωμένο με δείγμα καψίδιο απαιτεί περισσότερη θερμότητα/ισχύ για να κρατήσει το ρυθμό αύξησης της θερμοκρασίας του ίσο με τον αντίστοιχο ρυθμό στο καψίδιο αναφοράς. Η αρχή της DSC βασίζεται στη μέτρηση των διαφορών ροής θερμότητας μεταξύ του δείγματος και του δείγματος αναφοράς σε συνάρτηση με το χρόνο ή/και τη θερμοκρασία, για τη διατήρηση της ίδιας θερμοκρασίας, καθώς τα δύο

δείγματα θερμαίνονται ή ψύχονται με το ίδιο θερμοκρασιακό πρόγραμμα [143] [144]. Ενδόθερμες (π.χ τήξη) και εξώθερμες (π.χ κρυστάλλωση) διεργασίες καταγράφονται ως κορυφές, συνήθως θετικές για τις ενδόθερμες και αρνητικές για τις εξώθερμες, στα γραφήματα DSC και τα εμβαδά των κορυφών εκφράζουν την απορροφούμενη ή εκλύομενη θερμότητα αντίστοιχα, η οποία ανάγεται στη μάζα του δείγματος που έχει χρησιμοποιηθεί (διαδικασία κανονικοποίησης) [144]. Περισσότερες πληροφορίες για τη διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC) ως μέθοδο θερμοικού χαρακτηρισμού πολυμερών είναι διαθέσιμες στην αναφορά [145].

b. Πειραματική διαδικασία

Η πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκε με χρήση της συσκευής DSC 1 STAR[®] System της Mettler Toledo. Η προετοιμασία των δειγμάτων περιλαμβάνει την τοποθέτησή τους σε κατάλληλα κυλινδρικά καψίδια (pans) αλουμινίου, ζύγιση των δειγμάτων και αεροστεγής σφράγιση των καψιδίων με μεταλλικά καλύμματα με τη βοήθεια ειδικής πρέσας. Πριν τη σφράγιση δημιουργείται οπή εξαερισμού στο μέγεθος της μύτης βελόνας στο κάλυμμα. Μετά την ανωτέρω διαδικασία το εκάστοτε δείγμα είναι έτοιμο προς τοποθέτηση στον αντίστοιχο υποδοχέα της διάταξης DSC.



Σχήμα 4.3. Συσκευή Mettler DSC 1 STAR[®] System

Οι θερμοκρασιακές συνθήκες πραγματοποίησης της μέτρησης διαφέρουν από δείγμα σε δείγμα, ωστόσο περιορίζονται στο θερμοκρασιακό εύρος -140 (με τη βοήθεια υγρού N_2) έως και 700 °C. Οι μετρήσεις DSC πραγματοποιούνται εν γένει σε δείγματα μάζας από 3 έως 15 mg, οπότε το μικρό μέγεθος του δείγματος προϋποθέτει μέριμνα ώστε το δείγμα να είναι όσο το δυνατό πιο αντιπροσωπευτικό της κύριας μάζας του πολυμερούς. Στο περιβάλλον των υποδοχέων δημιουργείται συνήθως αδρανής ατμόσφαιρα με ροή αζώτου (20 ml min^{-1}). Ο Πίνακας 4.7 συνοψίζει τις πειραματικές συνθήκες των δειγμάτων (ενώσεις και πολυμερή) που υπέστησαν DSC.

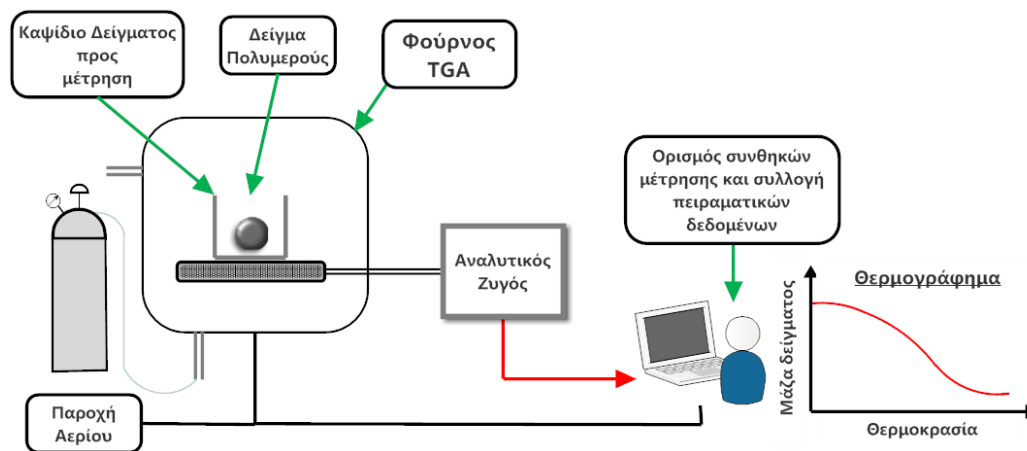
Πίνακας 4.7. Πειραματικές συνθήκες χαρακτηρισμού πολυμερών και ενώσεων με DSC

Δείγμα	Μάζα Δείγματος (mg)	Θερμοκρασία Έναρξης (°C)	Θερμοκρασία Λήξης (°C)	Θερμοκρασιακό Βήμα ($^{\circ}\text{C min}^{-1}$)	Ροή N_2 (ml min^{-1})
PLA 4042D	10,75	25	350	10	20
PLA PLI005	11,20	0	600	10	20
PVA	14,84	25	500	10	20
Irgarol 1051 TM	7,80	25	170	10	20
Econea TM	3,87	0	400	10	20
Zinc Pyrithione	4,05	0	400	10	20

III. Προσδιορισμός θερμικής σταθερότητας μέσω TGA

a. Περιγραφή μεθόδου

Η θερμοσταθμική ή θερμοβαρουμετρική ανάλυση (Thermogravimetric Analysis ή TGA) αποτελεί μία διαδεδομένη θερμική μέθοδο ανάλυσης. Η TGA είναι η τεχνική η οποία καταγράφει τη μάζα (βάρος) του δείγματος, καθώς αυτό θερμαίνεται σε ελεγχόμενο περιβάλλον [144]. Το βασικότερο τμήμα του οργάνου είναι ένας αναλυτικός ζυγός μεγάλης ακρίβειας μέσα σε ένα φούρνο. Το όργανο καλείται και θερμοζυγός (thermobalance) εξαιτίας του ζυγού που φέρει [144]. Τα κύρια τμήματα μία σύγχρονης TGA διάταξης είναι ο ζυγός, ο φούρνος και το σύστημα ελέγχου των λειτουργικών παραμέτρων/επεξεργασίας δεδομένων (Σχήμα 4.4) [144].



Σχήμα 4.4. Απλοποιημένη απεικόνιση διάταξης TGA

Η θερμοσταθμική ανάλυση μελετά τη θερμική συμπεριφορά των υλικών και πιο συγκεκριμένα εφαρμόζεται συνήθως για τη μελέτη της θερμικής διάσπασης και της θερμικής σταθερότητάς τους, όταν αυτά θερμαίνονται κάτω από διάφορες συνθήκες. Η έκθεση του δείγματος σε ελεγχόμενο θερμοκρασιακό πρόγραμμα οδηγεί στη συλλογή πληροφοριών για τις διεργασίες που έχουν σαν αποτέλεσμα την αλλαγή στο βάρος του δείγματος. Αυτές οι διεργασίες δύναται να είναι θερμική διάσπαση του υλικού, οξείδωση του υλικού, αντιδράσεις με αέρια, αφαίρεση της υγρασίας ή διαλυτών και άλλες φυσικές ή χημικές διαδικασίες που σχετίζονται με αλλαγή στο βάρος του δείγματος. Επιπλέον, χρησιμοποιείται για τη μελέτη της κινητικής των φυσικοχημικών δράσεων που εμφανίζονται κατά τη θερμική καταπόνηση του υλικού [144].

Κατά την TG ανάλυση το υπό εξέταση δείγμα θερμαίνεται σε ορισμένες από το χρήστη συνθήκες ανάλυσης και καταγράφεται συνεχώς το βάρος του, η θερμοκρασία και ο χρόνος [144]. Οι σημαντικότερες παράμετροι του πειράματος είναι ο ρυθμός θέρμανσης του δείγματος, η αρχική και τελική θερμοκρασία του φούρνου, ο χρόνος ισοθερμοκρασιακής καταπόνησης, το περιβάλλον αερίου μέσα στο φούρνο και η ποσότητα του αναλυόμενου δείγματος [144]. Όσον αφορά το περιβάλλον αερίου δύναται να είναι αδρανές (π.χ He, N₂, Ar), οξειδωτικό (π.χ O₂, αέρας) ή αναγωγικό (π.χ 8 – 10 % H₂ σε N₂) [145].

Ένα τυπικό διάγραμμα θερμοσταθμικής ανάλυσης παρουσιάζει συνήθως την αλλαγή στο βάρος (w) του δείγματος συναρτήσει της θερμοκρασίας και το ρυθμό μεταβολής του βάρους (dw/dT). Οι συχνά παρατηρούμενες απώλειες βάρους του υλικού σε χαμηλές θερμοκρασίες οφείλονται συνήθως σε εκροφές συστατικών, όπως π.χ της υγρασίας γύρω στους 100 °C. Η διάσπαση των πολυμερών που ακολουθεί συνήθως σε υψηλότερες θερμοκρασίες δύναται να είναι ενός ή περισσότερων σταδίων. Ως θερμοκρασία αποικοδόμησης/διάσπασης (T_d) ορίζεται συχνά η θερμοκρασία όπου παρατηρείται η μέγιστη μεταβολή βάρους. Το σημείο αυτό καθορίζεται εύκολα μέσω του γραφήματος της πρώτης παραγώγου της μεταβολής βάρους (dw) ως προς τη θερμοκρασία. Η διαδικασία αξιοποίησης της πρώτης παραγώγου της μεταβολής βάρους (dw) συναρτήσει της θερμοκρασίας για το προσδιορισμό θερμοκρασιών έναρξης και λήξης διεργασιών απώλειας βάρους περιγράφεται κατά ASTM στην αναφορά [144]. Περισσότερες πληροφορίες για τη θερμοβαρυμετρική ανάλυση (TGA) ως μέθοδο θερμικού χαρακτηρισμού πολυμερών είναι διαθέσιμες στην παραπομπή [145].

b. Πειραματική διαδικασία

Η πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκε με χρήση του θερμοζυγού TGA/DSC 1 STAR^e System της Mettler Toledo. Η προετοιμασία των δειγμάτων περιλαμβάνει την ξήρανση των πολυμερικών δειγμάτων, την τοποθέτησή τους σε κατάλληλα κανίδια και ζύγιση των δειγμάτων. Μετά την ανωτέρω διαδικασία το εκάστοτε δείγμα είναι έτοιμο προς τοποθέτηση στον θερμοζυγό. Ο Πίνακας 4.7 συνοψίζει τις πειραματικές συνθήκες των δειγμάτων (ενώσεις και πολυμερή) που υπέστησαν TGA.



Σχήμα 4.5. Συσκευή Mettler Toledo TGA/DSC 1 STAR^e System

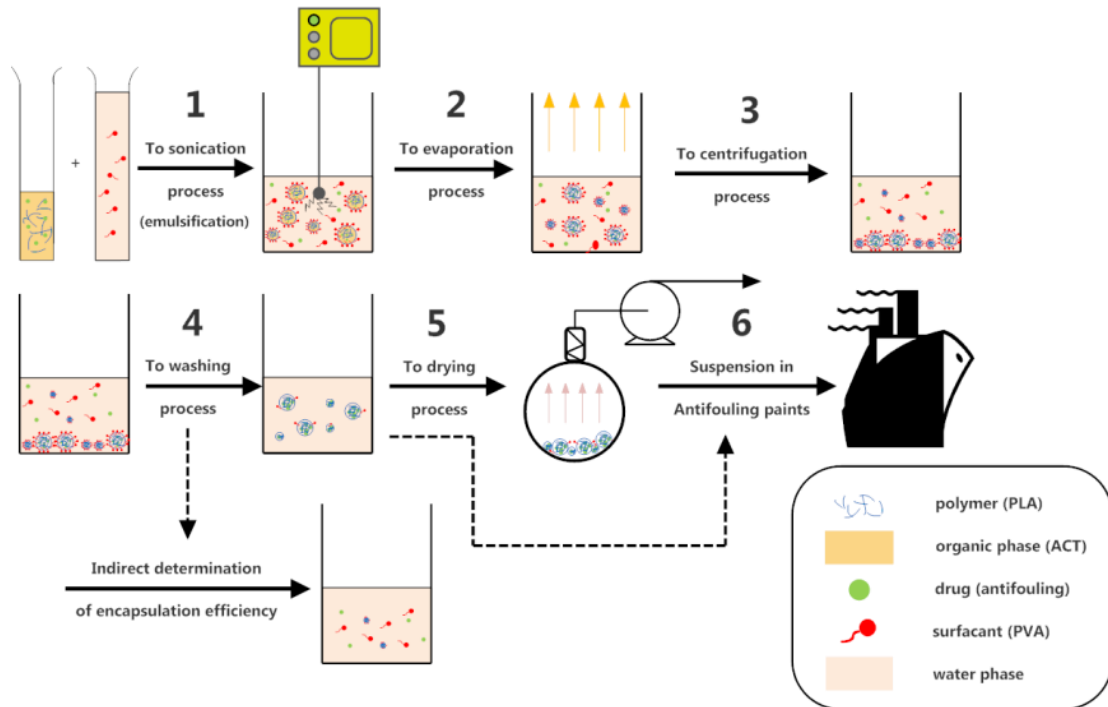
Από το προκύπτον θερμογράφημα εξάγονται με κατάλληλη επεξεργασία η T_d και το επί τοις εκατό υπόλειμμα μάζας (% Υ.Μ) το οποίο προκύπτει ως το % κλάσμα της τελικής μάζας που παραμένει στο θερμοζυγό προς την αρχική μάζα του δείγματος.

Πίνακας 4.8. Πειραματικές συνθήκες χαρακτηρισμού πολυμερών και ενώσεων με TGA

Δείγμα	Μάζα Δείγματος (mg)	Θερμοκρασία Έναρξης (°C)	Θερμοκρασία Λήξης (°C)	Θερμοκρασιακό Βήμα (°C min ⁻¹)	Ροή N ₂ (ml min ⁻¹)
PLA 4042D	10,83	25	600	10	10
PLA PLI005	15,85	0	600	10	10
PVA	28,06	25	600	10	10
Irgarol	3,43	30	300	10	10
Econea	8,86	25	400	10	10
Zinc Pyrithione	5,99	25	400	10	10

4.2 Παρασκευή και απομόνωση νανοσωματιδίων

Το παρόν υποκεφάλαιο αποτελεί τον πυρήνα της πειραματικής διαδικασίας που πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο αυτής της διπλωματικής εργασίας. Πιο συγκεκριμένα, καταγράφονται όλες οι διαδικασίες που έλαβαν χώρα για την παρασκευή και την απομόνωση των πολυμερικών νανοσωματιδίων. Το Σχήμα 4.6 αποτελεί μία παραστατική γραφική απεικόνιση της πειραματικής διαδικασίας η οποία θα αναλυθεί στο παρόν υποκεφάλαιο.



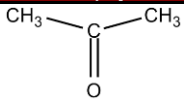
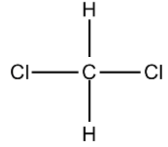
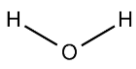
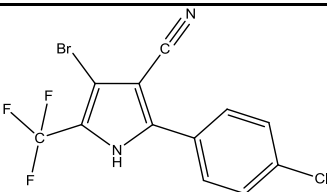
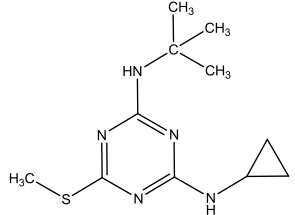
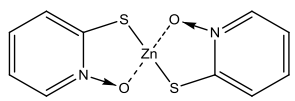
Σχήμα 4.6. Γραφική απεικόνιση πειραματικής διαδικασίας παρασκευής και απομόνωσης νανοσωματιδίων

4.2.1 Υλικά

Τα χρησιμοποιούμενα υλικά κατά τις πειραματικές διαδικασίες παρασκευής και απομόνωσης των νανοσωματιδίων κατηγοριοποιούνται ανάλογα με τη δομή τους σε απλά χημικά αντιδραστήρια και πολυμερικά υλικά. Ο Πίνακας 4.9 συνοψίζει τα χημικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν κατά το δεδομένο πειραματικό στάδιο, ενώ τα αντίστοιχα πολυμερικά υλικά ταυτίζονται με αυτά της πειραματικής διαδικασίας του υποκεφαλαίου 4.1 τα οποία καταγράφει ο Πίνακας 4.2 στη σελίδα 56.

Δέον όπως επισημανθεί ότι χρησιμοποιήθηκαν δύο ποιότητες PLA ως πολυμερικοί φορείς (4042D και PLI 005). Βασική διαφοροποίηση των δύο υλικών είναι ότι το PLA 4042D διαπιστώθηκε ότι διαλύεται μόνο σε χλωριωμένους διαλύτες (π.χ διχλωρομεθάνιο), ενώ από την άλλη μεριά το PLI 005 διαλύεται τόσο σε χλωριωμένους διαλύτες όσο και σε δύο χαρακτηριστικές αναμειξίμες με το νερό ενώσεις όπως ο οξικός αιθυλεστέρας (ethyl acetate) και η ακετόνη (acetone).

Πίνακας 4.9. Χημικά αντιδραστήρια πειραματικής διαδικασίας παρασκευής και απομόνωσης νανοσωματιδίων

Αντιδραστήριο	Προμηθευτής	Δομή	Σχόλια
Ακετόνη (ACT)	Panreac (Ισπανία)		Αναλυτικής καθαρότητας κατά ACS, ISO
Διχλωρομεθάνιο (DCM)	Merck KGaA (Γερμανία)		Αναλυτικής καθαρότητας ACS, ISO, Reag. Ph Eur
Υπερκάθαρο νερό (UPW)	Εργαστήριο Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας Ε.Μ.Π		Συσκευή EASYpure™ UV της Barnstead. 18 ΜΩ cm ειδική αντίσταση νερού
Econea™ (ECO)	Janssen PMP (Βέλγιο)		Λεπτόκοκκη λευκή σκόνη, ελάχιστης καθαρότητας (χρωματογραφία) 95,0 % w/w
Irgarol 1051™ (IRG)	Ciba (Η.Π.Α)		Λεπτόκοκκη λευκή σκόνη, καθαρότητας από 96,0 % w/w έως 99,0 % w/w
Zinc Pyrithione (ZPT)	Janssen PMP (Βέλγιο)		Λεπτόκοκκη λευκή σκόνη, ελάχιστης καθαρότητας (ποτενσιομετρική τιτλοδότηση) 97,0 % w/w

4.2.2 Όργανα και συσκευές

Ο Πίνακας 4.10 συνοψίζει συγκεντρωτικά τις συσκευές και τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία παρασκευής και απομόνωσης των πολυμερικών νανοσωματιδίων.

Πίνακας 4.10. Όργανα & συσκευές πειραματικής διαδικασίας παρασκευής και απομόνωσης πολυμερικών νανοσωματιδίων

Όργανο/Συσκευή	Κατασκευαστής	Μοντέλο
Συσκευή υπερήχων	Hielscher Ultrasonics GmbH	UP100H
Περιστροφικός Εξατμιστήρας	Büchi	Rotavapor R-210
Συσκευή φυγοκέντρησης	DuPont	Sorvall RC 28S (κεφαλή Sorvall F28/50)
Συσκευή λυοφιλοποίησης	B. Braun Biotech International	Christ Alpha 1-4

4.2.3 Πειραματική διαδικασία παρασκευής νανοσωματιδίων

Η τεχνική που επιλέχθηκε για την παρασκευή των πολυμερικών νανοσωματιδίων είναι η τεχνική γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης του διαλύτη (σελίδα 34), αφού χρησιμοποιείται συσκευή υπερήχων για τη δημιουργία του γαλακτώματος τόσο για το διχλωρομεθάνιο όσο και στην περίπτωση της ακετόνης η οποία γαλακτωματοποιείται αυθόρμητα. Η διαδικασία παρασκευής δύναται να διακριθεί σε τέσσερα διαδοχικά στάδια τα οποία είναι:

1. η προετοιμασία της οργανικής και της υδατικής φάσης,
2. η διεργασία γαλακτωματοποίησης,
3. η διεργασία απομάκρυνσης του οργανικού διαλύτη και
4. η διεργασία φυγοκέντρωσης των διασπορών και έκπλυσης των σωματιδίων.

Τα πολυμερικά νανοσωματίδια με εγκλεισμένες βιοενεργές ενώσεις (Irgarol, Econea, Zinc Pyrithione) παρήχθησαν όλα με την ίδια μέθοδο, ενώ παρασκευάστηκαν και κενά (blank ή placebo) νανοσωματίδια, δηλαδή σωματίδια στα οποία δεν εγκλείστηκε κάποια ένωση. Τα τελευταία χρησιμοποιούνται ως αναφορά για τη διερεύνηση των διαφοροποιήσεων μεταξύ εγκλεισμένων και κενών σωματιδίων.

I. Προετοιμασία οργανικής και υδατικής φάσης

a. Γενικά στοιχεία περί των φάσεων γαλακτωματοποίησης

Πριν τη διεργασία γαλακτωματοποίησης απαιτείται η προετοιμασία των φάσεων που θα σχηματίσουν το γαλάκτωμα. Συνήθως, το ρόλο της συνεχούς φάσης αναλαμβάνει το νερό με κάποιον γαλακτωματοποιητή ή σταθεροποιητή διαλυμένο σε αυτό. Η αιτία της χρησιμοποίησης του νερού ως συνεχούς φάσης του γαλακτώματος οφείλεται σε οικονομικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες, αλλά και παράγοντες ασφάλειας προσωπικού/διαχείρισης πρώτων υλών, αφού πρόκειται για οικονομικό, ευρέως διαθέσιμο, φιλικό προς το προσωπικό παραγωγής, προς το χρήστη και προς το περιβάλλον υλικό. Ωστόσο, αυτό δεν αποτρέπει τη χρησιμοποίηση κάποιου οργανικού διαλύτη ως κύριο συστατικό της συνεχούς φάσης του γαλακτώματος.

Όσον αφορά τους γαλακτωματοποιητές ή σταθεροποιητές, στις περισσότερες περιπτώσεις πρόκειται για αμφιφιλικά επιφανειοδραστικά συνθετικά ή φυσικά μόρια τα οποία εφαρμόζονται για να σταθεροποιήσουν το γαλάκτωμα ή/και να αποτρέψουν την συσσωμάτωση των σωματιδίων [89]. Οι πιο διαδεδομένοι παράγοντες γαλακτωματοποίησης ή σταθεροποίησης των γαλακτωμάτων αποτελούν η PVA, η PEG, το Tween 80 ή Polysorbate 80, το Poloxamer 407, το Poloxamer 188, το Pluronic, η βιταμίνη E TPGS, η δεξτράνη, το PEO κ.α [89] [146] [147] [148]. Η PVA είναι ένα υψηλά πολικό, υδατοδιαλυτό συνθετικό πολυμερές, το οποίο αποτελεί τον ευρύτερα χρησιμοποιούμενο γαλακτωματοποιητή. Η PVA επιλέχθηκε ως το μέσο γαλακτωματοποίησης της πειραματικής διαδικασίας της παρούσας διπλωματικής εργασίας όντας μία επιτυχημένη και διαδεδομένη επιλογή επιφανειοδραστικού συστατικού.

Τέλος, η διεσπαρμένη φάση του γαλακτώματος είναι συνήθως αμιγώς οργανική (O) ή γαλακτωματοποιημένη με διεσπαρμένη υδατική φάση (O/W) όταν οι προς εγκλεισμό ενώσεις είναι υδρόφιλες. Οι συνηθέστερα χρησιμοποιούμενοι οργανικοί διαλύτες για την παρασκευή πολυμερικών νανοσωματιδίων είναι αλκοόλες (π.χ μεθανόλη, αιθανόλη, τριφθοροαιθανόλη), χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες (π.χ διχλωρομεθάνιο, χλωροφόρμιο) και ποικίλοι πολικοί απρωτικοί διαλύτες (π.χ DMF, DMSO, ακετόνη, οξικός αιθυλεστέρας) κ.α [89]. Η επιλογή του διαλύτη της διεσπαρμένης φάσης εξαρτάται από:

1. το προς διάλυση πολυμερές το οποίο πρέπει διαλύεται πλήρως στο διαλύτη,
2. οικονομικά κριτήρια (π.χ κόστος αγοράς, ικανότητα ανακύκλωσης διαλύτη),
3. σχεδιαστικά ή ποιοτικά κριτήρια (π.χ επίδραση διαλύτη στο μέγεθος και στο δείκτη πολυδιασποράς των παραγόμενων σωματιδίων, αναμειξιμότητα με τη συνεχή φάση, τάση ατμών και σημείο ζέσεως διαλύτη, ικανότητα διάλυσης της προς εγκλεισμό ουσίας κ.α),
4. κριτήρια ασφάλειας τόσο κατά το στάδιο της παρασκευής (επικινδυνότητα πρώτων υλών) όσο και κατά τη διάρκεια της εφαρμογής (π.χ βιοσυμβατότητα ή/και τοξικότητα διαλύτη που έχει ενδεχομένως παραμείνει στα σωματίδια).

Με βάση τα ανωτέρω κριτήρια επιλέχθηκε ως διαλύτης του PLA 4042D το διχλωρομεθάνιο (DCM), αφού αυτό μαζί με το χλωροφόρμιο αποτελούσαν τους μοναδικούς ικανούς διαλύτες του συγκεκριμένου πολυμερούς. Το διχλωρομεθάνιο επιλέχθηκε έναντι του χλωροφορμίου εξαιτίας του γεγονότος ότι παρουσιάζει συγκριτικά βελτιωμένες εικόνες εγκλεισμών [146] και είναι λιγότερο τοξικό υλικό [92]. Ωστόσο, τόσο το διχλωρομεθάνιο όσο και το χλωροφόρμιο αποτελούν τοξικούς διαλύτες οπότε σταδιακά εγκαταλείπονται ως υποψήφιοι διαλύτες για εγκλεισμούς και αντικαθίστανται από λιγότερο τοξικές ενώσεις όπως ο οξικός αιθυλεστέρας και η ακετόνη [80] [90] [92].

Για την περίπτωση της άλλης ποιότητας PLA (PLI 005), το πολυμερές ήταν διαλυτό στους προαναφερθέντες χλωριωμένους διαλύτες, στον οξικό αιθυλεστέρα αλλά και στην ακετόνη. Επιλέχθηκε η χρήση της ακετόνης ως διαλύτη του πολυμερούς και βασικό συστατικό της οργανικής φάσης όντας ένα πλήρως αναμειξιμο με την υδατική φάση συστατικό, το οποίο δίνει τη δυνατότητα χρησιμοποίησης της τεχνικής της αυθόρμητης γαλακτωματοποίησης. Η τελευταία δεν απαιτεί τη χρήση εξωτερικής πηγής ενέργειας (π.χ συσκευή υπερήχων) για τη γαλακτωματοποίηση. Αυτό το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της ακετόνης συγκριτικά με το μερικώς αναμειξιμο με το νερό οξικό αιθυλεστέρα (90 g L^{-1} , $20 \text{ }^\circ\text{C}$ [92]) προσφέρει μεγαλύτερη ευελιξία στο σχεδιασμό και χαμηλότερο κόστος παραγωγής σωματιδίων. Ωστόσο, στην περίπτωση του εγκλεισμού του Zinc Pyrithione στο PLI 005 χρησιμοποιήθηκε το διχλωρομεθάνιο ως διαλύτης της οργανικής φάσης εξαιτίας της πολύ χαμηλής διαλυτότητας της ένωσης στην ακετόνη. Ακόμα και στο διχλωρομεθάνιο το ZPT παρουσιάζει χαμηλή διαλυτότητα ($\sim 3 - 5 \text{ mg ml}^{-1}$).

Τέλος, οι προς εγκλεισμό ενώσεις δύναται να διακριθούν σε υδρόφοβες και υδρόφιλες. Οι υδρόφοβες ενώσεις διαλύονται απευθείας στο διαλύτη του πολυμερούς εφόσον είναι διαλυτές σε αυτόν ή διαλύονται σε έναν τρίτο αναμιξιμο με το διαλύτη του πολυμερούς, αλλά κατά προτίμηση όχι και με τη συνεχή φάση, διαλύτη. Από την άλλη μεριά, τα υδρόφιλα συστατικά εγκλείονται συνήθως με τη δημιουργία γαλακτωμάτων τύπου W/O/W προκειμένου να αποφευχθούν όσο το δυνατό φαινόμενα μετανάστευσης της προς εγκλεισμό ένωσης προς την υδατική φάση πριν το σχηματισμό των σωματιδίων. Τα ενισχυτικά βιοκτόνα που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία (Irgarol, Econea, Zinc Pyrithione) είναι υδρόφοβα με τα δύο πρώτα διαλυτά τόσο στην ακετόνη όσο και στο διχλωρομεθάνιο δηλαδή στους διαλύτες των πολυμερών PLI 005 και 4042D αντίστοιχα.

b. Πειραματική διαδικασία προετοιμασίας φάσεων

Αρχικά παρασκευάστηκε υδατικό διάλυμα πολυ(βινυλικής αλκοόλης) (PVA) περιεκτικότητας 1 % w/v με σκοπό τη χρησιμοποίησή του ως υδατική/συνεχή φάση στις δοκιμές εγκλεισμών που πραγματοποιήθηκαν. Ζυγίστηκαν και ογκομετρήθηκαν 10 g PVA και 1000 ml υπερκάθαρου νερού αντίστοιχα και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε γυάλινο δοχείο του 1 L. Το σύστημα αφέθηκε υπό ήπιας έντασης μαγνητική ανάδευση και επί 16 ώρες στους 40 – 50 °C μέχρι πλήρους διαλύσεως του πολυμερούς στο νερό. Το παραγόμενο διαυγές διάλυμα φυλάχθηκε στο κλειστό δοχείο υπό σκιά και αποτέλεσε το σημείο άντλησης της υδατικής φάσης πριν από κάθε πείραμα.



Σχήμα 4.7. Διάταξη παρασκευής υδατικού διαλύματος 1% w/v PVA και δοχείο αποθήκευσης

Όσον αφορά τις οργανικές φάσεις, αυτές προετοιμάζονταν πριν από κάθε πείραμα και δεν επιδέχονταν αποθήκευση. Πιο συγκεκριμένα, αρχικά ζυγίστηκαν περίπου 50 mg του πολυ(γαλακτικού οξέος) των εγκλεισμών PLI 005, περίπου 20 mg της εκάστοτε ένωσης και ογκομέτρηση 5 ml ακετόνης, για τα κενά σωματίδια, τα σωματίδια με Irgarol και τα σωματίδια με Econea, ή διχλωρομεθάνιο, για τα σωματίδια με Zinc Pyrithione. Οι πολυμερικοί κόκκοι, η εκάστοτε ένωση προς εγκλεισμό και ο οργανικός διαλύτης τοποθετήθηκαν σε ταπωμένο δοκιμαστικό σωλήνα και αναδεύτηκαν σε αναδευτήρα Vortex μέχρι πλήρους διαλύσεως των πολυμερικών κόκκων (διαδικασία της τάξης των 10 – 20 λεπτών) και της ένωσης στο διαλύτη οδηγώντας σε πολυμερικό διάλυμα συγκέντρωσης 10 mg ml^{-1} και αναλογίας πολυμερούς/προς εγκλεισμό ένωσης 2,5 : 1.

II. Διεργασία γαλακτωματοποίησης

a. Γενικά στοιχεία περί της διεργασίας γαλακτωματοποίησης

Η διεργασία της γαλακτωματοποίησης αποτελεί μαζί με τη διεργασία απομάκρυνσης του διαλύτη της διεσπαρμένης φάσης τα βασικότερα στάδια παρασκευής των πολυμερικών νανοσωματιδίων. Σε αυτό το στάδιο, οι φάσεις που προετοιμάστηκαν πρωτύτερα αναμιγνύονται και σε συνδυασμό με την παροχή εξωτερικής πηγής ενέργειας (συνήθως για μη αναμειξιμους ή μερικώς αναμειξιμους με το νερό διαλύτες) ή αυθόρμητα (για πλήρως αναμειξιμους με το νερό διαλύτες όπου λαμβάνει χώρα ταχεία διάχυση) σχηματίζουν ένα γαλάκτωμα συνήθως τύπου O/W.

Η εξωτερική πηγή ενέργειας είναι συνήθως συσκευές παραγωγής υπερήχων, είτε με τη μορφή λουτρού (sonication bath) είτε συχνότερα με τη μορφή ακίδας (sonication probe), είτε συσκευές παραγωγής μηχανικών διατμητικών τάσεων όπως υψηλής-διάτμησης αναδευτήρες (high-shear stirrer) ή υψηλής-πίεσης ομογενοποιητές (high-pressure homogenizers) [149]. Η χρήση εξωτερικής πηγής ενέργειας είναι προαπαιτούμενο σε συστήματα τα οποία δεν γαλακτωματοποιούνται αυθόρμητα από το χημικό δυναμικό των συστατικών τους. Κατά τη διάρκεια της διεργασίας γαλακτωματοποίησης λαμβάνουν χώρα τα επόμενα γεγονότα [149]:

1. διάσπαση της μη συνεχούς φάσης σε σταγονίδια,
2. προσρόφηση των μορίων του επιφανειοδραστικού συστατικού στα σχηματιζόμενα σταγονίδια και
3. συγκρούσεις των σταγονιδίων οι οποίες δύναται να οδηγήσουν σε συνενώσεις σχηματίζοντας μεγαλύτερου μεγέθους σταγονίδια.

Οι ανωτέρω διαδικασίες μπορούν να συμβούν ταυτόχρονα κατά τη διάρκεια της γαλακτωματοποίησης, αφού κάθε ένα από τα παραπάνω γεγονότα διαρκεί ελάχιστα (της τάξης των msec) [149]. Η διάσπαση σε μικρότερα σταγονίδια είναι εφικτή όταν η δύναμη απόσπασης/παραμόρφωσης (deforming force) είναι ισχυρότερη από την αντίστοιχη διεπιφανειακή δύναμη (interfacial force) που τα συγκρατεί, η οποία ονομάζεται πίεση Laplace P_L και είναι η διαφορά μεταξύ της πίεσης εντός και εκτός του σταγονιδίου (4.17) [149]:

$$P_L = \gamma \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \quad (4.17)$$

όπου:

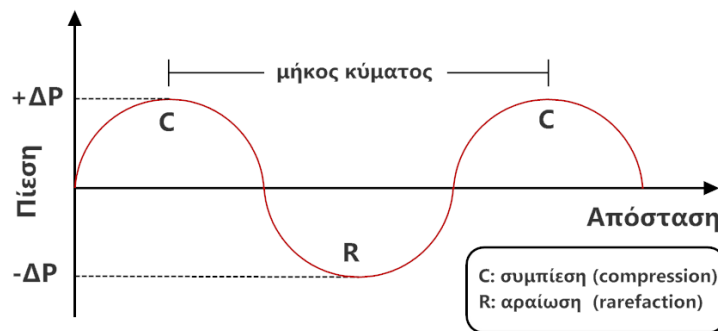
γ : η διεπιφανειακή τάση,

R_1 : η μικρότερη ακτίνα καμπυλότητας ενός παραμορφωμένου σταγονιδίου και

R_2 : η μεγαλύτερη ακτίνα καμπυλότητας ενός παραμορφωμένου σταγονιδίου.

Από την εξίσωση (4.17) είναι προφανές ότι όσο ελαττώνεται το μέγεθος των σταγονιδίων τότε απαιτείται μεγαλύτερη μεταφορά εξωτερικής ενέργειας στο σύστημα ή/και ανάγκη για μεγαλύτερη ποσότητα επιφανειοδραστικών ενώσεων τα οποία θα μπορούν να ελαττώσουν επαρκώς τη διεπιφανειακή τάση. Επομένως, όσο ελαττώνεται το μέγεθος των σταγονιδίων, ή ισοδύναμα των σχηματιζόμενων σωματιδίων, παρατηρούνται μεγαλύτερες διεπιφανειακές περιοχές τύπου O/W και το σύστημα γίνεται πιο ενεργοβόρο. Περισσότερες πληροφορίες για τη σχηματισμό και τη σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων είναι διαθέσιμες στην αναφορά [149].

Στη δεδομένη διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκε συσκευή υπερήχων με ακίδα (sonication probe). Οι υπέρηχοι είναι κύματα με συχνότητες μεγαλύτερες από 20 kHz τα οποία δίνουν τη δυνατότητα μεταφοράς ενέργειας σε ένα υγρό μέσο [150]. Οι υπέρηχοι παράγονται με τη βοήθεια του πιεζοηλεκτρικού φαινομένου. Ειδικότερα, όταν ένα φυσικό ή συνθετικό με πιεζοηλεκτρικές ιδιότητες κρυσταλλικό υλικό βρεθεί υπό την επίδραση ηλεκτρικού εναλλασσόμενου ρεύματος και υποστεί αντίστοιχες παραμορφώσεις (μεγεθύνσεις και συρρικνώσεις του κρυστάλλου) τότε παράγει ηχητικά κύματα στη συχνότητα του ηλεκτρικού ρεύματος [150]. Οπότε η ηλεκτρική ενέργεια μετατρέπεται σε μηχανική και στη συνέχεια σε ηχητική.



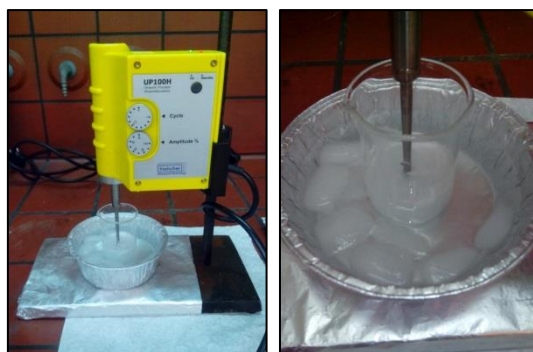
Σχήμα 4.8. Η διάδοση του ήχου σε ένα υγρό μέσο οδηγεί σε σχηματισμό περιοχών υψηλής πίεσης (compression areas) και αραιώσης (rarefaction areas)

Κατά την εφαρμογή υπερήχων σε υγρά, τα ηχητικά κύματα διαδίδονται εντός του μέσου και οδηγούν στο σχηματισμό εναλλασσόμενων περιοχών υψηλής πίεσης (συμπίεση ή compression) και χαμηλής πίεσης ή πυκνότητας (αραιώση ή rarefaction) (Σχήμα 4.8) [151]. Η διάδοση της ενέργειας πραγματοποιείται με την κίνηση των μορίων του μέσου. Κατά τον κύκλο χαμηλής πίεσης, τα υψηλής ενέργειας υπερηχητικά κύματα δημιουργούν μικρές φυσαλίδες κενού στο υγρό μέσο, δηλαδή η πίεση γίνεται τοπικά ίση ή μικρότερη από την τάση ατμών στη δεδομένη θερμοκρασία [151]. Οι δομές των φυσαλίδων καταρρέουν τελικά βιαία κατά τον κύκλο υψηλής πίεσης [151]. Αυτό το φαινόμενο ονομάζεται σπηλαίωση (cavitation) και περιγράφεται ως η διαδικασία σχηματισμού, ανάπτυξης και κατάρρευσης των φυσαλίδων σε ένα υγρό μέσο [151]. Κατά την καταστροφή των δομών των φυσαλίδων απελευθερώνονται μεγάλες ποσότητες ενέργειας τόσο υπό τη μορφή θερμότητας, αλλά και υδροδυναμικής ενέργειας ($T \sim 5000$ °C και $P \sim 2000$ atm) [151]. Επομένως, οι υπέρηχοι υποβοηθούν τη γαλακτωματοποίηση εξασφαλίζοντας αποτελεσματικότερη ανάμειξη μεταξύ της συνεχούς και της προς διασπορά φάσης.

Τα παραγόμενα γαλακτώματα με τη βοήθεια υπερήχων είναι συνήθως σταθερότερα από τα συμβατικά γαλακτώματα και απαιτούν μικρότερες ποσότητες ή και καθόλου επιφανειοδραστικές ενώσεις [151]. Οι δυνατότητες ελέγχου, ρύθμισης και ευελιξίας που προσφέρουν οι συσκευές παραγωγής υπερήχων δίνουν τη δυνατότητα παραγωγής γαλακτωμάτων με μικρότερα μεγέθη σταγονιδίων και λιγότερο ευρείες κατανομές μεγεθών [151]. Αυτός είναι και ο λόγος που χρησιμοποιήθηκε συσκευή υπερήχων κατά την πειραματική διαδικασία παρά το γεγονός ότι η ακετόνη (διαλύτης του πολυμερούς PLI 005, των προς εγκλεισμός ενώσεων Irgarol και Ecomea καθώς και βασικό συστατικό της οργανικής φάσης) δύναται να γαλακτωματοποιηθεί αυθόρμητα και δεν απαιτεί εξωτερική πηγή ενέργειας. Τέλος, σημαντικό προς αναφορά είναι το γεγονός ότι η χρήση υπερήχων πρέπει να αποφεύγεται όταν οι προς εγκλεισμό ενώσεις είναι ευαίσθητες στη θερμοκρασία, αφού η βίαιη σπηλαίωση των φυσαλίδων συνοδεύεται από τοπική απελευθέρωση θερμότητας.

b. Πειραματική διαδικασία γαλακτωματοποίησης

Κατά την πειραματική διαδικασία της γαλακτωματοποίησης χρησιμοποιήθηκαν οι προπαρασκευασμένες φάσεις της σελίδας 71 σε αναλογία όγκων v/v οργανικής προς υδατική φάση 1 : 5 . Επομένως, τα εκάστοτε 5 ml της οργανικής φάσης αντιστοιχήθηκαν με 25 ml από την προπαρασκευασμένη υδατική φάση.



Σχήμα 4.9. Διάταξη γαλακτωματοποίησης με συσκευή υπερήχων με ακίδα (probe)

Αρχικά, ποτήρι ζέσεως των 50 ml τοποθετήθηκε σε παγόλουτρο, για την εξασφάλιση της ψύξης του συστήματος κατά τη γαλακτωματοποίηση, και κάτω από τη συσκευή παραγωγής υπερήχων (UP100H ultrasonic processor, Hielscher) με την άκρη της ακίδας στο ύψος της στάθμης των 20 ml του δοχείου. Ακολούθως, πραγματοποιήθηκε προσεχτική απόχυση του μισού όγκου (περίπου 12,5 ml) της υδατικής φάσης εντός του δοχείου και στη συνέχεια απόχυση της οργανικής φάσης και της υπόλοιπης υδατικής φάσης. Η συσκευή υπερήχων τέθηκε υπό λειτουργία ταυτόχρονα με την απόχυση της υπόλοιπης υδατικής φάσης εντός του δοχείου. Οι ρυθμίσεις της συσκευής ήταν συνεχής λειτουργία (Cycle = 1) στα 100 Watt (ονομαστική ισχύς) και στα 30 kHz. Η χρονική διάρκεια λειτουργίας των υπερήχων ρυθμίστηκε στα 6 λεπτά λαμβάνοντας υπόψη τους αντίστοιχους βιβλιογραφικούς χρόνους λειτουργίας της ίδιας συσκευής υπερήχων για παρόμοιους εγκλεισμούς [152] [153] [154] [155] [156] [157] και τα αποτελέσματα των πειραμάτων. Η πειραματική διάταξη της γαλακτωματοποίησης συνοψίζεται στο Σχήμα 4.9.

III. Διεργασία απομάκρυνσης οργανικού διαλύτη

a. Γενικά στοιχεία περί της διεργασίας απομάκρυνσης του οργανικού διαλύτη

Η αμέσως επόμενη διαδικασία της γαλακτωματοποίησης στην τεχνική γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης του διαλύτη είναι η διεργασία απομάκρυνσης του διαλύτη της οργανικής ή διεσπαρμένης φάσης και συγκεκριμένα με την εξάτμισή του. Κατά τη διαδικασία της εξάτμισης, είτε αυτή πραγματοποιείται με τη βοήθεια εξατμιστήρα υπό κενό είτε με απλή μαγνητική ανάδευση ή/και ελαφρά θέρμανση, οι επιφανοδραστικές ενώσεις προσροφώνται στη διεπιφάνεια O/W των σταγονιδίων και καθώς ο διαλύτης της οργανικής φάσης εξατμίζεται τα σταγονίδια στερεοποιούνται προς σωματιδιακές δομές. Οι συνθήκες εξάτμισης (θερμοκρασία, πίεση, μέθοδος εξάτμισης) επηρεάζουν σε σημαντικό βαθμό τα χαρακτηριστικά των παραγόμενων σωματιδίων. Στο τέλος της διαδικασίας εξάτμισης λαμβάνονται διασπορές πολυμερικών σωματιδίων στο συνεχές υδατικό μέσο. Στην επιφάνεια των σωματιδίων είναι προσροφημένα επιφανειοδραστικά συστατικά του μέσου διασποράς.

b. Πειραματική διαδικασία απομάκρυνσης του οργανικού διαλύτη

Τα παραγόμενα τύπου O/W γαλακτώματα μεταφέρθηκαν με το ίδιο ποτήρι της διαδικασίας γαλακτωματοποίησης σε μαγνητική βάση προκειμένου να υποστούν μεσαίας έντασης ανάδευση για 16 ώρες σε ατμοσφαιρικές συνθήκες μέχρι πλήρους εξατμίσεως του οργανικού διαλύτη της διεσπαρμένης φάσης. Το Σχήμα 4.10 συνοψίζει τη διάταξη της διεργασίας απομάκρυνσης του οργανικού διαλύτη υπό μαγνητική ανάδευση σε ατμοσφαιρικές συνθήκες.



Σχήμα 4.10. Μακροσκοπική εικόνα O/W γαλακτωμάτων μετά τη διαδικασία γαλακτωματοποίησης και διάταξη απομάκρυνσης του οργανικού διαλύτη υπό μαγνητική ανάδευση

Επιπλέον, πραγματοποιήθηκαν πειράματα όπου αντί για απλή μαγνητική ανάδευση των γαλακτωμάτων χρησιμοποιήθηκε περιστροφικός εξατμιστήρας (rotary evaporator). Οι συνθήκες λειτουργίας του εξατμιστήρα ήταν η θερμοκρασία περιβάλλοντος και χαμηλές πιέσεις οι οποίες κυμαίνονταν από 50 έως 300 mbar για περισσότερες από 2 ώρες ανάλογα με το γαλάκτωμα και με στόχο την αποφυγή μακροσκοπικού αφρισμού κατά την εξάτμιση. Χρήσιμες παρατηρήσεις για τη διαδικασία εξάτμισης και τα προβλήματα πειραματικού σχεδιασμού της καταγράφονται στο αντίστοιχο κεφάλαιο των αποτελεσμάτων στη σελίδα 134.

IV. Διεργασία φυγοκέντρωσης διασπορών και έκπλυσης σωματιδίων

a. Γενικά στοιχεία περί της διεργασίας φυγοκέντρωσης των διασπορών και της έκπλυσης σωματιδίων

Μετά την διαδικασία εξάτμισης του οργανικού διαλύτη παραλαμβάνονται υδατικές διασπορές πολυμερικών νανοσωματιδίων τα οποία φέρουν προσροφημένα μόρια σταθεροποιητή/επιφανειοδραστικών ενώσεων στην επιφάνειά τους. Τα περισσότερα επιφανειοδραστικά μόρια για εφαρμογές εγκλεισμών θέτουν ζητήματα ασφάλειας και τοξικότητας, όπως για παράδειγμα η PVA η οποία χρησιμοποιείται στη δεδομένη διπλωματική εργασία [158]. Φυσικά, η αυστηρότητα της παρουσίας ή μη επιφανειοδραστικών ενώσεων στα πολυμερικά νανοσωματίδια εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από την εκάστοτε εφαρμογή. Για παράδειγμα, η χορήγηση των σωματιδίων σε ζωντανούς οργανισμούς όπως ο άνθρωπος προϋποθέτει σε κάθε περίπτωση απουσία επικίνδυνων ή αμφιλεγόμενης ασφάλειας συστατικών, όπως για παράδειγμα η PVA για την οποία τίθενται ζητήματα ασφαλείας εξαιτίας των ενδεχόμενων παρενεργειών της [159] [160]. Στο πλαίσιο αυτό, μία συνήθης πρακτική είναι η φυγοκέντρωση ή το φιλτράρισμα των διασπορών και στη συνέχεια η έκπλυση (washing) των σωματιδίων με καθαρό διαλύτη ο οποίος στις περισσότερες περιπτώσεις είναι το νερό [81] [158]. Η ανωτέρω διπλή διαδικασία (απομόνωση σωματιδίων – έκπλυση) πραγματοποιείται συνήθως περισσότερες από μία φορές [81].

Πέρα από την αφαίρεση των επιφανειοδραστικών ενώσεων από την επιφάνεια των σωματιδίων, οι διαδικασίες απομόνωσης των στερεών σωματιδίων από τις διασπορές συνοδευόμενες από εκπλύσεις με καθαρό διαλύτη πραγματοποιούνται και για τους επόμενους λόγους:

1. Αφαίρεση/έκπλυση μη εγκλεισμένων δραστικών ενώσεων: όσες ενώσεις δεν κατάφεραν να εγκλειστούν κατά την πειραματική διαδικασία καταλήγουν είτε στην κύρια συνεχή φάση είτε προσροφημένες τοπικά στην επιφάνεια των σωματιδίων. Αυτό μεταβάλλει τα χαρακτηριστικά της επιφάνειάς τους και επομένως τις ιδιότητές τους (π.χ προφίλ αποδέσμευσης, ζ-δυναμικό, μετρούμενο μέγεθος σωματιδίων κ.α), αλλά και απορυθμίζει τον έλεγχο και την ικανότητα προσδιορισμού των χαρακτηριστικών τους (π.χ απόδοση εγκλεισμού).
2. Απομάκρυνση σωματιδίων ανεπιθύμητου μεγέθους και συσσωματωμάτων: μία σχετικά συχνά παρατηρούμενη πρακτική στη βιβλιογραφία είναι η πραγματοποίηση μίας αρχικής σύντομης φυγοκέντρωσης σε χαμηλές ταχύτητες περιστροφής (π.χ 5000 rpm για 5 λεπτά [161]) ή η χρήση φίλτρων με μεγάλα διάκενα προκειμένου να αφαιρεθούν σωματίδια ανεπιθύμητου (μεγάλου) μεγέθους και συσσωματωμάτων. Αυτό συμβαίνει διότι ορισμένες εφαρμογές, κυρίως ιατροφαρμακευτικές, προϋποθέτουν στενές κατανομές μεγεθών και σωματίδια της τάξης των μερικών nm.

Στη δεδομένη διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της φυγοκέντρωσης ως η μέθοδος απομόνωσης των σωματιδίων από τις διασπορές τους.

Η φυγοκέντρωση αποτελεί μία οικονομική, ευρέως εφαρμοζόμενη φυσική διεργασία απομόνωσης στερεών σωματιδίων από υγρά μέσα. Ο νόμος του Stokes (5.3) περιγράφει και συσχετίζει τα μεγέθη που επηρεάζουν την ταχύτητα καταβύθισης v_S ενός τέλει σφαιρικού σωματιδίου υπό την επίδραση της βαρύτητας g [162]:

$$v_S = \frac{2}{18} \frac{D_P^2 (\rho_P - \rho_F)}{\eta_F} g \quad (4.18)$$

όπου:

D_P : η διάμετρος του σφαιρικού σωματιδίου,

ρ_P : η πυκνότητα του σωματιδίου,

ρ_F : η πυκνότητα του ρευστού και

η_F : το δυναμικό ιξώδες του ρευστού.

Δύο ακόμα ιδιαίτερα σημαντικές εξισώσεις σχετικές με τη διεργασία της φυγοκέντρωσης διασπορών σωματιδίων είναι η εξίσωση (4.19) και (4.21). Η (4.19) συσχετίζει το εφαρμοζόμενο φυγοκεντρικό πεδίο G (centrifugal field) σε ένα σημείο σε απόσταση r από τον άξονα περιστροφής με τη γωνιακή ταχύτητα περιστροφής ω_R του ρότορα (rotor) της φυγοκέντρου [162]:

$$G = \frac{4 \pi^2 \omega_R^2 r}{3600} \quad (4.19)$$

όπου:

G : το φυγοκεντρικό πεδίο σε (cm sec^{-2}),

ω_R : τη γωνιακή ταχύτητα περιστροφής του ρότορα της φυγοκέντρου (rpm) και

r : η απόσταση ενός σημείου από τον άξονα περιστροφής (cm).

Από το λόγο του φυγοκεντρικού πεδίου G προς την επιτάχυνση της βαρύτητας g προκύπτει το μέγεθος του σχετικού φυγοκεντρικού πεδίου RCF (relative centrifugal field) το οποίο είναι ένα αδιάστατο νούμερο που περιγράφει τον αριθμό πολλαπλότητας του G σε g [162]:

$$RCF = \frac{4 \pi^2 \omega_R^2 r}{3600 \cdot 981} = \frac{G}{g} \quad (4.20)$$

Τέλος, η εξίσωση (4.21) [162], η οποία προκύπτει από την εξίσωση (5.3) με πράξεις, συσχετίζει το RCF με τη γωνιακή ταχύτητα περιστροφής του ρότορα της φυγοκέντρου ω_R , το οποίο μέγεθος είναι αυτό που ρυθμίζεται από το χρήστη σε μία διάταξη φυγοκέντρωσης, και τα χαρακτηριστικά της κεφαλής όπου τοποθετούνται τα σωληνάρια (tubes) με τις διασπορές προς φυγοκέντρωση (πρακτικά η απόσταση r):

$$RCF = 1,12 \times 10^{-5} \omega_R^2 r \quad (4.21)$$

Επομένως, τα rpm που ρυθμίζει ο χρήστης στη φυγόκεντρο είναι μία ελλιπής πληροφορία γεγονός που παρατηρείται συχνά στη βιβλιογραφία περί εγκλεισμών ενώσεων. Το περιεχόμενο της προηγούμενης πληροφορίας αποκτά ουσία μόνο όταν συνοδευτεί από στοιχεία για το μοντέλο της διάταξης φυγοκέντρωσης και της κεφαλής που χρησιμοποιήθηκε κατά την πειραματική διαδικασία. Ισοδύναμα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί απευθείας ο όρος του σχετικού φυγοκεντρικού πεδίου *RCF*.

b. Πειραματική διαδικασία διεργασίας φυγοκέντρωσης των διασπορών και έκπλυσης των σωματιδίων

Η διεργασία απομόνωσης των σωματιδίων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια διάταξης φυγοκέντρωσης (Sorvall RC 28S, DuPont) και χρήση της κεφαλής Sorvall F-28/50. Οι διασπορές, αφού συμπληρώθηκαν με υπερκάθαρο νερό μέχρι τελικού όγκου 30 ml, αποχύθηκαν προσεχτικά εντός πλαστικών σωληναρίων τύπου Oak Ridge των 50 ml. Ο αριθμός των σωληναρίων στην κεφαλή ήταν πάντα ζυγός και τα σωληνάρια ήταν τοποθετημένα αντιδιαμετρικά. Η ολική μάζα των σωληναρίων ήταν κοινή για όλα τα σωληνάρια με ακρίβεια ενός δεκαδικού προκειμένου να εξασφαλιστεί η εύρυθμη και ισορροπημένη περιστροφή της κεφαλής. Η φυγόκεντρος ρυθμίστηκε στις 12.000 rpm για λειτουργία 20 λεπτών σε θερμοκρασία 0 °C. Οι στροφές αυτές αντιστοιχίζονται σε *RCF* της τάξης των 18.500 και κρίνονται ικανοποιητικές για το δεδομένο χρόνο σύμφωνα με τη βιβλιογραφία [163].



Σχήμα 4.11. Διάταξη φυγοκέντρωσης Sorvall RC 28S DuPont (αριστερά), κεφαλή φυγοκέντρωσης Sorvall F-28/50 (κέντρο) και σωληνάρια τύπου Oak Ridge των 50 ml με σχηματισμένα pellet σωματιδίων στα τοιχώματά τους

Μετά τη διαδικασία της φυγοκέντρωσης σχηματιζόταν μία χαρακτηριστική συγκέντρωση των πολυμερικών σωματιδίων (pellet) στο τοίχωμα των σωληναρίων (Σχήμα 4.11). Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε προσεχτική, ώστε να μη διαταραχθεί το pellet, απόχυση των υπερκείμενων υγρών (supernatants) και φύλαξη έκαστου σε ξεχωριστό δοχείο για περαιτέρω επεξεργασία μέσω φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού (σελίδα 92). Έπειτα, προστέθηκε μικρή ποσότητα υπερκάθαρου νερού (~10 ml) στα σωληνάρια και ανάδευση σε διάταξη Vortex για όσο χρόνο χρειαζόταν

μέχρι εξασφάλισης πλήρους επαναδιασποράς και ικανοποιητικού τεμαχισμού του pellet. Ακολούθως, προστέθηκε υπερκάθαρο νερό μέχρι τελικού όγκου 30 ml και επανάληψη όλης της ανωτέρω διαδικασίας τρεις φορές. Μετά το τέλος της τρίτης φυγοκέντρωσης και αφαίρεσης-φύλαξης των υπερκείμενων, πραγματοποιήθηκε προσθήκη 3 ml υπερκάθαρου νερού και επαναδιασπορά του pellet με τη βοήθεια συσκευής υπερήχων με ακίδα (UP100H ultrasonic processor, Hielscher) παρουσία παγόλουτρου στα 40 Watt για 1 με 2 λεπτά ανάλογα με το χρόνο που χρειαζόταν για πλήρη επαναδιασπορά και ολικό τεμαχισμό του pellet. Οι προκύπτουσες διασπορές ήταν ιδιαίτερα γαλακτώδεις εξαιτίας της μεγάλης συγκέντρωσης σωματιδίων στο δεδομένο όγκο. Στη συνέχεια οι διασπορές αποχύθηκαν από τα σωληνάρια σε ποτήρια ζέσεως των 15 ml. Από αυτές τις διασπορές ελήφθησαν 40 μl με τη βοήθεια πιπέτας για τον προσδιορισμό των ιδιοτήτων των σωματιδίων μέσω δυναμικής σκέδασης φωτός πριν την απομόνωσή τους από τις διασπορές τους (σελίδα 89). Η υπόλοιπη διασπορά από κάθε δείγμα οδηγήθηκε στο επόμενο στάδιο της πειραματικής διαδικασίας που περιγράφει το ακόλουθο υποκεφάλαιο.

4.2.4 Πειραματική διαδικασία απομόνωσης νανοσωματιδίων

a. Γενικά στοιχεία περί της διαδικασίας απομόνωσης των σωματιδίων μέσω της διεργασίας λυοφιλοποίησης

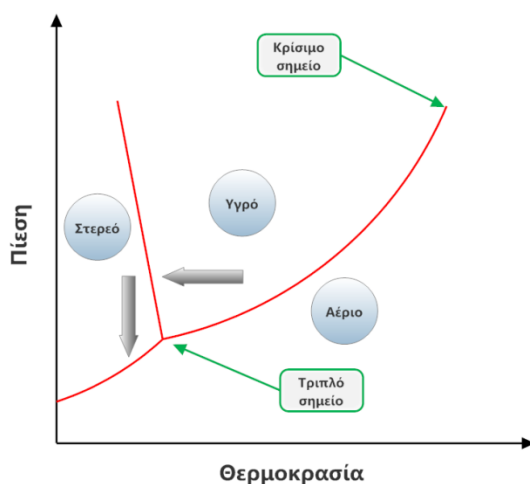
Η διαδικασία απομόνωσης ή ξήρανσης των νανοσωματιδίων από το μέσο διασποράς που βρίσκονται μετά τις διεργασίες έκπλυσής τους αποτελεί μία συνήθη πρακτική για την αύξηση του χρόνου ζωής των σωματιδίων [81]. Με την απομόνωση των σωματιδίων σε ξηρή μορφή επιτυγχάνεται ελαχιστοποίηση του ρίσκου [81] [164]:

1. μικροβιακής μόλυνσης,
2. πρώιμης αποικοδόμησης του πολυμερικού φορέα, όπως για παράδειγμα στην περίπτωση του PLA που πρόκειται για ένα υδρολύσιμο βιοδιασπώμενο πολυμερές,
3. φυσικοχημικής αστάθειας των σωματιδίων εξαιτίας φαινομένων συσσωμάτωσης και καταβύθισης,
4. απελευθέρωσης της ένωσης από τα σωματίδια προς το μέσο διασποράς και
5. ενδεχόμενης απώλειας της ενεργότητας της εγκλεισμένης ένωσης εξαιτίας χημικών ή φυσικών αλληλεπιδράσεων με το υγρό περιβάλλον των σωματιδίων.

Οι συχνότερα χρησιμοποιούμενες τεχνικές απομόνωσης των σωματιδίων από τα υδατικά μέσα διασποράς που συνήθως βρίσκονται είναι η ξήρανση με κατάψυξη (freeze drying) και η ξήρανση με εκνέφωση (spray drying) [81]. Οι συγκεκριμένες τεχνικές χρησιμοποιούνται ευρύτατα σε βιομηχανική κλίμακα τόσο σε φαρμακευτικά προϊόντα όσο και σε τρόφιμα. Περιληπτικές πληροφορίες για τις δύο τεχνικές είναι διαθέσιμες στην αναφορά [81]. Για την εφαρμογή της ξήρανσης με κατάψυξη σε διασπορές νανοσωματιδίων πραγματοποιείται εκτενής ανάλυση στην αναφορά [164].

Στη δεδομένη διπλωματική εργασία επιλέχθηκε η τεχνική ξήρανσης με κατάψυξη για την απομόνωση των σωματιδίων από τις υδατικές διασπορές που βρίσκονταν. Η ξήρανση με κατάψυξη, γνωστή και ως λυοφιλοποίηση (Lyophilization), λυοφιλίωση ή κρυοξήρανση (cryo-drying), αποτελεί την πιο διαδεδομένη μέθοδο πλήρους αφαίρεσης του υγρού (συνήθως υδατικού) περιβάλλοντος των πολυμερικών σωματιδίων [164]. Η βασική αρχή της δεδομένης διεργασίας είναι η αφαίρεση του υδατικού περιεχομένου από ένα κατεψυγμένο δείγμα με εξάχνωση και εκρόφηση υπό κενό [81] [164]. Λαμβάνοντας υπόψη το διάγραμμα φάσεων πίεσης-θερμοκρασίας του νερού, η διαδικασία ξήρανσης με κατάψυξη ακολουθεί μία αριστερόστροφη πορεία γύρω από το τριπλό σημείο όπως απεικονίζεται γραφικά στο Σχήμα 4.12. Εν γένει, τα στάδια της λυοφιλοποίησης δύναται να διακριθούν στα εξής [81]:

1. Κατάψυξη (στερεοποίηση του δείγματος),
2. Βασική ξήρανση, η οποία αντιστοιχίζεται στην εξάχνωση του υδατικού πάγου,
3. Δευτερεύουσα ξήρανση, η οποία αντιστοιχίζεται στην εκρόφηση του αεριοποιημένου μη-παγωμένου νερού.



Σχήμα 4.12. Ποιοτικό διάγραμμα φάσεων πίεσης - θερμοκρασίας νερού και απεικόνιση μεταβολής φυσικών καταστάσεων νερού κατά τη λυοφιλοποίηση

Κατά τη διαδικασία ξήρανσης με κατάψυξη προκύπτουν πολλές φορές προβλήματα τα οποία επηρεάζουν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των σωματιδίων [81]. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το γεγονός ότι η κρυστάλλωση του νερού δύναται να οδηγήσει ενδεχομένως σε άσκηση μηχανικών τάσεων στα σωματίδια μεταβάλλοντας τα χαρακτηριστικά τους, ειδικά αν πρόκειται για νανοκάψουλες οι οποίες είναι ιδιαίτερα εύθραυστες [164]. Η υψηλή συγκέντρωση νανοσωματιδίων μετά τη διαδικασία λυοφιλοποίησης μπορεί να ευνοήσει ανεπιθύμητα φαινόμενα συσσωμάτωσης και σε ορισμένες περιπτώσεις ακόμα και αναντίστροφες συνενώσεις σωματιδίων [81]. Για την αποφυγή των ανωτέρω προβλημάτων και προς ενίσχυση της διατηρησιμότητας των νανοσωματιδίων χρησιμοποιούνται πολλές φορές ενώσεις με κρυοπροστατευτικές ιδιότητες. Τα κρυοπροστατευτικά (cryoprotectants) λειτουργούν ως σταθεροποιητικά μόρια κατά τα στάδια ψύξης και ξήρανσης [164].

Σάκχαρα όπως η τρεχαλόζη, η μαννόζη, η σουκρόζη, η γλυκόζη, η λακτόζη, η μαλτόζη και η μαννιτόλη χρησιμοποιούνται ως σταθεροποιητικά κρυοπροσταυτικά σε διάφορες συγκεντρώσεις για εφαρμογές λυοφιλοποίησης νανοσωματιδιακών διασπορών [81] [165] [166] [167]. Η αναλογία μάζας κροπροστατευτικού και νανοσωματιδίων αποτελεί μία κρίσιμη και ευαίσθητη παράμετρο για την επιτυχή πραγματοποίηση μίας διεργασίας λυοφιλοποίησης χωρίς παρενέργειες στις δομές των σωματιδίων [81] [164].

b. Πειραματική διαδικασία απομόνωσης των σωματιδίων μέσω της διεργασίας λυοφιλοποίησης

Τα ποτήρια ζέσεως των 15 ml που περιείχαν τις πυκνές υδατικές διασπορές νανοσωματιδίων καλύφθηκαν με αλουμινόχαρτο ώστε να μειωθεί η πιθανότητα εισόδου τρίτων συστατικών (π.χ σκόνες) από το περιβάλλον στη διασπορά. Στο αλουμινόχαρτο διανοίχτηκε πλήθος οπών με τη βοήθεια βελόνας για την ομαλή πραγματοποίηση φαινομένων μεταφοράς θερμότητας (συναγωγή για την ψύξη του δείγματος) και μάζας (ελεγχόμενη αφαίρεση νερού που έχει υποστεί εξάχνωση κατά το στάδιο της δευτερεύουσας ξήρανσης). Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε κατάψυξη στους $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ για περίπου 30 λεπτά μέχρι πλήρους στερεοποίησης του υγρού μέσου διασποράς. Στη συνέχεια μεταφέρθηκαν στο θάλαμο της συσκευής λυοφιλοποίησης (Christ Alpha 1–4, B. Braun Biotech International) η οποία λειτουργούσε σε θερμοκρασία $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ και υπό κενό με τη βοήθεια αντλίας. Τα δείγματα αφέθηκαν για 16 ώρες στο θάλαμο λυοφιλοποίησης.



Σχήμα 4.13. Στερεό αφράτο στρώμα/κέικ μετά τη διαδικασία λυοφιλοποίησης

Μετά την ανωτέρω διαδικασία προέκυψε στον πυθμένα των ποτηριών ένα λευκό στρώμα με αφράτη (fluffy) υφή σαν βαμβάκι (Σχήμα 4.13), μορφολογία η οποία συναντάται στη βιβλιογραφία [168] [169] [170]. Το στρώμα, το οποίο αποδίδεται και με τον όρο κέικ (cake), μπορούσε να αποκολληθεί εύκολα από τα τοιχώματα του δοχείου. Αφού πραγματοποιήθηκε ζύγιση των στερεών δειγμάτων για την εύρεση της συνολικής απόδοσης της διεργασίας (yield), ακολούθησαν δοκιμές, οι οποίες ήταν επιτυχείς, για τη διερεύνηση της ικανότητας πλήρους διασποράς τους σε υπερκάθαρο υδατικό συνεχές μέσο με τη βοήθεια συσκευής υπερήχων με ακίδα.

4.3 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων

Μετά την παραγωγή των σωματιδίων ακολουθεί η διαδικασία χαρακτηρισμού τους ή με άλλα λόγια η ταυτοποίηση του αποτελέσματος των εγκλεισμών και των κύριων χαρακτηριστικών των σωματιδίων. Για την αποτελεσματικότητα των εγκλεισμών εφαρμόζονται δύο χρήσιμες έννοιες:

1. η απόδοση εγκλεισμού (encapsulation efficiency ή E.E) και

$$E.E = \frac{[\text{μάζα εγκλεισμένης ένωσης}]}{[\text{αρχική μάζα ένωσης προς εγκλεισμό}]} \times 100 \% \quad (4.22)$$

2. η απόδοση της διεργασίας (yield ή YD)

$$YD = \frac{[\text{τελική μάζα νανοσωματιδίων}]}{[\text{αρχική μάζα ένωσης} + \text{πολυμερικού φορέα}]} \times 100 \% \quad (4.23)$$

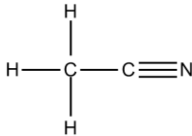
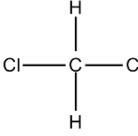
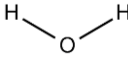
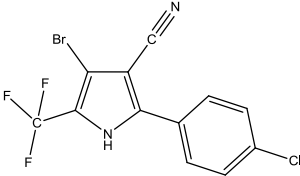
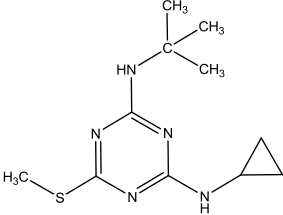
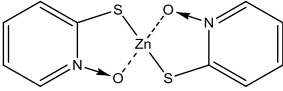
Η εφαρμογή της εξίσωσης (5.3) προϋποθέτει την αφαίρεση πρόσθετων συστατικών, όπως επιφανειοδραστικών ενώσεων, από τα νανοσωματίδια εξαιτίας του γεγονότος ότι δεν περιλαμβάνονται ως τμήμα της συνολικής μάζας στον παρανομαστή του κλάσματος. Για τον προσδιορισμό της απόδοσης εγκλεισμού απαιτείται η εύρεση της μάζας της εγκλεισμένης ένωσης εντός των σωματιδίων γεγονός που επιτυγχάνεται μέσω φασματοσκοπίας υπεριώδους – ορατού (UV-Vis). Όσον αφορά τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά των νανοσωματιδίων, υπενθυμίζεται ότι έχει προηγηθεί στη σελίδα 44 περιγραφή των κύριων ιδιοτήτων των νανοσωματιδίων. Στη δεδομένη διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε:

1. προσδιορισμός του μεγέθους, της κατανομής μεγεθών και του ζ-δυναμικού των νανοσωματιδίων μέσω δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS) και ηλεκτροφορητικών μετρήσεων πριν κ μετά τη διαδικασία λυοφιλοποίησης,
2. προσδιορισμός των μορφολογικών χαρακτηριστικών για τη περίπτωση των νανοσωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το Irgarol μέσω ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (SEM) πριν τη λυοφιλοποίηση,
3. προσδιορισμός των θερμικών μεταπτώσεων των παραγόμενων νανοσωματιδίων μέσω διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC) και
4. προσδιορισμός της θερμικής σταθερότητας των νανοσωματιδίων μέσω θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης (TGA).

4.3.1 Υλικά

Ο Πίνακας 4.11 καταγράφει τα χημικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία του χαρακτηρισμού των νανοσωματιδίων. Πιο συγκεκριμένα, το ακετονιτρίλιο χρησιμοποιήθηκε κατά την προετοιμασία των δειγμάτων για φασματοσκοπία UV-Vis, όπως θα αναλυθεί εκτενέστερα παρακάτω, ενώ το διχλωρομεθάνιο χρησιμοποιήθηκε για την καταστροφή της δομής των νανοσωματιδίων και την αποδέσμευση των ενώσεων που ήταν εγκλεισμένες.

Πίνακας 4.11. Χημικά αντιδραστήρια πειραματικής διαδικασίας χαρακτηρισμού νανοσωματιδίων

Αντιδραστήριο	Προμηθευτής	Δομή	Σχόλια
Ακετονιτρίλιο (ACNL)	Ranreac (Ισπανία)		HPLC καθαρότητας κατά PAI-ACS
Διχλωρομεθάνιο (DCM)	Merck KGaA (Γερμανία)		Αναλυτικής καθαρότητας ACS, ISO, Reag. Ph Eur
Υπερκάθαρο νερό (UPW)	Εργαστήριο Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας Ε.Μ.Π		Συσκευή EASYpure™ UV της Barnstead. 18 ΜΩ cm ειδική αντίσταση νερού
Econea™ (ECO)	Janssen PMP (Βέλγιο)		Λεπτόκοκκη λευκή σκόνη, ελάχιστης καθαρότητας (χρωματογραφία) 95,0 % w/w
Irgarol 1051™ (IRG)	Ciba (Η.Π.Α)		Λεπτόκοκκη λευκή σκόνη, καθαρότητας από 96,0 % w/w έως 99,0 % w/w
Zinc Pyrithione (ZPT)	Janssen PMP (Βέλγιο)		Λεπτόκοκκη λευκή σκόνη, ελάχιστης καθαρότητας (ποτενσιομετρική τιτλοδότηση) 97,0 % w/w

4.3.2 Όργανα και συσκευές

Ο Πίνακας 4.12 καταγράφει τα όργανα και τις συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία του χαρακτηρισμού των νανοσωματιδίων.

Πίνακας 4.12. Όργανα & συσκευές πειραματικής διαδικασίας χαρακτηρισμού νανοσωματιδίων

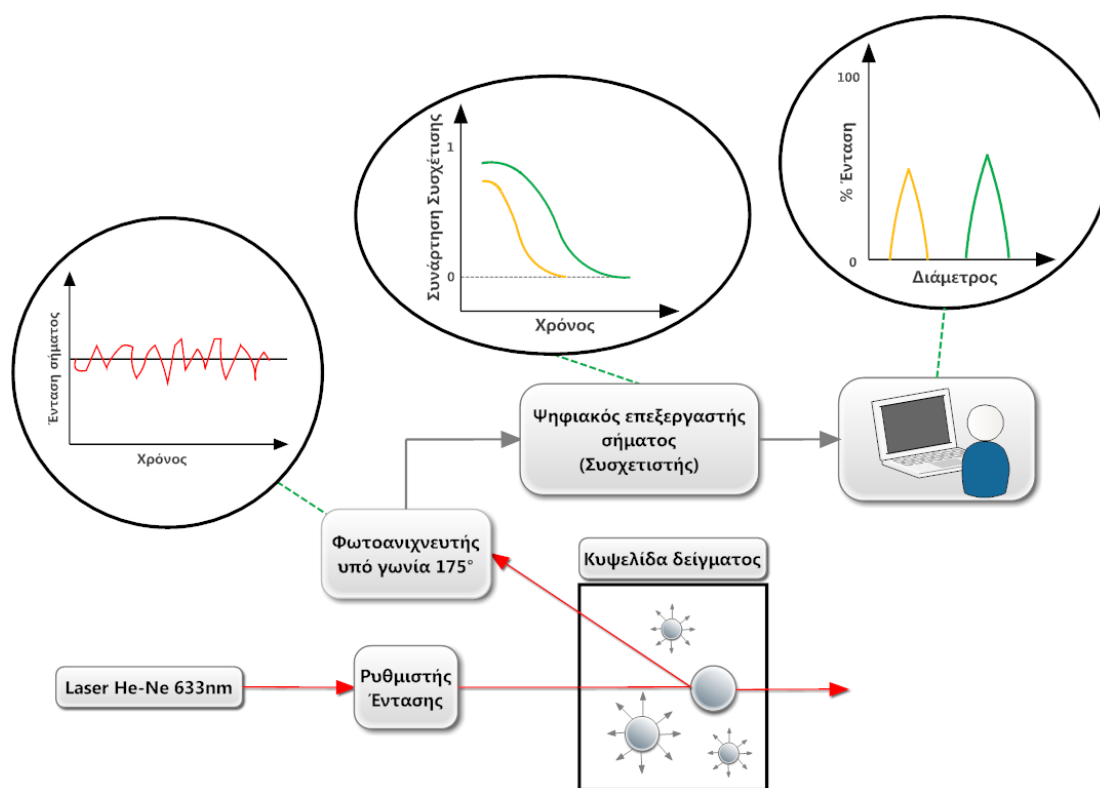
Όργανο/Συσκευή	Κατασκευαστής	Μοντέλο
Συσκευή υπερήχων με ακίδα	Hielscher Ultrasonics GmbH	UP100H
Λουτρό υπερήχων	Branson	2210
Φασματοφωτόμετρο UV-Vis	BEL Engineering	UV-M51
Διαθλασίμετρο	A.KRÜSS Optronic	Digital Abbe Refractometer AR2008
Συσκευή DLS και ELS	Malvern	Zetasizer Nano ZS
Συσκευή επιχρυσωσης	Quorum Technologies	SC7620 'Mini' Sputter Coater
Συσκευή SEM	FEI	Quanta 200
Συσκευή DSC	Mettler Toledo	DSC 1 STAR [®] System
Συσκευή TGA	Mettler Toledo	TGA/DSC 1 STAR [®] System

4.3.3 Προσδιορισμός μεγέθους και ζ-δυναμικού νανοσωματιδίων

I. Περιγραφή τεχνικών υπολογισμού μεγεθών και ζ-δυναμικού νανοσωματιδίων

a. Γενικά στοιχεία περί της δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS)

Στη δεδομένη διπλωματική εργασία επιλέχθηκε η χρήση της τεχνικής της δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS) για τον προσδιορισμό των μεγεθών και της κατανομής των μεγεθών των σωματιδίων. Μία σύντομη περιγραφή των αρχών της τεχνικής πραγματοποιήθηκε στη σελίδα 45. Σε αυτό το υποκεφάλαιο ακολουθεί μία πιο ενδελεχής ανάλυση της θεωρίας της τεχνικής παράλληλα με τα αντίστοιχα χαρακτηριστικά της πειραματικής διάταξης, τα οποία παρουσιάζει το Σχήμα 4.14.



Σχήμα 4.14. Ποιοτική απεικόνιση διάταξης δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS)

Μονοχρωματική ακτινοβολία, συνήθως με τη μορφή laser συγκεκριμένου μήκους κύματος (π.χ 633 nm), φωτοβολεί αυτόματα με κατάλληλη ένταση φωτός την κυψελίδα η οποία φέρει τη διασπορά-δείγμα. Τα σωματίδια της διασποράς σκεδαίνουν τμήμα του φωτός που προσπίπτει πάνω τους σύμφωνα με τη θεωρία Rayleigh και Mie. Μάλιστα, σύμφωνα με τη θεωρία Rayleigh η ένταση του σκεδαζόμενου φωτός είναι ανάλογη της έκτης δύναμης της διαμέτρου των σωματιδίων, οπότε όσο μεγαλύτερα είναι τα σωματίδια τόσο πιο έντονη είναι η ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας. Τα σωματίδια εντός της διασποράς δεν είναι στατικά, αλλά βρίσκονται σε συνεχή κίνηση Brown εξαιτίας των θερμικά παρακινούμενων συγκρούσεων μεταξύ των μορίων του διαλύτη και των σωματιδίων [111] [114] [171]. Η συνεχής

διάχυση των σωματιδίων οδηγεί στη δημιουργία διακυμάνσεων έντασης (intension fluctuations) γύρω από μία μέση σταθερή τιμή σκεδαζόμενης ακτινοβολίας, η οποία ονομάζεται στατική ένταση [111]. Η μετατόπιση των σωματιδίων είναι ανεπαίσθητη για πολύ μικρούς χρόνους τ οπότε τα καταγραφόμενα από το φωτοανιχνευτή σήματα έντασης I είναι παρόμοια δημιουργώντας συνεχή μοτίβα και όχι διακοπτόμενες ή ασυνεχείς συμπεριφορές στα διαγράμματα έντασης – χρόνου [111]. Στο σημείο αυτό να σημειωθεί ότι ο φωτοανιχνευτής της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας είναι τοποθετημένος υπό γωνία συνήθως 90° ή 175° [112] [114]. Η τοποθέτηση του ανιχνευτή στις 175° ονομάζεται μη-επεμβατική οπισθοσκεδαζόμενη ανίχνευση (Non-Invasive Backscatter Detection ή NIBS) και πλεονεκτεί έναντι της κλασσικής διάταξης των 90° σύμφωνα με την αναφορά [114]. Η συσκευή DLS (Zetasizer Nano ZS, Malvern) που χρησιμοποιήθηκε στη δεδομένη διπλωματική εργασία εφαρμόζει τη τεχνολογία NIBS.

Στη συνέχεια, τα πειραματικά δεδομένα έντασης – χρόνου αξιοποιούνται με τη βοήθεια στατιστικών συναρτήσεων συσχέτισης (correlation functions) της γενικής μορφής που παρουσιάζει η εξίσωση (5.3) [111]:

$$G(t) = \int_0^\infty I(t)I(t + \tau) dt = \sum_{t=0} I(t_i)I(t_i + \tau) \quad (4.24)$$

όπου:

$G(t)$: συνάρτηση συσχέτισης ως προς το χρόνο t ,

$I(t)$: ένταση σήματος σκεδαζόμενης ακτινοβολίας ως προς το χρόνο t και

τ : σταθερή, μικρή κατά μέτρο, χρονική απόσταση ή χρόνος καθυστέρησης.

Η διάταξη της DLS έχει ενσωματωμένο ψηφιακό συσχετιστή (correlator) ο οποίος αθροίζει συνεχώς τα σήματα με βάση την εξίσωση (5.3) [111]. Εν γένει, όσο μικρότερο είναι ένα σωματίδιο τόσο πιο εύκολη είναι η διάχυσή του και επομένως είναι μεγαλύτερη η απόσταση που θα έχει διανύσει σε ένα χρόνο τ μετά τη χρονική στιγμή t . Αυτό σημαίνει ότι η διακύμανση της έντασης I είναι εντονότερη και επομένως η συνάρτηση συσχέτισης $G(t)$ φθίνει ταχύτερα προς τη γραμμή βάσης. Άρα, όσο πιο μικρό σε μέγεθος είναι ένα σωματίδιο τόσο πιο απότομη είναι η φθίνουσα συμπεριφορά της εκθετικής συνάρτησης συσχέτισης $G(t)$ [111].

Στη συνέχεια, μετά την «παραγωγή» δεδομένων σε μορφή $G(t) - t$ απαιτείται η αξιοποίησή τους εφαρμόζοντας ποικίλες μαθηματικές προσεγγίσεις οι οποίες θα δώσουν εμμέσως πληροφορίες για το μέγεθος και την κατανομή των σωματιδίων [111]. Η απλούστερη εξίσωση που δύναται να χρησιμοποιηθεί είναι η μονή εκθετική συνάρτηση (4.25), η οποία εφαρμόζεται ικανοποιητικά για μονοδιάσπαρτα (monodisperse) δείγματα, που περιέχουν σωματίδια ενός γκρουπ μεγεθών [111].

$$G(t) = \int_0^\infty I(t)I(t + \tau) dt = B + A e^{-2 q^2 D \tau} \quad (4.25)$$

όπου:

B : η γραμμή βάσης (baseline),

A : το πλάτος (amplitude) ή προεκθετικός παράγοντας και

D : ο συντελεστής διάχυσης των σωματιδίων.

Όσον αφορά το μέγεθος q , αυτό προκύπτει από την εξίσωση (5.3) [111]:

$$q = 4 \pi \frac{\tilde{n}}{\lambda_0} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (4.26)$$

όπου:

\tilde{n} : ο δείκτης διάθλασης (refractive index) του διαλύτη ή μέσου διασποράς,

λ_0 : το μήκος κύματος του laser και

θ : η γωνία σκέδασης.

Αντίστοιχες συναρτήσεις με την εξίσωση (4.25) υπάρχουν και για πολυδιάσπαρτα δείγματα τα οποία δεν παρουσιάζουν μονή εκθετική συμπεριφορά, αλλά περισσότερα από ένα εκθετικά «σκαλοπάτια» στα γραφήματα τύπου $G(t) - t$. Ο αλγόριθμος CONTIN και η μέθοδος Μη αρνητικών ελαχίστων τετραγώνων (Non Negative Least Squares ή NNLS) χρησιμοποιούνται για τέτοιου είδους δείγματα [111].

Τέλος, η εφαρμογή μίας εκ των ανωτέρω συναρτήσεων ανάλογα με τη φύση του δείγματος δίνει τη δυνατότητα υπολογισμού του συντελεστή διάχυσης D και τελικά τον υπολογισμό του μεγέθους των σωματιδίων μέσω της εξίσωσης Stokes-Einstein:

$$d_H = \frac{k_B T}{3 \pi \eta D} \quad (4.27)$$

όπου:

d_H : η υδροδυναμική διάμετρος των σωματιδίων,

k_B : η σταθερά Boltzmann,

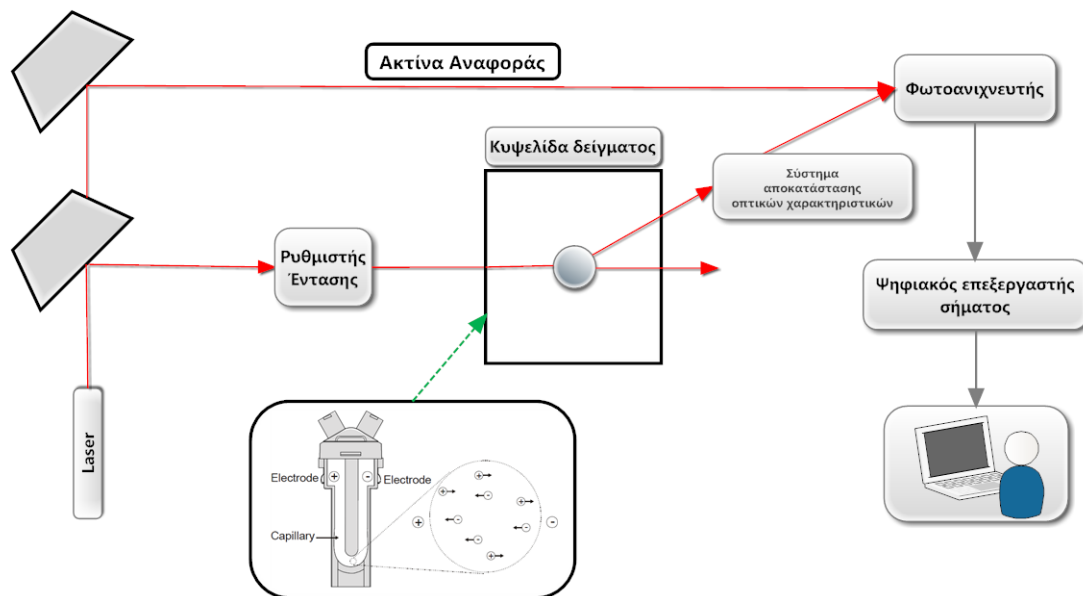
T : η απόλυτη θερμοκρασία της διασποράς και

η : το ιξώδες του μέσου διασποράς,

Σύμφωνα με τον ISO, προτείνεται η προσαρμογή της μονής εκθετικής συνάρτησης (4.25) στα πειραματικά δεδομένα [111]. Σε αυτή την περίπτωση, το προκύπτον μέγεθος που αντιστοιχίζεται στη υδροδυναμική διάμετρο των σωματιδίων ονομάζεται «z-average» και είναι σταθμισμένο με βάση την ένταση του σκεδαζόμενου φωτός και όχι με βάση τον όγκο ή τον αριθμό των σωματιδίων της διασποράς [111] [114]. Αυτό το μέγεθος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη σύγκριση δειγμάτων.

a. Γενικά στοιχεία περί της διαδικασίας προσδιορισμού του ζ-δυναμικού μέσω ηλεκτροφορητικής σκέδασης φωτός (ELS)

Πέρα από τη δυνατότητα έμμεσου προσδιορισμού του μεγέθους των σωματιδίων εντός της υδατικής διασποράς που βρίσκονται, η ίδια συσκευή (Zetasizer Nano ZS, Malvern) της πειραματικής διαδικασίας δύναται να υπολογίσει το ζ-δυναμικού τους χρησιμοποιώντας κατάλληλες κυψελίδες με ηλεκτρόδια και ανάλογες ρυθμίσεις στο περιβάλλον του λογισμικού της συσκευής. Συνοπτικές πληροφορίες για το μέγεθος του ζ-δυναμικού καταγράφηκαν πρωτίτερα στη σελίδα 46. Σε αυτό το υποκεφάλαιο επιχειρείται η περιγραφή της πειραματικής διάταξης συνδυαστικά με κάποια επικουρικά στοιχεία επί της θεωρίας της ηλεκτροφορητικής σκέδασης φωτός (Electrophoretic Light Scattering ή ELS). Η πειραματική διάταξη παρουσιάζεται ποιοτικά στο Σχήμα 4.15.



Σχήμα 4.15. Ποιοτική απεικόνιση διάταξης για τον προσδιορισμό του ζ-δυναμικού με ηλεκτροφορητικές μετρήσεις και σκέδαση του φωτός (ELS)

Όπως και στην περίπτωση της δυναμικής σκέδασης φωτός έτσι και στη μέθοδο ELS, μονοχρωματική ακτινοβολία συγκεκριμένου μήκους κύματος, φωτοβολεί αυτόματα με κατάλληλη ένταση φωτός, η οποία ρυθμίζεται από τον αντίστοιχο ρυθμιστή έντασης (attenuator), την κυψελίδα η οποία φέρει τη διασπορά-δείγμα [114]. Η μονοχρωματική ακτινοβολία χωρίζεται σε δύο τμήματα: το τμήμα το οποίο θα φωτοβολήσει το δείγμα (incident ή scattering beam) και την ακτίνα αναφοράς (reference beam) [114]. Η σκεδαζόμενη ακτινοβολία υπό γωνία $12,8^\circ$, αφού διέλθει από ένα σύστημα αποκατάστασης των οπτικών χαρακτηριστικών της (compensation optics) για τη διόρθωση των διαφοροποιήσεων εξαιτίας του τοιχώματος της κυψελίδας και της διάθλασης του μέσου διασποράς, συνδυάζεται μαζί με την ακτίνα αναφοράς, η οποία έχει διαμορφωθεί κατάλληλα με κάτοπτρα (modulated) για να λάβει χώρα το φαινόμενο Doppler [114]. Ο συνδυασμός τους οδηγεί στην παραγωγή ενός κυμαινόμενης έντασης σήματος όπου ο ρυθμός διακύμανσης (rate of fluctuation) είναι ανάλογος της ταχύτητας των σωματιδίων εντός της διασποράς τα οποία

κινούνται εξαιτίας του εφαρμοζόμενου ηλεκτρικού πεδίου [114] [172]. Ο φωτοανιχνευτής προωθεί το συνδυασμένο σήμα σε ένα ψηφιακό επεξεργαστή σήματος ο οποίος χρησιμοποιείται για την εξαγωγή των χαρακτηριστικών συχνοτήτων στο σκεδαζόμενο φως οπότε εντοπίζονται οι μεταβολές στη συχνότητα και η κατανομή των μεταβολών στη συχνότητα [114] [172]. Από τα ανωτέρω δύναται να υπολογιστεί η ηλεκτροφορητική κινητικότητα και κατά συνέπεια το ζ-δυναμικό μέσω της εξίσωσης Henry (3.2) [114] [172] [173].

Λεπτομερέστερες πληροφορίες για το ζ-δυναμικό και τον προσδιορισμό του μέσω ηλεκτροφορητικών μετρήσεων και σκέδασης φωτός (ELS) είναι διαθέσιμες στις αναφορές [172], [173] και [174].

II. Πειραματική διαδικασία DLS και ELS

Στη δεδομένη διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκε η διάταξη Zetasizer Nano ZS της Malvern (Σχήμα 4.16) για τον προσδιορισμό του μεγέθους και του ζ-δυναμικού των νανοσωματιδίων. Για την πραγματοποίηση των μετρήσεων επιλέχθηκε η κυψελίδα DTS 1060 (τριχοειδής τύπου U κυψελίδα) στην οποία μπορούν να λάβουν χώρα τόσο μετρήσεις μεγέθους μέσω δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS) όσο και μετρήσεις ζ-δυναμικού μέσω ηλεκτροφορητικής σκέδασης φωτός (ELS). Επομένως, δεν απαιτείται ξεχωριστή προετοιμασία δειγμάτων για κάθε μέτρηση αλλά ένα κοινό επαρκώς αραιωμένο δείγμα για την πραγματοποίηση των μετρήσεων.



Σχήμα 4.16. Διάταξη Zetasizer Nano ZS, Malvern

Πριν τη διαδικασία των μετρήσεων πραγματοποιήθηκε εξέταση των διασπορών ως προς το pH τους με τη βοήθεια πεχαμετρικού χαρτιού, προσδιορισμός της απορρόφησής τους στα 633 nm μέσω φασματοφωτόμετρου υπεριώδους-ορατού και μέτρηση του δείκτη διάθλασης (refractive index ή RI) των διασπορών. Επιπλέον, πριν από κάθε μέτρηση μεγέθους και ζ-δυναμικού απαιτείται η δημιουργία μίας τυποποιημένης διαδικασίας λειτουργίας (Standard Operating Procedure ή SOP), αφού κάθε δείγμα παρουσιάζει διαφορετικά χαρακτηριστικά όπως για παράδειγμα ο δείκτης διάθλασης και η απορρόφηση του δείγματος στα νανόμετρα εκπομπής του laser της συσκευής – τα οποία χρειάζονται για τη μετατροπή των γραφημάτων μεγέθους σωματιδίων από γραφήματα έντασης (intensity based) σε γραφήματα όγκου (volume based). Κατά την επεξεργασία ενός αρχείου SOP συμπληρώνονται πληροφορίες για το σύστημα (π.χ ιξώδες μέσου διασποράς, δείκτης διάθλασης,

θερμοκρασία, χρησιμοποιούμενη κυψελίδα) και το πρωτόκολλο μέτρησης (π.χ αριθμός μετρήσεων, αριθμός επαναλήψεων). Τα προηγούμενα είναι απαραίτητα για την μαθηματική επεξεργασία των πειραματικών δεδομένων και την ορθή αξιοποίηση των εξισώσεων για την εξαγωγή των επιθυμητών μετρούμενων μεγεθών (π.χ ζ-δυναμικό). Κοινά στοιχεία όλων των αρχείων SOP που δημιουργήθηκαν ήταν η θερμοκρασία ($25 \pm 0,1$ °C), η χρησιμοποιούμενη κυψελίδα (DTS 1060), τα χαρακτηριστικά του μέσου διασποράς για τα οποία χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα της βιβλιοθήκης του λογισμικού της συσκευής, ο αριθμός των μετρήσεων (τρεις συνολικά) και η επιλογή της αυτόματης λειτουργίας του οργάνου όσον αφορά τον αριθμό των επαναλήψεων (measurement runs) για κάθε μέτρηση. Επομένως, για κάθε δείγμα πρέπει να δημιουργηθούν δύο αρχεία SOP από τα οποία το ένα να αντιστοιχεί για μετρήσεις μεγέθους και το άλλο για μετρήσεις ζ-δυναμικού. Τέλος, σημειώνεται ότι οι ιδιότητες του μεγέθους και του ζ-δυναμικού των σωματιδίων προσδιορίστηκαν τόσο πριν όσο και μετά λυοφιλοποίηση.

a. Προσδιορισμός ιδιοτήτων πριν την λυοφιλοποίηση

Τα σωματίδια μετά τη διαδικασία της φυγοκέντρωσης υπέστησαν επαναδιασπορά σε υπερκάθαρο νερό όγκου 3 ml με τη βοήθεια συσκευής υπερήχων όπως προαναφέρθηκε στη σελίδα 79. Από αυτό τον όγκο λήφθηκε μία ποσότητα 40 μl η οποία τοποθετήθηκε σε vial και αραιώθηκε με υπερκάθαρο νερό μέχρι τα 10 ml οπότε προέκυψε μία «θεωρητική» συγκέντρωση νανοσωματιδίων της τάξης των $0,1 \text{ mg ml}^{-1}$. Μέρος του εκάστοτε δείγματος οδηγήθηκε προς μέτρηση του δείκτη διάθλασης χρησιμοποιώντας μερικές σταγόνες, ένα άλλο τμήμα της διασποράς τοποθετήθηκε σε κυψελίδα για το προσδιορισμό της απορρόφησης στα 633 nm σε φασματοφωτόμετρο υπεριώδους-ορατού, ενώ για το προσδιορισμό του pH χρησιμοποιήθηκε πεχαμετρικό χαρτί. Στη συνέχεια, οι εναπομένουσες διασπορές οδηγήθηκαν σε λουτρό υπερήχων (sonication bath) για 5 λεπτά προκειμένου να πραγματοποιηθεί ανάμειξη και ελαχιστοποίηση του ποσοστού των συσσωματωμένων σωματιδίων εντός της διασποράς. Έπειτα, περίπου 1 ml από το εκάστοτε δείγμα εισήχθη με τη βοήθεια σύριγγας στη κυψελίδα τύπου DTS 1060 προκειμένου να πραγματοποιηθούν οι μετρήσεις για το μέγεθος και ζ-δυναμικό των σωματιδίων.

b. Προσδιορισμός ιδιοτήτων μετά την λυοφιλοποίηση

Από κάθε δείγμα τύπου κέικ λήφθηκε μία μικρή αντιπροσωπευτική ποσότητα σωματιδίων (~2 mg) και αραιώσή της με αντίστοιχο όγκο υπερκάθαρου νερού μέχρι τελικής συγκέντρωσης της τάξης των $0,1 \text{ mg ml}^{-1}$. Στη συνέχεια, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε διάταξη υπερήχων με ακίδα (UP100H ultrasonic processor, Hielscher), η οποία τέθηκε σε συνεχή λειτουργία 3 λεπτών στα 50 Watt παρουσία παγόλουτρου. Ακολούθως, προσδιορίστηκαν ο δείκτης διάθλασης, η απορρόφηση και το pH του δείγματος όπως περιγράφηκε προτύτερα. Πριν τη μέτρηση, τα δείγματα οδηγήθηκαν σε λουτρό υπερήχων (sonication bath) (2210, Branson) για 5 λεπτά. Τέλος, περίπου 1 ml από το εκάστοτε δείγμα εισήχθη με τη βοήθεια σύριγγας στη κυψελίδα τύπου DTS 1060 προκειμένου να λάβει χώρα η διαδικασία της μέτρησης.

4.3.4 Προσδιορισμός απόδοσης εγκλεισμού

I. Γενικά στοιχεία περί της φασματοσκοπίας UV-Vis

Στη σελίδα 82 πραγματοποιήθηκε μία πρώτη γνωριμία με την έννοια της απόδοσης εγκλεισμού και της απόδοσης της διεργασίας με τις εξισώσεις (4.22) και (4.23) αντίστοιχα. Τα ανωτέρω μεγέθη συνδυαστικά με τις φυσικοχημικές ιδιότητες που παρουσιάστηκαν στο υποκεφάλαιο 3.1.4 αποτελούν τα βασικότερα χαρακτηριστικά για την αξιολόγηση της επιτυχίας ενός εγκλεισμού συνολικά. Η πλέον διαδεδομένη τεχνική για τον προσδιορισμό του ποσοστού της μάζας ένωσης που εγκλείστηκε είναι η φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού (UV-Vis spectroscopy).

Στην UV-Vis φασματομετρία ή φασματομετρία μοριακή απορρόφησης απορροφάται ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία στη ζώνη 190 – 800 nm, δηλαδή στο εγγύς υπεριώδες (190 – 400 nm) και στο ορατό φάσμα (400 – 800 nm), από τα μόρια μιας διαλυμένης ουσίας τα οποία υφίστανται ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις [175]. Τα ορατά και υπεριώδη φάσματα μιας ένωσης δεν χαρακτηρίζουν το μόριο ως σύνολο, αλλά πληροφορούν για ορισμένες μόνο χαρακτηριστικές ομάδες ατόμων μέσα στο μόριο. Οι ομάδες ατόμων που είναι υπεύθυνες για την απορρόφηση ονομάζονται χρωμοφόρες ή αυξόχρωμες ομάδες [175]. Αυτές οι ομάδες υφίστανται ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις σε στενές ζώνες μήκους κύματος με μία χαρακτηριστική κορυφή λ_{\max} μέγιστης απορρόφησης [175]. Ωστόσο, η χαρακτηριστική κορυφή δεν είναι πάντα σταθερή και εξαρτάται από τις συνθήκες που περιβάλλουν την ένωση (π.χ διαλύτης, θερμοκρασία, pH), αλλά και τη θέση της ομάδας στο μόριο (π.χ δεσμοί με άλλες χαρακτηριστικές ομάδες) [175] [176].

Η φασματομετρία UV-Vis εφαρμόζεται για ποσοτικούς προσδιορισμούς οργανικών ενώσεων με τη χρήση του νόμου του Lambert-Beer (5.3) [175] [176] [177]:

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \log\left(\frac{1}{T}\right) = \varepsilon b c \quad (4.28)$$

όπου:

A : η απορρόφηση (absorbance),

I_0 : η ένταση της προσπίπτουσας στο δείγμα ακτινοβολίας,

I : η μειωμένη ένταση της εξερχόμενης ακτινοβολίας,

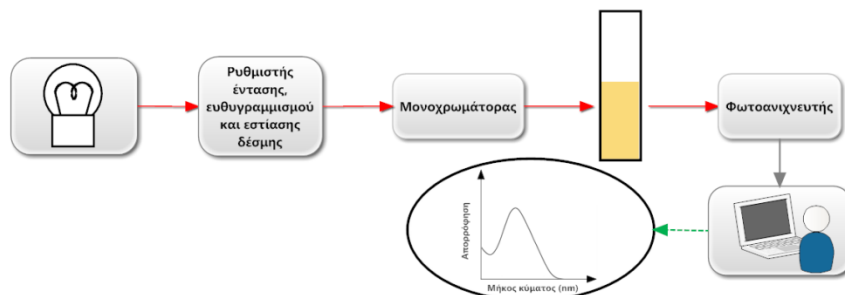
T : η διαπερατότητα (transmittance),

c : η συγκέντρωση της απορροφούσας ένωσης,

b : το πάχος της κυψελίδας και

ε : η μοριακή απορροφητικότητα η οποία είναι $f(\lambda, \text{διαλύτη, μορίου})$.

Αρχικά, πραγματοποιείται εύρεση ενός κατάλληλου μήκους κύματος όπου παρατηρείται μία χαρακτηριστική μέγιστη απορρόφηση για την ένωση στο φάσμα απορρόφησης της ουσίας. Στη συνέχεια μετριέται η απορρόφηση της ένωσης σε αυτό το μήκος κύματος σε συνάρτηση με τη συγκέντρωσή της χρησιμοποιώντας διαλύματα γνωστής συγκέντρωσης οπότε προκύπτει η καμπύλη αναφοράς. Η μέτρηση της απορρόφησης του αγνώστου δείγματος αντιστοιχίζεται στη συνέχεια με τη βοήθεια της καμπύλης αναφοράς σε μονάδες συγκέντρωσης βάση του νόμου Lambert-Beer.



Σχήμα 4.17. Ποιοτική απεικόνιση διάταξης φασματομετρίας υπεριώδους - ορατού

Όσον αφορά την οργανολογία μίας διάταξης UV-Vis (Σχήμα 4.17), τα φασματοφωτόμετρα UV-Vis διαχωρίζονται ανάλογα με τον αριθμό των πηγών ακτινοβολίας που φέρουν σε μονής ή διπλής δέσμης [175] [176]. Στα μονής δέσμης μετράται πρώτα η απορρόφηση του διαλύτη και στη συνέχεια μηδενίζεται το φάσμα απορρόφησης του. Στη συνέχεια, στην ίδια κυψελίδα μετράται το δείγμα για την εύρεση της διαφοροποίησης μεταξύ των δύο φασμάτων εξαιτίας της παρουσίας της ένωσης. Στα διπλής δέσμης μετρώνται ταυτόχρονα διαλύτης και δείγμα. Ως πηγές ακτινοβολίας χρησιμοποιούνται λάμπες βολφραμίου για την ορατή περιοχή και δευτερίου για την υπεριώδη περιοχή [175] [176]. Έπειτα, ο μονοχρωμάτορας φιλτράρει την πολυχρωματική ακτινοβολία που εκπέμπουν οι πηγές επιτρέποντας μόνο μία μικρή ζώνη μηκών κύματος [175] [176]. Η φιλτραρισμένη ακτινοβολία φωτοβολεί την κυψελίδα που φέρει το δείγμα. Τμήμα της ακτινοβολίας διέρχεται από το δείγμα, ενώ το υπόλοιπο απορροφάται από αυτό. Ο ανιχνευτής πίσω από την κυψελίδα λαμβάνει την ένταση της μη απορροφημένης ακτινοβολίας οπότε υπολογίζει την διαπερατότητα του δείγματος ή ισοδύναμα την απορρόφησης του. Στη συνέχεια τα δεδομένα μέτρησης μεταφέρονται σε ηλεκτρονικό υπολογιστή για περαιτέρω επεξεργασία.

II. Πειραματική διαδικασία προσδιορισμού απόδοσης εγκλεισμού μέσω UV-Vis φασματομετρίας

Στη δεδομένη διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο μονής δέσμης (UV-M51, BEL Engineering) με λάμπες βολφραμίου και δευτερίου. Επιπλέον, επιλέχθηκε για χρήση κυψελίδα χαλαζία. Πρότυπα διαλύματα των ενώσεων προς εγκλεισμό παρασκευάστηκαν με τη βοήθεια διαλύτη ακετονιτριλίου-νερού 1:1 v/v για την κατασκευή των καμπυλών αναφοράς και την εύρεση του χαρακτηριστικού μήκους κύματος λ_{\max} της κάθε ένωσης. Η πειραματική διαδικασία δύναται να διακριθεί περαιτέρω στις διαδικασίες για τον άμεσο προσδιορισμό της

μάζας της εγκλεισμένης ένωσης ή εμμέσως με τον προσδιορισμό της μη εγκλεισμένης ένωσης των υπερκειμένων της φυγοκέντρωσης.



Σχήμα 4.18. Φασματοφωτόμετρο UV-Vis τύπου UV-M51 της BEL Engineering

a. Έμμεση μέθοδος προσδιορισμού απόδοσης εγκλεισμού

Τα υπερκείμενα υγρά των τριών φυγοκεντρήσεων συλλέχθηκαν σε κοινό δοχείο και ογκομετρήθηκαν. Όγκος της τάξης των 1 – 10 ml από το εκάστοτε υπερκείμενο χρησιμοποιήθηκε μαζί με ίσο όγκο καθαρού διαλύτη ακετονιτριλίου για την παρασκευή δειγμάτων με κοινό διαλύτη ως προς αυτόν της καμπύλης αναφοράς. Στη συνέχεια, τα δείγματα αραιώθηκαν περαιτέρω με κατάλληλο όγκο διαλύτη ακετονιτριλίου-νερού 1:1, ώστε η μετρούμενη απορρόφηση A του δείγματος στο επιλεγμένο μήκος κύματος λ_{\max} να είναι κάτω από τη μονάδα ($A < 1$) για να ισχύει η γραμμικότητα της εξίσωσης Lambert-Beer (5.3) [177]. Η απορρόφηση του εκάστοτε δείγματος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την μετατροπή της μέσω της εξίσωσης (5.3) σε μονάδες συγκέντρωσης της ένωσης. Στη συνέχεια, αντίστροφοι υπολογισμοί από τις αραιώσεις δύναται να δώσουν τη θεωρητικά ολική μάζα της μη εγκλεισμένης ένωσης η οποία βρισκόταν στα υπερκείμενα υγρά. Τέλος, η επόμενη εξίσωση αποτελεί ισοδύναμη έκφραση της (4.22) για τον υπολογισμό της απόδοσης εγκλεισμού χρησιμοποιώντας τη μάζα της μη εγκλεισμένης ένωσης:

$$E.E = \frac{[\text{αρχική μάζα ένωσης προς εγκλεισμό}] - [\text{μάζα μη εγκλεισμένης ένωσης}]}{[\text{αρχική μάζα ένωσης προς εγκλεισμό}]} \times 100 \%$$

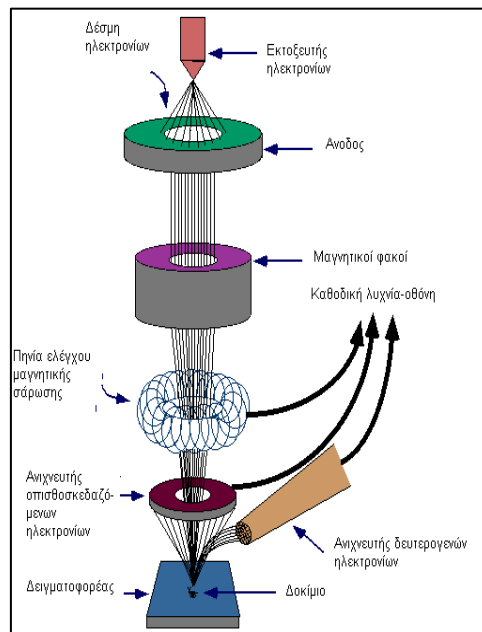
b. Άμεση μέθοδος προσδιορισμού απόδοσης εγκλεισμού

Για τον άμεσο προσδιορισμό της απόδοσης εγκλεισμού ζυγίστηκε μία μικρή ποσότητα της τάξης 3 – 10 mg από το εκάστοτε δείγμα-κέικ ξηραμένων σωματιδίων. Στη συνέχεια προστέθηκε 1 ml διχλωρομεθάνιο για τη διάρρηξη των σωματιδίων και την απελευθέρωση των ενώσεων από τα αντίστοιχα σωματίδια. Το διάλυμα αφέθηκε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος μέχρι πλήρους εξατμίσεως του διχλωρομεθανίου. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκαν διαδοχικές αραιώσεις του προκύπτον υπολείμματος με το διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς, δηλαδή το μίγμα ακετονιτριλίου-νερού 1:1, μέχρι να ισχύει ότι $A < 1$ [177]. Τέλος, αντίστροφοι υπολογισμοί από τις αραιώσεις συνδυαστικά με αναγωγή στη συνολική μάζα σωματιδίων που ζυγίστηκε μετά την διαδικασία λυοφιλοποίησης δύναται να προσδιορίσουν την ολική μάζα της εγκλεισμένης ένωσης και κατά συνέπεια την $E.E$.

4.3.5 Προσδιορισμός μορφολογικών χαρακτηριστικών σωματιδίων

I. Γενικά στοιχεία περί της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (SEM)

Στο υποκεφάλαιο 3.1.4 και πιο συγκεκριμένα στη σελίδα 48 καταγράφηκε η ανάγκη για το μορφολογικό χαρακτηρισμό των σωματιδίων λαμβάνοντας ένα οπτικό αποτέλεσμα για τα σωματίδια. Η SEM είναι μία από τις πιο σύγχρονες και ευέλικτες μεθόδους ανάλυσης της μικροδομής μεγάλου αριθμού υλικών και αποτελεί μία ιδιαίτερα διαδεδομένη μέθοδο απεικόνισης νανοσωματιδίων.



Σχήμα 4.19. Διάγραμμα λειτουργίας μίας διάταξης SEM [181]

Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης είναι ένα όργανο το οποίο λειτουργεί παρόμοια με ένα οπτικό μικροσκόπιο μόνο που αντί για φως χρησιμοποιεί δέσμη ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας ώστε να εξετάσει αντικείμενα/δείγματα σε λεπτομερή κλίμακα [143] [178]. Τα ηλεκτρόνια, εξαιτίας της κυματικής τους φύσης, δύναται να εστιαστούν όπως και τα φωτεινά κύματα, αλλά σε πολύ μικρότερη επιφάνεια [143] [178]. Η δέσμη ηλεκτρονίων σαρώνει την επιφάνεια του προς εξέταση δείγματος με την οποία αλληλεπιδρά [178]. Από την αλληλεπίδραση μεταξύ των ατόμων της επιφάνειας και των ηλεκτρονίων προκύπτουν πληροφορίες για τα άτομα των στοιχείων που απαρτίζουν το εξεταζόμενο υλικό. Από τα άτομα των στοιχείων εκπέμπονται μεταξύ άλλων δύο βασικοί τύποι ηλεκτρονίων, τα δευτερογενή (secondary) και τα οπισθοσκεδαζόμενα (backscattered) ηλεκτρόνια, καθώς και ακτίνες X [143] [178]. Η ένταση των εκπεμπόμενων ηλεκτρονίων είναι συνάρτηση των χαρακτηριστικών της επιφάνειας του δείγματος [178]. Επομένως, η SEM δίνει πληροφορίες που αφορούν κυρίως τη μορφολογία και τη σύσταση της επιφάνειας [178]. Με την εφαρμογή ενός συστήματος ανίχνευσης της διασποράς των ενεργειών των ακτίνων X, που δημιουργούνται στην επιφάνεια από την προσπίπτουσα δέσμη, δύναται να πραγματοποιηθεί ημιποσοτική στοιχειακή ανάλυση του υλικού [178].

Η λειτουργία ενός οργάνου SEM στηρίζεται στις αλληλεπιδράσεις του προς εξέταση δείγματος και της προσπίπτουσας σε αυτό δέσμης ηλεκτρονίων. Τα βασικά τμήματα μίας διάταξης SEM είναι το σύστημα παραγωγή της δέσμης ηλεκτρονίων, το σύστημα κατεύθυνσης της δέσμης, το σύστημα πληροφοριών και τέλος το σύστημα κενού [143] [178]. Το περιβάλλον μέτρησης ενός οργάνου SEM πρέπει να βρίσκεται υπό κενό για να μπορεί να παραχθεί και διατηρηθεί σταθερή η ακτίνα των ηλεκτρονίων, ειδάλλως τα ηλεκτρόνια συγκρούονται με τα μόρια του αέρα και απορροφώνται από αυτόν [143] [178]. Το κενό επιτυγχάνεται με τη χρήση αντλιών και είναι μικρότερο από 10^{-6} torr [143]. Όσον αφορά τα βασικά στάδια λειτουργίας ενός ηλεκτρονικού μικροσκοπίου, αυτά είναι [143] [178]:

1. Σχηματισμός της δέσμης ηλεκτρονίων από την πηγή (π.χ νήμα βολφραμίου) η οποία επιταχύνεται προς το δείγμα μέσω ενός θετικού ηλεκτρικού δυναμικού το οποίο είναι συνήθως μεταξύ 1 και 30 keV.
2. Χρησιμοποίηση μεταλλικών ανοιγμάτων, ηλεκτρομαγνητικών φακών και πηνίων σάρωσης, οπότε επιτυγχάνεται μια λεπτή εστιασμένη μονοχρωματική δέσμη η οποία σαρώνει την επιφάνεια του δείγματος.
3. Οι αλληλεπιδράσεις δέσμης και δείγματος καταγράφονται από τους ανιχνευτές και μετατρέπονται σε εικόνα.

II. Πειραματική διαδικασία SEM

Όπως προαναφέρθηκε στη σελίδα 82, προσδιορισμός των μορφολογικών χαρακτηριστικών μέσω SEM πραγματοποιήθηκε μόνο για τη περίπτωση των νανοσωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το Irgarol πριν τη λυοφιλοποίηση των σωματιδίων, δηλαδή την απομόνωσή τους από το υδατικό μέσο διασποράς που βρίσκονταν. Πιο συγκεκριμένα, περίπου 100 μl από την υδατική διασπορά των σωματιδίων αποτέθηκαν προσεχτικά πάνω σε χάλκινη πλάκα με τη βοήθεια πιπέτας. Στη συνέχεια, το δείγμα αφέθηκε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος μέχρι πλήρους εξατμίσεως του νερού. Μετά την εξάτμιση σχηματίστηκε ένα λεπτό υμένιο πάνω στην χάλκινη πλάκα (Σχήμα 4.20) το οποίο οδηγήθηκε για επιμετάλλωση με εκνέφωση με τη βοήθεια επιχρυσωτή (SC7620 'Mini' Sputter Coater, Quorum Technologies). Ακολούθως, το δείγμα μελετήθηκε με τη βοήθεια διάταξης SEM (Quanta 200, FEI).



Σχήμα 4.20. Δείγμα σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση Irgarol μετά την εξάτμιση του νερού και πριν την επιχρυσωσή του

4.3.6 Προσδιορισμός θερμικών μεταπτώσεων μέσω DSC

Τα γενικά χαρακτηριστικά της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης αναλύθηκαν περιληπτικά στο υποκεφάλαιο 4.1.3 και πιο συγκεκριμένα στη σελίδα 63. Επομένως, στο παρόν υποκεφάλαιο πραγματοποιείται αποκλειστικά περιγραφή της πειραματικής διαδικασίας που έλαβε χώρα για τον προσδιορισμό των θερμικών μεταπτώσεων των πολυμερικών νανοσωματιδίων μετά τη λυοφιλοποίησή τους.

Η πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκε με χρήση της συσκευής DSC 1 STAR^e System της Mettler Toledo. Η προετοιμασία των δειγμάτων ήταν παρόμοια με αυτή που περιγράφεται στη σελίδα 64. Τα δείγματα μετρήθηκαν με την κλασσική μέθοδο της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC), ενώ τα σωματίδια με εγκλεισμένη ένωση το Irgarol μελετήθηκαν και με τη μέθοδο της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης ημιτονοειδούς θέρμανσης (Alternating Differential Scanning Calorimetry ή ADSC) για την ευκολότερη ερμηνεία των σύνθετων θερμικών μεταπτώσεων του υλικού. Ο Πίνακας 4.13 συνοψίζει τις πειραματικές συνθήκες των κενών ή εγκλεισμένων με ένωση (Irgarol, Econea, Zinc Pyrithione ή ZPT) νανοσωματιδίων (NPs) που υπέστησαν DSC και ADSC*.

Πίνακας 4.13. Πειραματικές συνθήκες προσδιορισμού θερμικών μεταπτώσεων σωματιδίων μέσω DSC και ADSC*

Δείγμα	Μάζα Δείγματος (mg)	Θερμοκρασία Έναρξης (°C)	Θερμοκρασία Λήξης (°C)	Θερμοκρασιακό Βήμα (°C min ⁻¹)	Ροή N ₂ (ml min ⁻¹)
Κενά NPs	3,87	25	400	10	20
Irgarol NPs	3,01	25	400	10	20
Irgarol NPs*	2,11	90	160	1	20
Econea NPs	2,66	25	400	10	20
ZPT NPs	4,78	25	600	10	20

4.3.7 Προσδιορισμός θερμικής σταθερότητας μέσω TGA

Τα πειράματα DSC συμπληρώθηκαν με τα αντίστοιχα πειράματα θερμοσταθμικής ανάλυσης για το προσδιορισμό της θερμικής σταθερότητας των σωματιδίων. Υπενθυμίζεται ότι τα γενικά χαρακτηριστικά της θερμοσταθμικής ανάλυσης περιγράφηκαν στο υποκεφάλαιο 4.1.3 στη σελίδα 65. Η πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκε με χρήση του θερμοζυγού TGA/DSC 1 STAR^e System της Mettler Toledo. Η προετοιμασία των δειγμάτων ήταν παρόμοια με αυτή που περιγράφεται στη σελίδα 66. Ο Πίνακας 4.14 παρουσιάζει τις πειραματικές συνθήκες των κενών ή εγκλεισμένων με ένωση (Irgarol, Econea, Zinc Pyrithione ή ZPT) νανοσωματιδίων (NPs) που υπέστησαν θερμοβαρυσμική ανάλυση.

Πίνακας 4.14. Πειραματικές συνθήκες προσδιορισμού θερμικής σταθερότητας σωματιδίων μέσω TGA

Δείγμα	Μάζα Δείγματος (mg)	Θερμοκρασία Έναρξης (°C)	Θερμοκρασία Λήξης (°C)	Θερμοκρασιακό Βήμα (°C min ⁻¹)	Ροή N ₂ (ml min ⁻¹)
Κενά NPs	4,16	30	600	10	10
Irgarol NPs	3,40	30	600	10	10
Econea NPs	4,38	30	600	10	10
ZPT NPs	4,11	25	600	10	10

Κεφάλαιο 5. Αποτελέσματα & Συζήτηση αποτελεσμάτων

5.1 Χαρακτηρισμός πολυμερών και ενώσεων

5.1.1 Προσδιορισμός μοριακού βάρους δειγμάτων PLA με ιξωδομετρία διαλύματος

Τα μοριακά βάρη των πολυμερών που χρησιμοποιήθηκαν ως φορείς στα νανοσωματίδια προσδιορίστηκαν με ιξωδομετρία διαλύματος ενός σημείου δύο επαναλήψεων βάση της διαδικασίας που περιγράφηκε στις σελίδες 61-62. Ο Πίνακας 5.1 συνοψίζει τις πειραματικές μετρήσεις (χρόνοι εκροής) κάθε επανάληψης δείγματος καθώς και του καθαρού διαλύτη χλωροφορμίου στους 30 °C.

Πίνακας 5.1. Πειραματικά αποτελέσματα ιξωδομετρίας διαλύματος

Δείγμα (επανάληψη)	Συγκέντρωση (g dl ⁻¹)	Χρόνος εκροής δείγματος (s)	Χρόνος εκροής διαλύτη (s)	[η] (dl g ⁻¹)
PLA 4042D (A)	0,2196	183,9 ± 0,5	127,2 ± 0,9	1,772 ± 0,014
PLA 4042D (B)	0,2028	179,0 ± 0,0	126,7 ± 0,6	1,793 ± 0,000
PLA PLI005 (A)	0,1624	154,7 ± 0,2	127,2 ± 0,9	1,241 ± 0,006
PLA PLI005 (B)	0,2140	165,9 ± 0,3	127,2 ± 0,9	1,290 ± 0,008

Με εφαρμογή της εξίσωσης (4.15) και των ανωτέρω πειραματικών δεδομένων πρόεκυψαν τα στρογγυλοποιημένα μέσα ιξώδη μοριακά βάρη πολυμερών \bar{M}_V που παρουσιάζει ο Πίνακας 5.2 χρησιμοποιώντας τις βιβλιογραφικές σταθερές που καταγράφει ο Πίνακας 4.6 [142].

Πίνακας 5.2. Υπολογιζόμενο μέσου ιξώδους μοριακό βάρος πολυμερών PLA 4042D και PLI005

Δείγμα	\bar{M}_V (g mol ⁻¹)
PLA 4042D	210.000
PLA PLI005	135.000

Το δείγμα PLA 4042D παρουσιάζει οριακό αριθμό ιξώδους [η] σχεδόν 1,4 φορές μεγαλύτερο από τον αντίστοιχο του δείγματος PLA PLI005 εξαιτίας τους αυξημένου του μοριακού βάρους. Το μοριακό βάρος αποτελεί μία κρίσιμη παράμετρο τόσο κατά την παρασκευαστική διαδικασία (π.χ ικανότητα διάλυσης) όσο και κατά το στάδιο της εφαρμογής, αφού επηρεάζει άμεσα ή έμμεσα τα χαρακτηριστικά των σωματιδίων (μέγεθος, απόδοση εγκλεισμού, πορώδες, πυκνότητα, προφίλ αποδέσμευσης εγκλεισμένων ενώσεων). Εν γένει, η αύξηση του μοριακού βάρους ενός πολυμερούς για χρήση ως φορέας εγκλεισμών οδηγεί σε αύξηση του μεγέθους των σωματιδίων και αύξηση της απόδοσης εγκλεισμού (Πίνακας 3.1), μείωση του ρυθμού αποδέσμευσης καθώς και λιγότερο πορώδη σωματίδια [96]. Η ελάττωση του πορώδους οφείλεται στο γεγονός ότι όσο αυξάνεται το μοριακό βάρος του πολυμερούς μειώνεται η ικανότητα διάλυσης του πολυμερούς στην οργανική φάση [96]. Επομένως, ο ρυθμός στερεοποίησης των σωματιδίων είναι ταχύτερος οδηγώντας σε λιγότερο πορώδη σωματίδια με λιγότερο έντονο το φαινόμενο της

εκρηκτικής απελευθέρωσης (burst release) το οποίο αποτελεί θετική εξέλιξη για την εφαρμογή που προορίζονται τα σωματίδια της δεδομένης διπλωματικής [96].

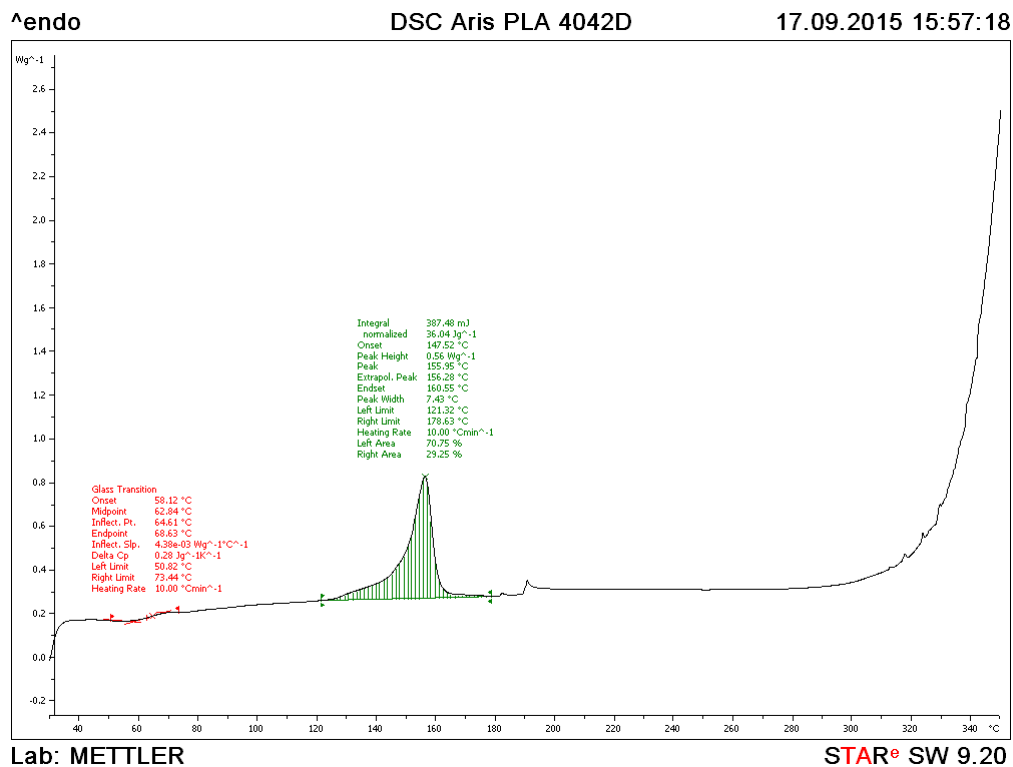
5.1.2 Αποτελέσματα θερμικών τεχνικών DSC & TGA - σχολιασμός αποτελεσμάτων

Το δεδομένο υποκεφάλαιο καταγράφει συνδυαστικά τα γραφήματα που προέκυψαν κατά τη θερμική ανάλυση των βασικών υλικών της πειραματικής διαδικασίας, δηλαδή των ενώσεων προς εγκλεισμό, των πολυμερικών φορέων και του επιφανειοδραστικού συστατικού PVA. Αρχικά καταγράφονται τα γραφήματα από τη διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης για κάθε παράγοντα ακολουθούμενα από τα αντίστοιχα γραφήματα του ίδιου παράγοντα και ενός συνοπτικού πίνακα των θερμικών χαρακτηριστικών του υλικού. Οι εξεταζόμενοι παράγοντες διακρίνονται σε πολυμερικά υλικά και ενώσεις προς εγκλεισμό.

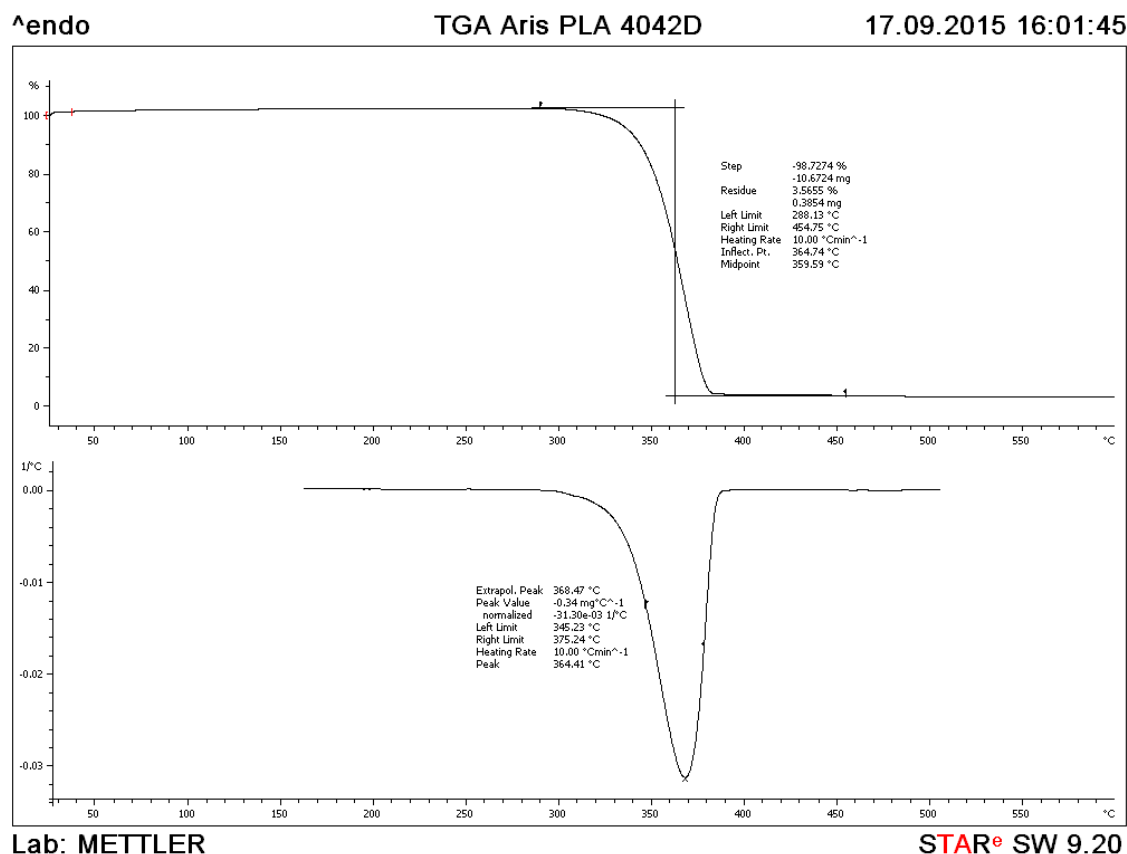
I. Πολυμερικά υλικά

a. PLA 4042D

Το Σχήμα 5.1 αντιστοιχίζεται στο γράφημα DSC του πολυμερούς PLA 4042D το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως πολυμερικός φορέας στα αρχικά πειράματα εγκλεισμών. Ωστόσο, το υλικό εγκαταλείφτηκε στη συνέχεια και αντικαταστάθηκε από το αντίστοιχο χαμηλότερου μοριακού βάρους πολυμερές PLA PLI005. Τα ημιτελή πειράματα εγκλεισμών με το PLA 4042D συνοψίζονται υπό μορφή συζήτησης στο υποκεφάλαιο 5.3.



Σχήμα 5.1. Γράφημα DSC του PLA 4042D



Σχήμα 5.2. Γράφημα TGA του PLA 4042D

Το Σχήμα 5.2 αντιστοιχίζεται στο γράφημα TGA του PLA 4042D το οποίο συμπληρώνει τις πληροφορίες που συλλέγονται από το αντίστοιχο γράφημα του DSC. Ο Πίνακας 5.3 συνοψίζει τα σημαντικότερα θερμικά μεγέθη για το δεδομένο υλικό.

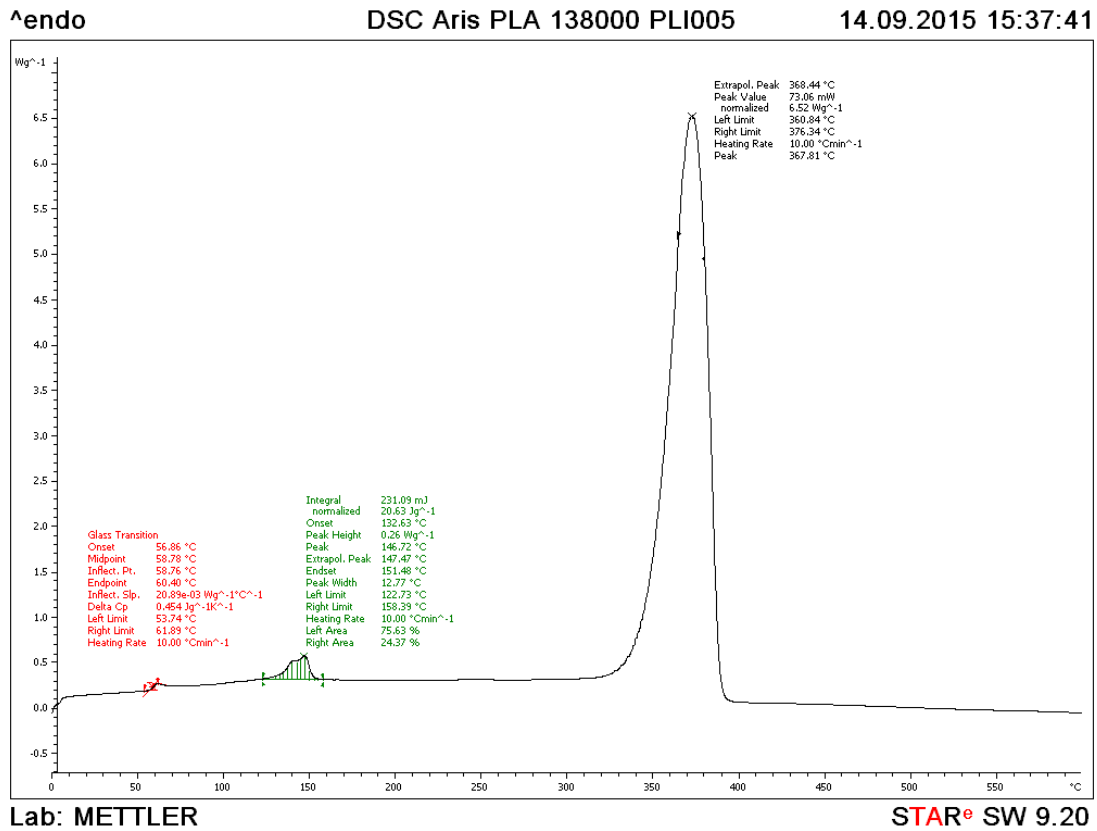
Πίνακας 5.3. Σύνοψη θερμικών ιδιοτήτων PLA 4042D

Υλικό	T_g (°C)	T_m (°C)	ΔH_m (J g ⁻¹)	ΔH_0 (J g ⁻¹)	x_c (%)	T_d (°C)	Υπόλειμμα (%)
PLA 4042D	62,8	156,0	36	93	38,7	364,4	3,7

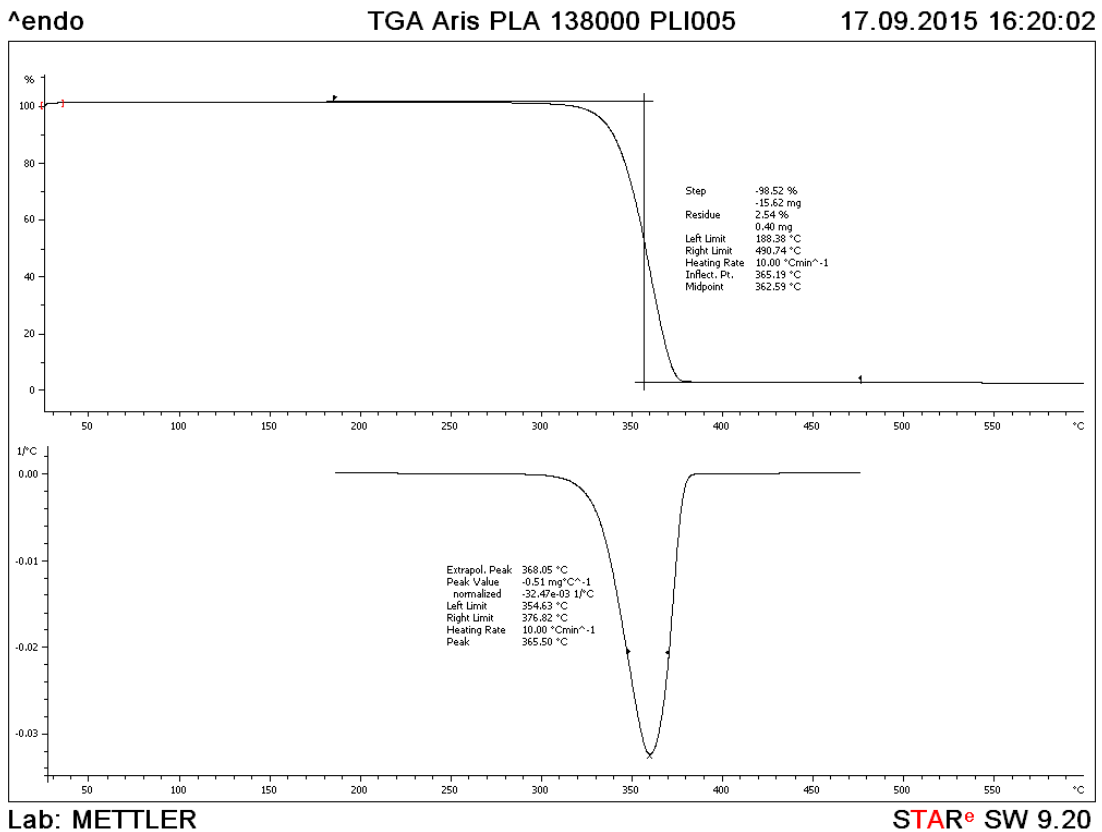
όπου T_g : η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης, T_m : η θερμοκρασία τήξης (σημείο στο οποίο παρατηρείται μέγιστος ρυθμός τήξης του υλικού), ΔH_m : η ενθαλπία τήξης του υλικού, ΔH_0 η πρότυπη ενθαλπία τήξης ενός 100 % κρυσταλλικού υλικού, x_c : η κρυσταλλικότητα του υλικού η οποία προκύπτει από το λόγο της μετρούμενης ενθαλπίας τήξης του υλικού ΔH_m προς την αντίστοιχη ενθαλπία του υλικού όταν είναι 100 % κρυσταλλικό δηλαδή την ΔH_f , T_d : η θερμοκρασία (μέγιστης) διάσπασης/αποικοδόμησης του υλικού και τέλος το υπόλειμμα αντιστοιχίζεται στη μάζα του υλικού που δεν υπέστη θερμική διάσπαση.

Η συνηθέστερα χρησιμοποιούμενη τιμή ενθαλπίας ΔH_0 για το PLA είναι τα 93 J g⁻¹ σύμφωνα με τις αναφορές [104] και [179]. Το δεδομένο υλικό λαμβάνοντας υπόψη την υπολογιζόμενη x_c χαρακτηρίζεται ως ημικρυσταλλικό. Το υπόλειμά του είναι πολύ χαμηλό το οποίο σημαίνει ότι το υλικό αποικοδομείται σχεδόν πλήρως.

b. PLA PLI005



Σχήμα 5.3. Γράφημα DSC του PLA PLI005



Σχήμα 5.4. Γράφημα TGA του PLA PLI005

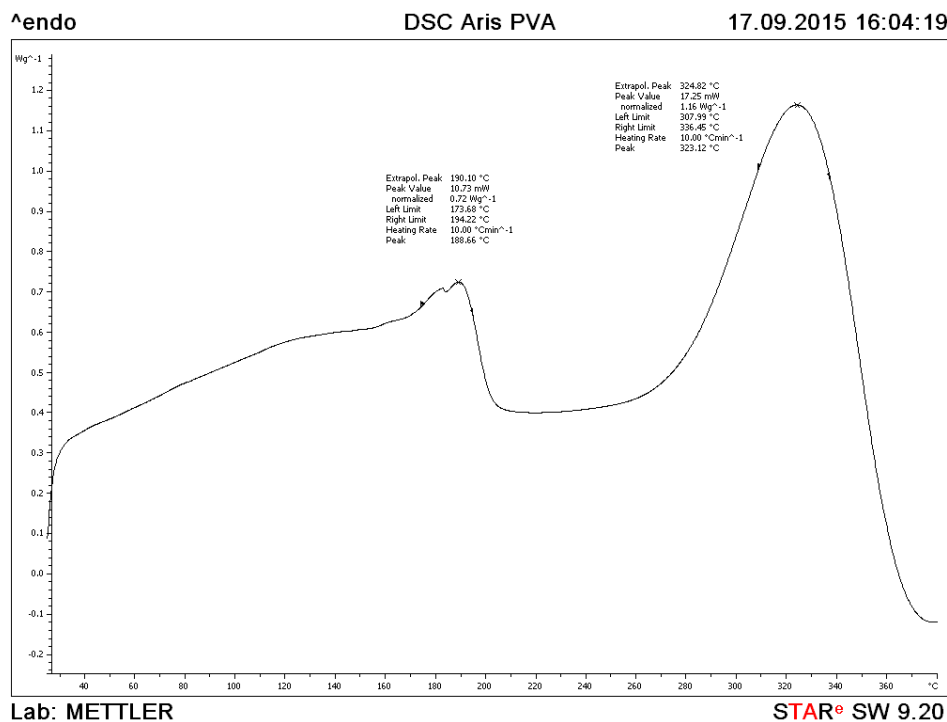
Το Σχήμα 5.3 αποτελεί το γράφημα DSC του πολυμερικού φορέα των βασικών εγκλεισμών της πειραματικής διαδικασίας οι οποίοι συνοψίζονται στο υποκεφάλαιο 5.2.1 (σελ. 106). Αντίστοιχα, το Σχήμα 5.4 αναπαριστά το γράφημα TGA του ίδιου υλικού. Τέλος, ο Πίνακας 5.4 συνοψίζει τα κυριότερα θερμικά μεγέθη του PLI005.

Πίνακας 5.4. Σύνοψη θερμικών ιδιοτήτων PLA PLI005

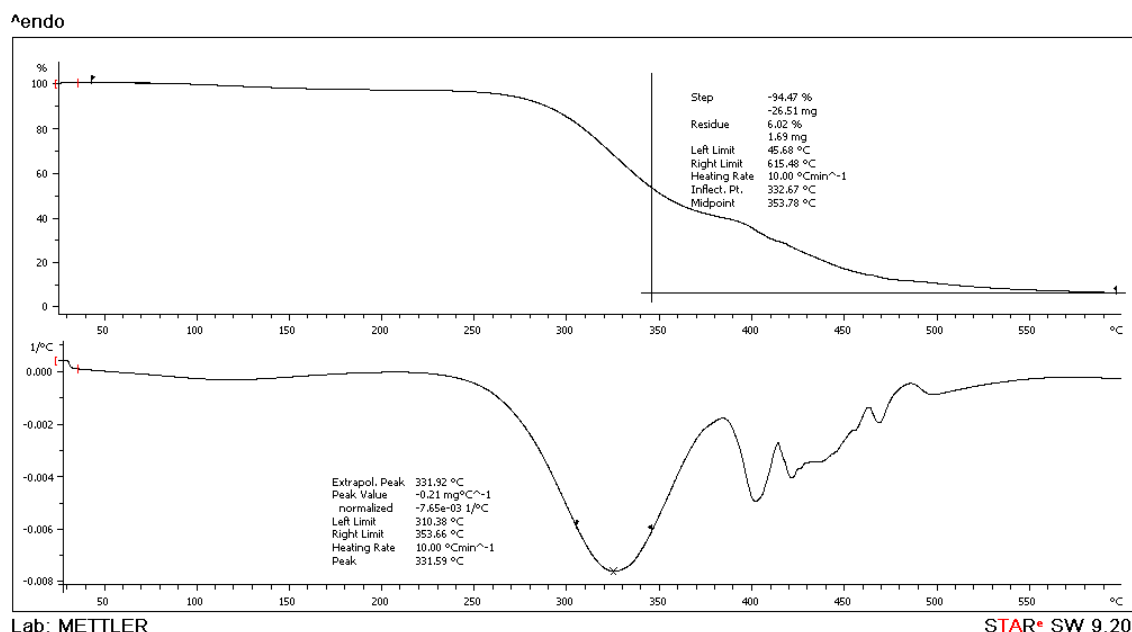
Υλικό	T_g (°C)	T_m (°C)	ΔH_m (J g ⁻¹)	ΔH_f (J g ⁻¹)	x_c (%)	T_d (°C)	Υπόλειμμα (%)
PLA PLI005	58,8	146,7	21	93	22,2	365,5	2,5

Συγκρίνοντας τα θερμικά χαρακτηριστικά του PLA PLI005 με του PLA 4042D προκύπτουν σημεία με ενδιαφέρον προς συζήτηση. Τα δύο πολυμερή παρουσιάζουν παρόμοια T_g με θερμοκρασία αρκετά πιο υψηλή από τη θερμοκρασία της μελλοντικής εφαρμογής των πολυμερικών σωματιδίων με εγκλεισμένες τις βιοδραστικές ενώσεις. Όσον αφορά τις υπόλοιπες χαρακτηριστικές θερμοκρασίες των υλικών προκύπτει ότι η θερμοκρασία τήξης T_m είναι ελαφρώς ελαττωμένη για την περίπτωση του PLI005 κατά περίπου 10 °C, ενώ η θερμοκρασία διάσπασής τους T_d είναι πρακτικά κοινή. Τέλος, η θερμική ανάλυση του PLI005 ανέδειξε περιοχές κρυσταλλικότητας, επομένως το υλικό χαρακτηρίζεται ως ημικρυσταλλικό. Συγκρίνοντας τις τιμές x_c των δύο υλικών προκύπτει ότι το PLA 4042D παρουσιάζει σχεδόν διπλάσια τιμή κρυσταλλικότητας. Αυτή είναι μια ακόμα αιτία για την οποία το PLA 4042D διαλύεται αποκλειστικά σε χλωριωμένους διαλύτες, σε αντίθεση με το PLI005 το οποίο παρουσιάζει διαλυτότητα τόσο σε χλωριωμένους διαλύτες όσο και στην ακετόνη.

c. PVA



Σχήμα 5.5. Γράφημα DSC του PVA



Σχήμα 5.6. Γράφημα TGA του PVA

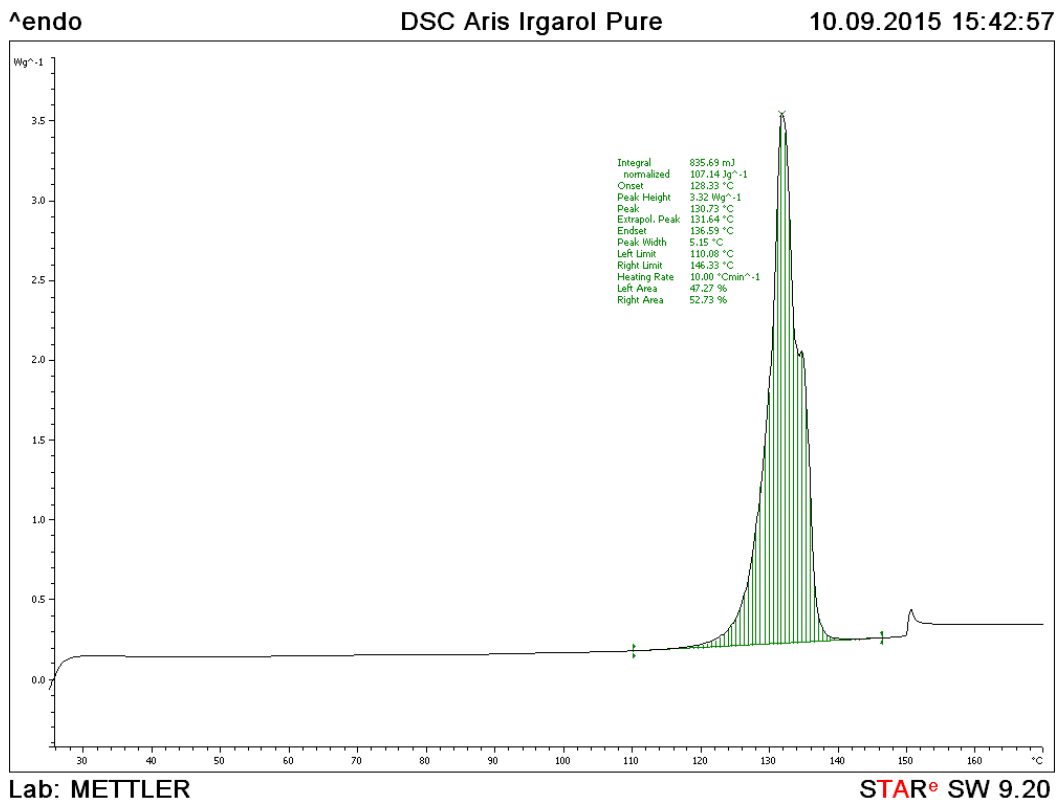
Το γράφημα που παρουσιάζει το Σχήμα 5.5 αποτελεί την εικόνα DSC του PVA. Αντίστοιχα, το Σχήμα 5.6 αποτελεί το γράφημα TGA του ίδιου δείγματος. Υπενθυμίζεται ότι η PVA αποτελεί το μέσο σταθεροποίησης των σωματιδίων κατά τη διαδικασία της εξάτμισης του οργανικού διαλύτη και το μέσο γαλακτωματοποίησης κατά το στάδιο παρασκευής των γαλακτωμάτων.

Από το γράφημα DSC της πολυ(βινυλικής αλκοόλης) παρατηρείται αύξηση στη ροή θερμότητας από την έναρξη της θέρμανσης του υλικού. Σύμφωνα με την αναφορά [180], το σημείο υαλώδους μετάπτωσης της PVA εντοπίζεται βιβλιογραφικά σε δύο περιοχές: τους 70 °C και τους 85 °C. Η γνησίως αύξουσα συμπεριφορά της καμπύλης DSC στη θερμοκρασιακή ζώνη 40 – 140 °C δεν επιτρέπει την εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με την ακριβή παρουσία του T_g του υλικού. Επιπλέον, παρατηρείται από το γράφημα TGA ότι από τους περίπου 50 °C λαμβάνουν χώρα φαινόμενα απώλειας μάζας τα οποία δυσχεραίνουν την εύρεση του T_g . Τα παρατηρούμενα φαινόμενα απώλειας μάζας αποδίδονται στην αφαίρεση της υγρασίας του υλικού. Άλλωστε, η PVA αποτελεί ένα υγροσκοπικό/υδατοδιαλυτό υλικό, επομένως ήταν αναμενόμενη η εμφάνιση φαινομένων απώλειας μάζας σε σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες.

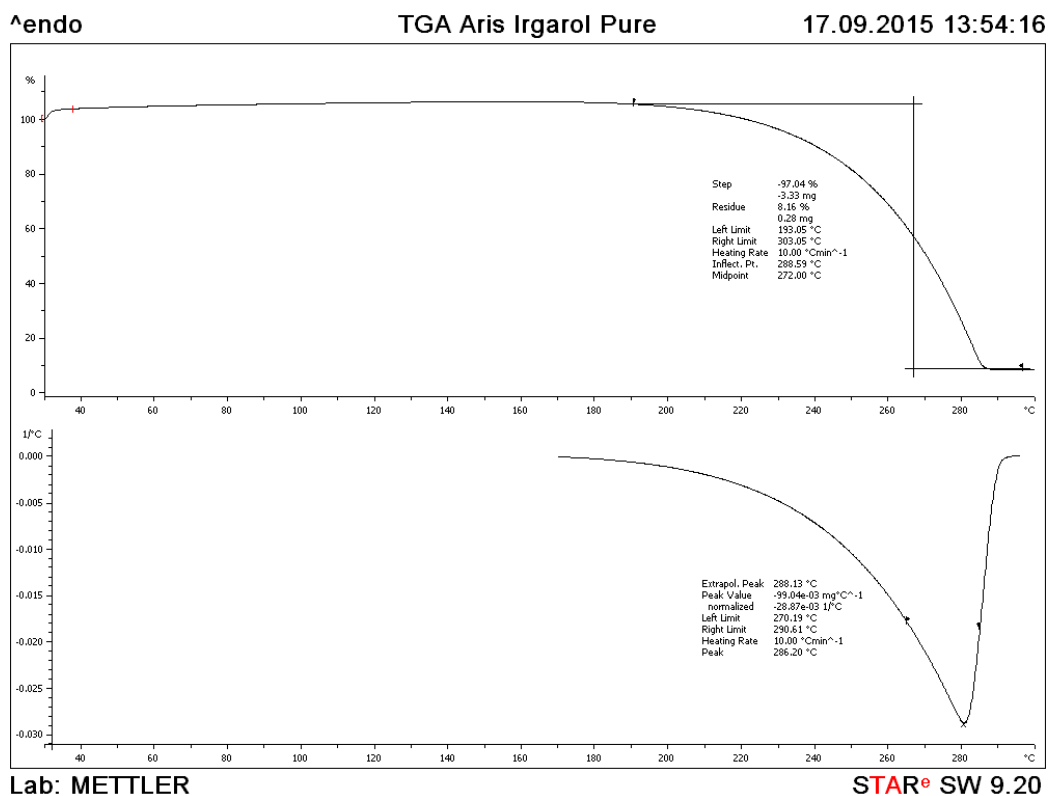
Ενδόθερμη περιοχή τήξης με κορυφή τους 189 °C παρατηρείται στο γράφημα DSC του εξαταζόμενου δείγματος. Η δεδομένη θερμοκρασία τήξης απέχει 11 °C από τη θερμοκρασία τήξης που εντοπίζει ο κατασκευαστής. Η σταθεροποίηση της καμπύλης του γραφήματος TGA σε μία σταθερή τιμή στην ενδόθερμη περιοχή αποτελεί στοιχείο επιβεβαίωσης ότι πρόκειται για φαινόμενο τήξης. Ενδόθερμη διάσπαση του υλικού πραγματοποιείται από τιμές θερμοκρασίας μεγαλύτερες από 220 °C. Στη συνέχεια παρατηρείται μία μέγιστη κορυφή διάσπασης στους 332 °C. Τέλος, το υπόλειμμα του δείγματος ανέρχεται στο 6,0 % της αρχικής μάζας του.

II. Ενώσεις προς εγκλεισμό

a. Irgarol 1051™



Σχήμα 5.7. Γράφημα DSC του Irgarol 1051™



Σχήμα 5.8. Γράφημα TGA του Irgarol 1051™

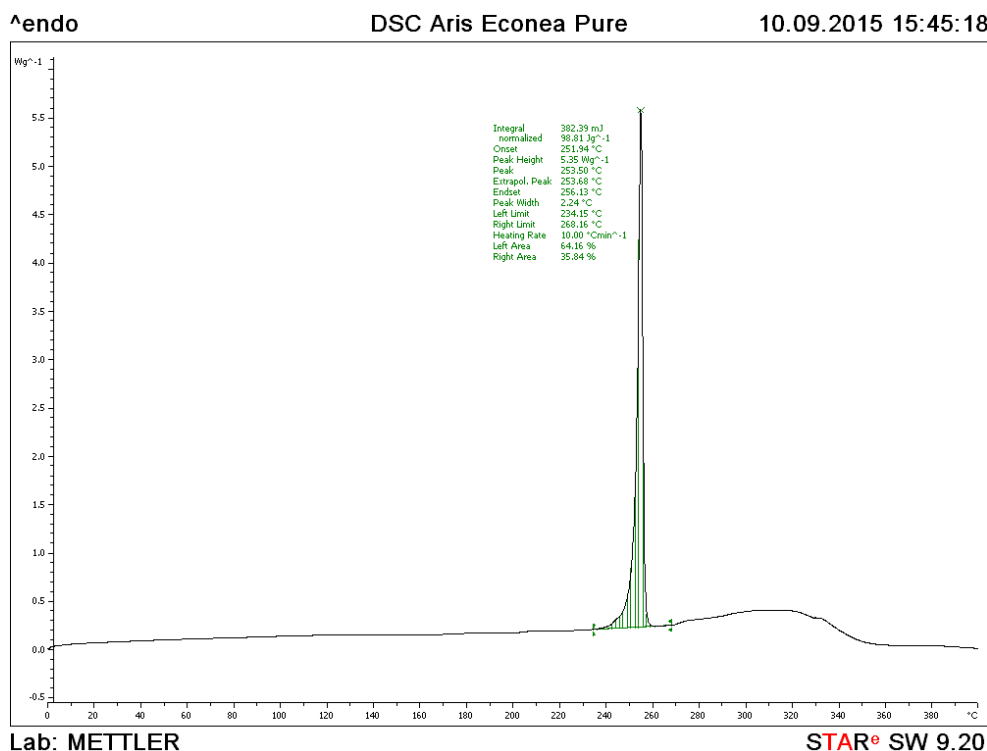
Το Σχήμα 5.7 αντιστοιχίζεται στο γράφημα DSC του Irgarol 1051TM, ενώ το Σχήμα 5.8 αποτελεί το συμπληρωματικό γράφημα TGA της ίδιας ένωσης. Η καμπύλη τήξης στο γράφημα DSC είναι εύκολα διακριτή στην περιοχή 110 με 150 °C και δεν περιπλέκεται με κάποιο άλλο φαινόμενο απώλειας μάζας όπως φαίνεται από το γράφημα TGA. Η προσδιοριζόμενη θερμοκρασία τήξης της ένωσης βρίσκεται εντός του θερμοκρασιακού εύρους τιμών που παρουσιάζει ο Πίνακας 2.4, δηλαδή τις θερμοκρασίες που δίνει ο προμηθευτής της ένωσης. Η έναρξη φαινομένων απώλειας μάζας εντοπίζεται κοντά στους 190 °C και ο ρυθμός απώλειας μάζας μεγιστοποιείται στους 286 °C. Ο Πίνακας 5.5 καταγράφει τα κυριότερα θερμικά μεγέθη για το Irgarol 1051TM.

Πίνακας 5.5. Σύνοψη θερμικών ιδιοτήτων Irgarol 1051TM

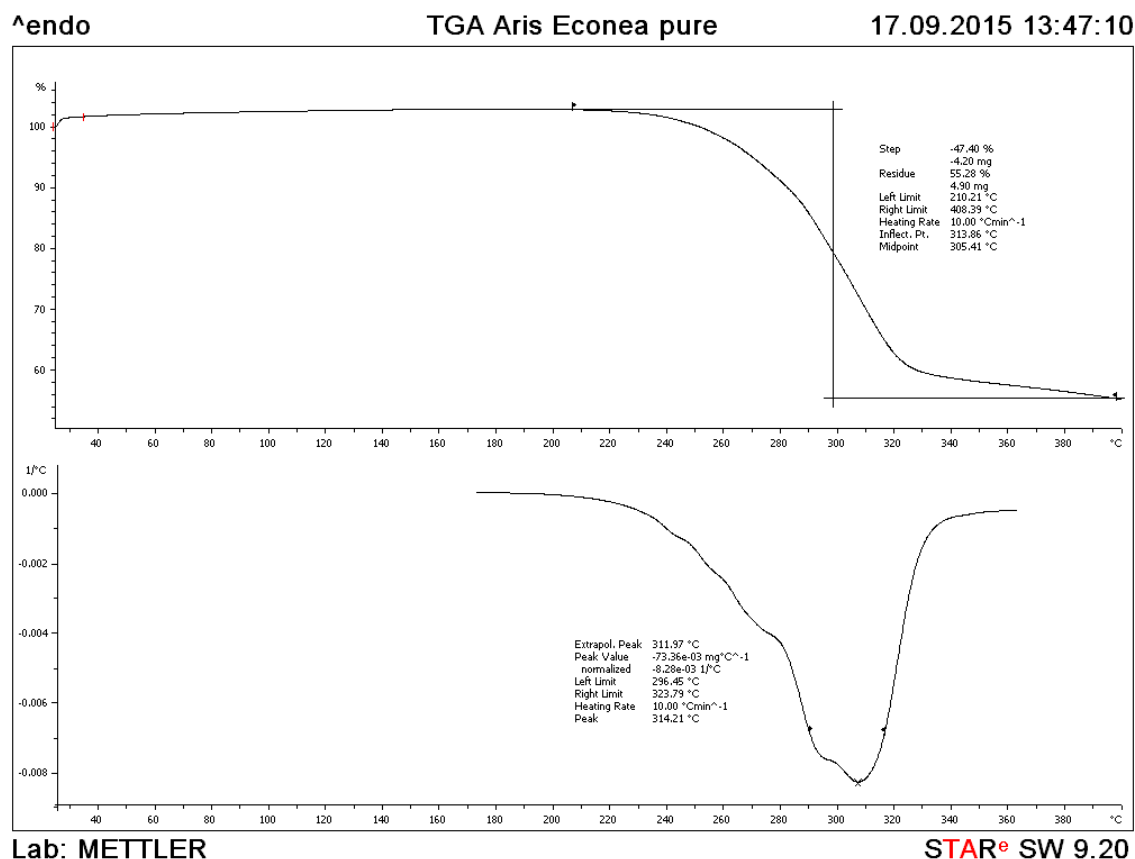
Υλικό	T_m (°C)	ΔH_m (J g ⁻¹)	T_d (°C)	Υπόλειμμα (%)
Irgarol 1051 TM	130,7	107	286,2	8,2

b. EconeaeTM

Το Σχήμα 5.9 αντιστοιχίζεται στο γράφημα DSC της Econeae. Επιπλέον, το Σχήμα 5.10 παρουσιάζει το γράφημα TGA της ένωσης οπότε αποκαλύπτονται όλες οι βασικές θερμικές πληροφορίες του υλικού. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η καμπύλη που παρατηρείται στο γράφημα DSC δεν αποτελεί αποκλειστικά τήξη του υλικού, αφού συνοδεύεται από ταυτόχρονη απώλεια μάζας για θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 230 °C. Η πρώτη παράγωγος της καμπύλης διάσπασης του υλικού δεν παρουσιάζει την κλασσική ομοιόμορφη συμπεριφορά ανάποδης καμπάνας, αλλά καταγράφονται διακυμάνσεις στο ρυθμό απώλειας μάζας. Τέλος, το υπόλειμμα της ένωσης είναι υψηλό εξαιτίας της παρουσίας ανόργανων στοιχείων (π.χ Br) στο μόριο.



Σχήμα 5.9. Γράφημα DSC της EconeaeTM

Σχήμα 5.10. Γράφημα TGA της EcomeaTM

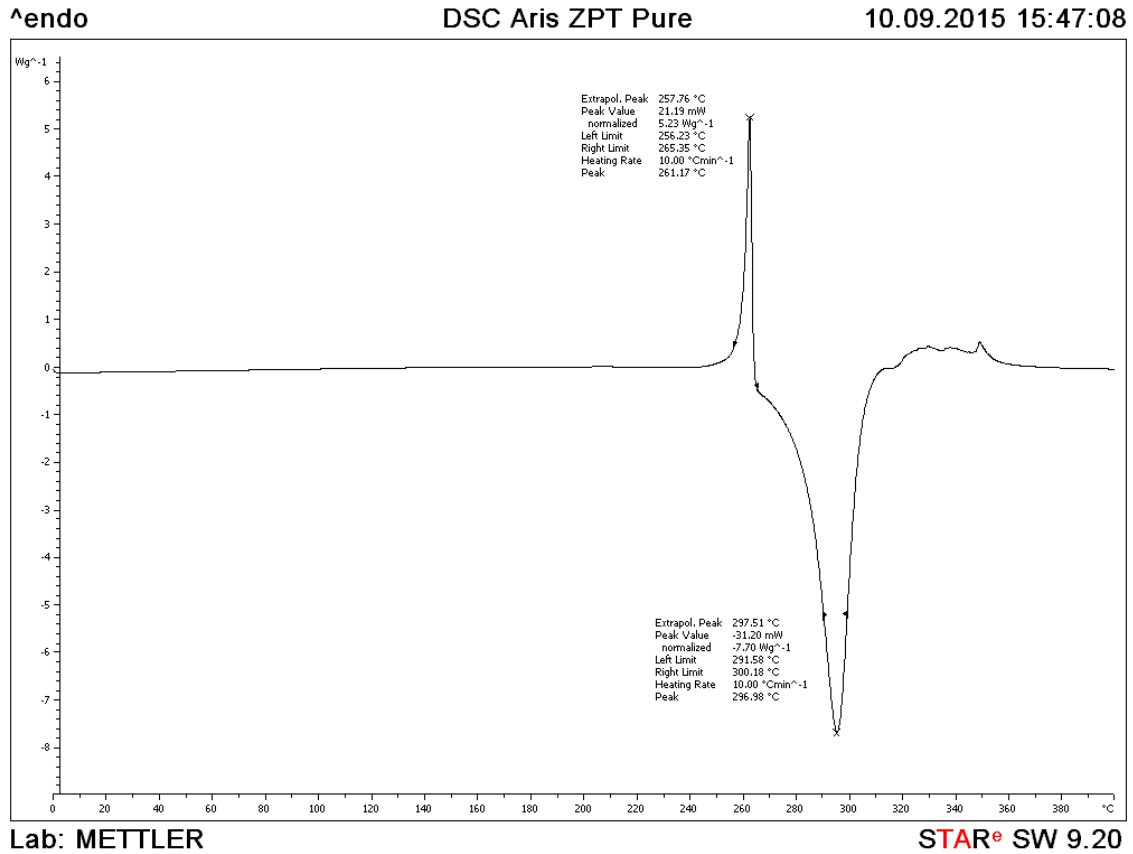
Ο Πίνακας 5.6 συνοψίζει τα κυριότερα θερμικά μεγέθη που αφορούν την Ecomea. Τα μεγέθη της ενθαλπίας και της θερμοκρασίας τήξης δεν είναι απόλυτα ακριβή εξαιτίας των ταυτόχρονων ενδόθερμων φαινομένων απώλειας μάζας.

Πίνακας 5.6. Σύνοψη θερμικών ιδιοτήτων Ecomea

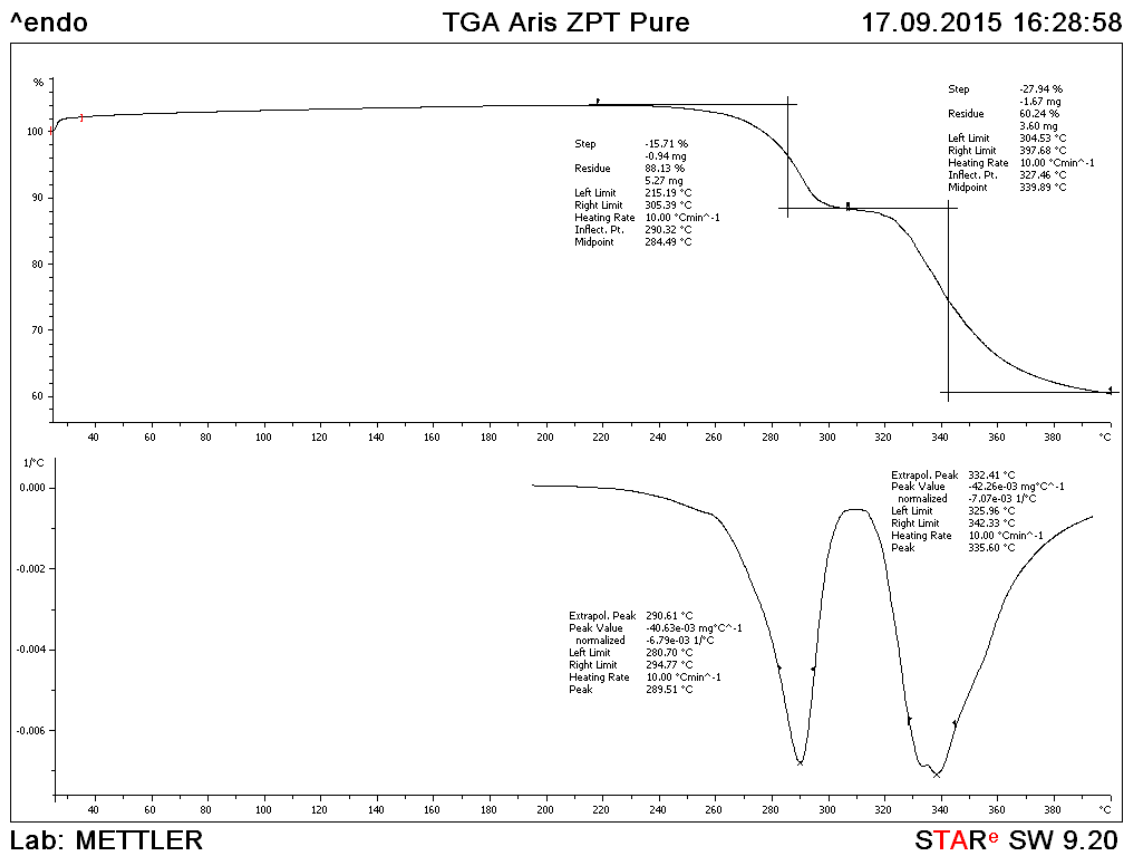
Υλικό	T_m (°C)	ΔH_m (J g ⁻¹)	T_d (°C)	Υπόλειμμα (%)
Ecomea TM	<253,5	<99	314,2	55,3

c. Zinc Pyrithione

Το Σχήμα 5.11 και το Σχήμα 5.12 αποτελούν τα γραφήματα DSC και TGA της ένωσης του Zinc Pyrithione. Για τη δεδομένη ένωση είναι γνωστό ότι διασπάται πριν την τήξη της, επομένως ήταν αναμενόμενη η καταγραφή ενός αντίστοιχου γραφήματος DSC. Μάλιστα, από το TGA γράφημα της ένωσης προκύπτει ότι η διάσπαση της ένωσης λαμβάνει χώρα σε δύο κύρια στάδια με θερμοκρασίες μέγιστου ρυθμού διάσπασης τους 289,5 και τους 335,6 °C. Η πρώτη διεργασία διάσπασης είναι συνολικά ενδόθερμη, ενώ η δεύτερη διεργασία διάσπασης είναι εξώθερμη σύμφωνα με το γράφημα DSC. Τέλος, σημαντικό προς αναφορά είναι το γεγονός ότι το καταγραφόμενο υπόλειμμα μάζας της ένωσης είναι ιδιαίτερα υψηλό (60,2 %) και αποτελεί το μεγαλύτερο καταγραφόμενο υπόλειμμα συγκριτικά με τις υπόλοιπες ενώσεις με αντιβιοεπιπρωτικές ιδιότητες που αναλύθηκαν μέσω TGA. Αυτή η συμπεριφορά είναι λογική λαμβάνοντας υπόψη ότι περίπου το 21 % του βάρους του μορίου του ZPT είναι ψευδάργυρος.



Σχήμα 5.11. Γράφημα DSC του Zinc Pyrrhione



Σχήμα 5.12. Γράφημα TGA του Zinc Pyrrhione

5.2 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων

5.2.1 Σύνοψη παραμέτρων ολοκληρωμένων εγκλεισμών

Ο Πίνακας 5.7 συνοψίζει τις κυριότερες παραμέτρους των συνταγών της πειραματικής διαδικασίας οι οποίες ολοκληρώθηκαν επιτυχώς και χαρακτηρίστηκαν πλήρως από όλα τα διαθέσιμα αναλυτικά εργαλεία. Μεγάλος αριθμός πειραμάτων πραγματοποιήθηκε μέχρι να ρυθμιστεί κάθε παράμετρος της διεργασίας, ωστόσο οι διαθέσιμες πληροφορίες από αυτά τα πειράματα περιορίζονται ως επί το πλείστον στο μέγεθος των σωματιδίων και της απόδοσης εγκλεισμού στις περιπτώσεις των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση. Επομένως, αυτά τα πειράματα θα αξιοποιηθούν σε ξεχωριστό κεφάλαιο και πιο συγκεκριμένα στο υποκεφάλαιο 5.3 υπό μορφή συζήτησης για την αποφυγή παρόμοιων λαθών στο μέλλον.

Πίνακας 5.7. Σύνοψη κύριων παραμέτρων των τελικών ολοκληρωμένων πειραμάτων

Παράμετρος	Κενά σωματίδια	Σωματίδια με Irgarol	Σωματίδια με Econea	Σωματίδια με ZPT
Μάζα PLA PLI005 (mg)	52,6	51,9	50,0	48,3
Όγκος οργανικού διαλύτη (ml)	5	5	5	5
Συγκέντρωση PLA στην οργανική φάση (mg ml ⁻¹)	10,5	10,4	10,0	9,7
Όγκος υδατικής φάσης (ml)	25	25	25	25
Συγκέντρωση PVA (%)	1	1	1	1
Λόγος οργανικής προς υδατική φάση	1:5	1:5	1:5	1:5
Μάζα ένωσης προς εγκλεισμό (mg)	-	21,6	21,9	19,0
Λόγος μάζας ένωσης προς μάζα πολυμερούς ² (%)	-	41,6 %	43,8 %	39,3%
Συνολική θεωρητική μάζα σωματιδίων (mg)	52,6	73,5	71,9	67,3

Υπενθυμίζεται ότι ως οργανικός διαλύτης χρησιμοποιήθηκε η ακετόνη για την περίπτωση των κενών σωματιδίων, αλλά και των σωματιδίων με εγκλεισμένο Irgarol και Econea, ενώ αντίθετα για ZPT χρησιμοποιήθηκε στην οργανική φάση DCM. Όλες οι υπόλοιπες παράμετροι των ανωτέρω πειραμάτων είναι κοινές.

² Ο συγκεκριμένος όρος συναντάται και ως ποσοστό φόρτωσης των σωματιδίων σε ενεργή ένωση (% drug loading) στη βιβλιογραφία, ο οποίος είναι ανακριβής διότι η μάζα της ένωσης ανάγεται στη μάζα του πολυμερούς αντί για τη θεωρητική μάζα των σωματιδίων (μάζα πολυμερούς και ένωσης).

5.2.2 Μέγεθος και ζ-δυναμικό νανοσωματιδίων

Το μέγεθος των σωματιδίων, ο δείκτης πολυδιασποράς PDI και το ζ-δυναμικό των σωματιδίων προσδιορίστηκαν στη συσκευή Zetasizer Nano ZS της Malvern με τα δείγματα σε μορφή διασποράς τόσο πριν όσο και μετά τη διαδικασία λυοφιλοποίησης όπως περιγράφηκε στην πειραματική διαδικασία (σελίδες 88-89). Ο Πίνακας 5.8 καταγράφει τις προκύπτουσες τιμές μεγεθών για τα τελικά ολοκληρωμένα πειράματα πριν τη διαδικασία λυοφιλοποίησης. Σημειώνεται ότι ως μέγεθος σωματιδίων λαμβάνεται το μέγεθος z-average size (σελίδα 86) και ως βάση τα γραφήματα έντασης – μεγέθους σωματιδίων, ενώ οι μετρήσεις pH πραγματοποιηθήκαν με τη βοήθεια πεχαμετρικού χαρτιού εξαιτίας του περιορισμένου όγκου των δειγμάτων.

Πίνακας 5.8. Τιμές μεγέθους, PDI και ζ-δυναμικού σωματιδίων τελικών πειραμάτων εγκλεισμού πριν τη διαδικασία λυοφιλοποίησης

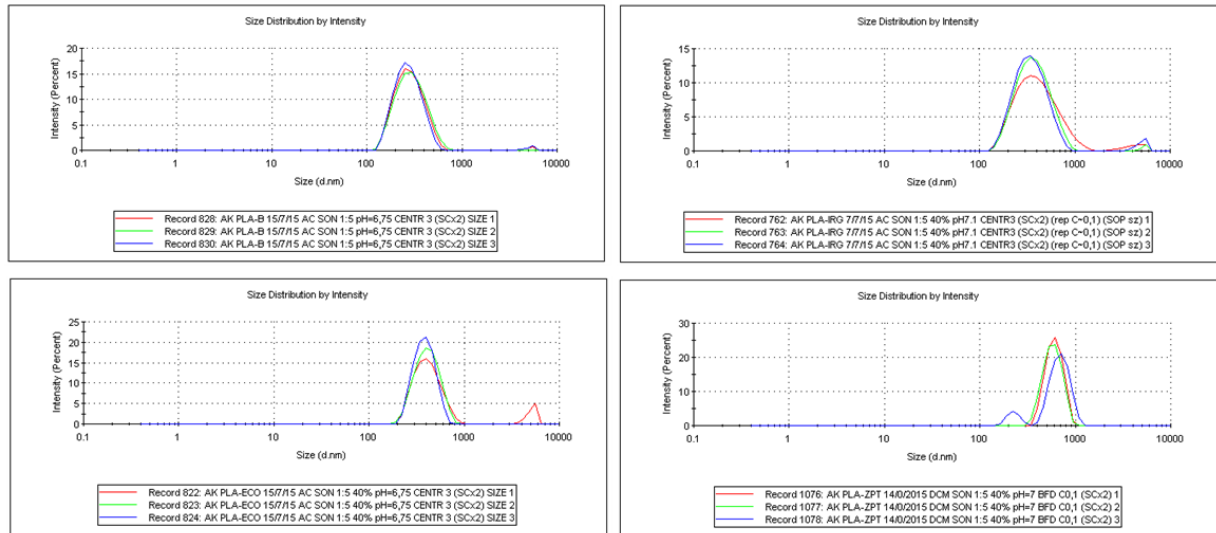
Μετρούμενο μέγεθος	Κενά σωματίδια	Σωματίδια με Irgarol	Σωματίδια με Econea	Σωματίδια με ZPT
Μέγεθος σωματιδίων (nm)	273,1 ± 3,1	360,7 ± 9,8	529,9 ± 2,7	1165,3 ± 87,3
Δείκτης πολυδιασποράς [PDI]	0,163 ± 0,020	0,226 ± 0,010	0,434 ± 0,066	0,669 ± 0,084
ζ-δυναμικό	-14,23 ± 2,80	-8,65 ± 0,61	-3,83 ± 0,16	-7,98 ± 0,23
pH	7	7	7	7

Αντίστοιχα, ο Πίνακας 5.9 συνοψίζει τις τιμές μεγεθών που προσδιορίστηκαν για τα τελικά πλήρως χαρακτηρισμένα πειράματα μετά τη διαδικασία λυοφιλοποίησης.

Πίνακας 5.9. Τιμές μεγέθους, PDI και ζ-δυναμικού σωματιδίων τελικών πειραμάτων μετά τη διαδικασία λυοφιλοποίησης

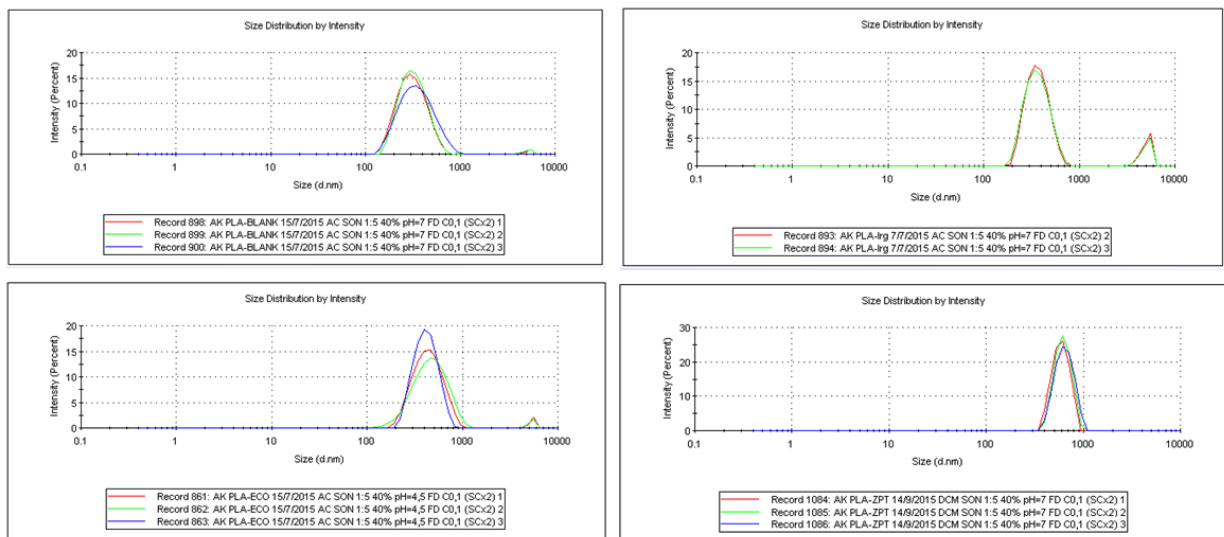
Μετρούμενο μέγεθος	Κενά σωματίδια	Σωματίδια με Irgarol	Σωματίδια με Econea	Σωματίδια με ZPT
Μέγεθος σωματιδίων (nm)	311,9 ± 7,5	465,0 ± 11,9	529,2 ± 3,5	1013,3 ± 53,5
Δείκτης πολυδιασποράς [PDI]	0,169 ± 0,015	0,400 ± 0,039	0,300 ± 0,009	0,592 ± 0,008
ζ-δυναμικό	-11,10 ± 0,46	-9,43 ± 0,43	-2,17 ± 0,11	-11,33 ± 0,57
pH	7	7	7	7

Το Σχήμα 5.13 καταγράφει τα γραφήματα έντασης – μεγέθους σωματιδίων για τα τελικά πειράματα πριν τη λυοφιλοποίηση.



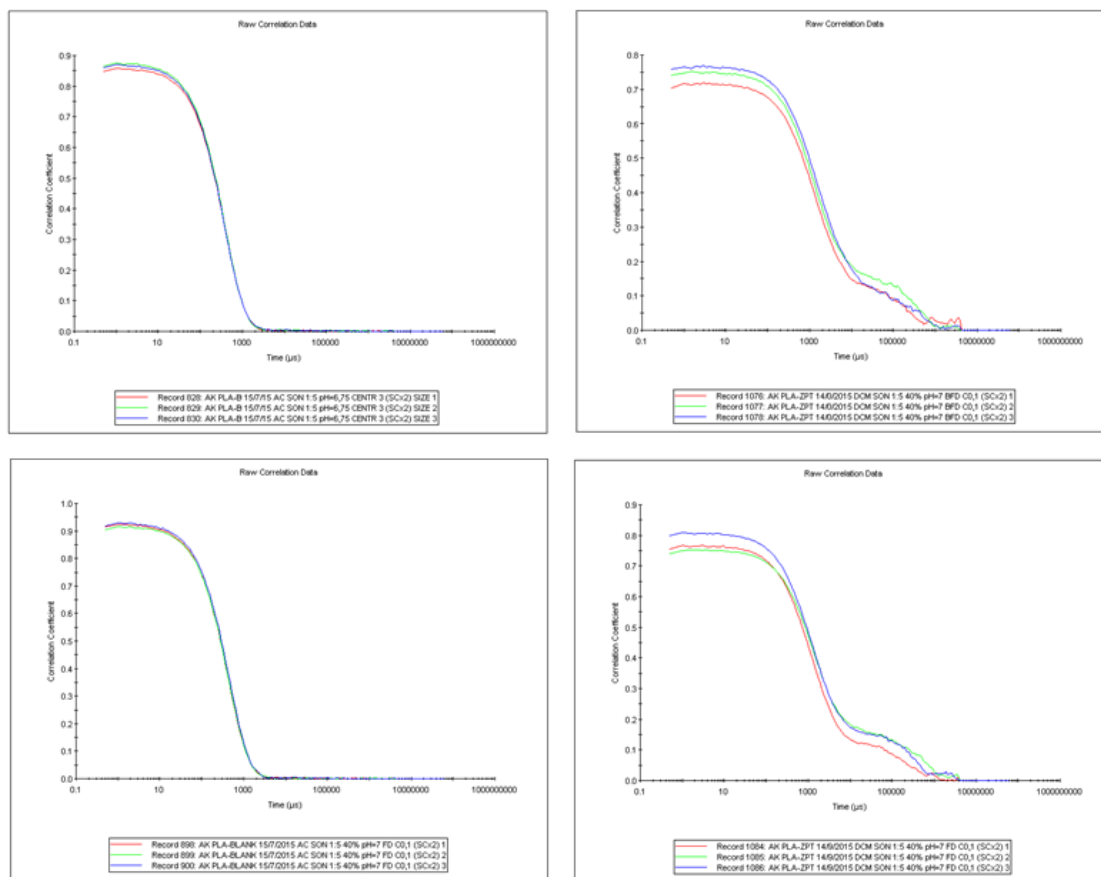
Σχήμα 5.13. Γραφήματα % έντασης - μεγέθους σωματιδίων για τα τελικά πειράματα πριν τη λυοφιλοποίηση (1^η σειρά: κενά σωματίδια και με Irgarol, 2^η σειρά: με Econeal και με ZPT)

Αντίστοιχα, το Σχήμα 5.14 παρουσιάζει τα γραφήματα ποσοστιαίας έντασης - μεγέθους σωματιδίων για τα τελικά πειράματα μετά τη λυοφιλοποίηση.



Σχήμα 5.14. Γραφήματα % έντασης - μεγέθους σωματιδίων για τα τελικά πειράματα μετά τη λυοφιλοποίηση (1^η σειρά: κενά σωματίδια και με Irgarol, 2^η σειρά: με Econeal και με ZPT)

Δέον όπως επισημανθεί ότι για την περίπτωση των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το Zinc Pyrithione (ZPT) η αντιστοίχιση των μαθηματικών μοντέλων της θεωρίας της DLS στα πειραματικά δεδομένα δεν ήταν επιτυχής εξαιτίας των μεγάλων σωματιδίων που παρασκευάστηκαν στα όρια της περιοχής μεταξύ μικρο- και νανοκλίμακας. Το Σχήμα 5.15 παρουσιάζει τα αντίστοιχα γραφήματα συσχέτισης - χρόνου (correlation graphs) για την περίπτωση των κενών σωματιδίων και των αντίστοιχων με εγκλεισμένη ένωση το ZPT πριν και μετά τη λυοφιλοποίηση. Παρατηρείται χαρακτηριστική μη ομαλή συμπεριφορά στην «ουρά» της καμπύλης για την περίπτωση του ZPT η οποία ισοδυναμεί με μεγάλο μέγεθος σωματιδίων και πολυδιάσπαρτο δείγμα.



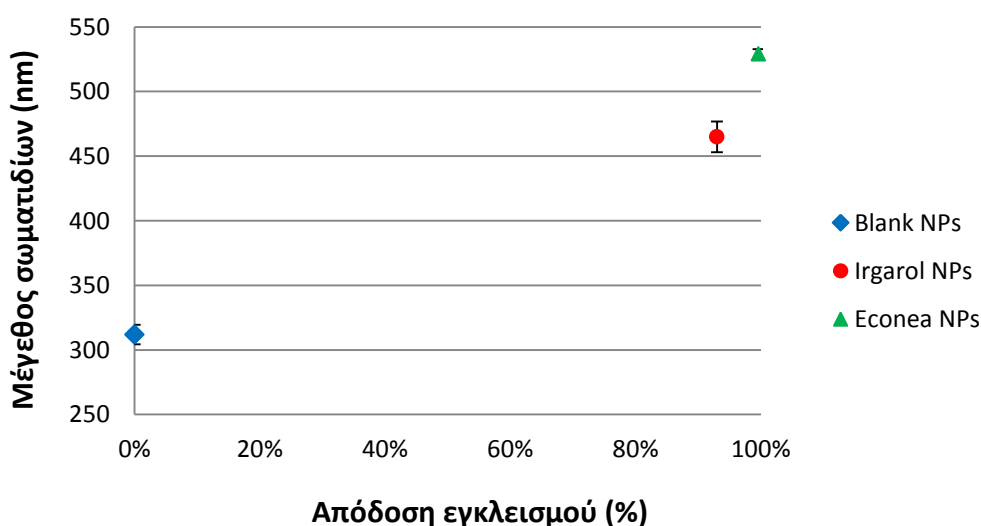
Σχήμα 5.15. Γραφήματα συντελεστή συσχέτισης - χρόνου για την περίπτωση των κενών σωματιδίων (αριστερή στήλη) και των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το ZPT (δεξιά στήλη) πριν (πάνω σειρά) και μετά τη λυοφιλοποίηση (κάτω σειρά)

Επομένως, τα αποτελέσματα για το μέγεθος και το δείκτη πολυδιασποράς αυτών των σωματιδίων δεν είναι αξιόπιστα και απαιτούν περαιτέρω διερεύνηση είτε με άλλες τεχνικές (π.χ SEM, TEM) είτε επανασχεδιασμό του πειράματος με νέες παραμέτρους μέχρι εύρεσης της κατάλληλης συνταγής. Υπενθυμίζεται ότι η μοναδική ουσιαστική διαφοροποίηση μεταξύ των υπόλοιπων τελικών πειραμάτων και του εγκλεισμού με την ένωση του Zinc Pyrithione είναι η χρήση του μη αναμειγμένου με το νερό DCM αντί για την ακετόνη ως κύριο συστατικό της οργανικής φάσης. Η αύξηση του μεγέθους των σωματιδίων για την περίπτωση του ZPT οφείλεται ενδεχομένως στο διχλωρομεθάνιο για τους δύο επόμενους λόγους:

1. Το διχλωρομεθάνιο παρουσιάζει τιμή δυναμικού ιξώδους (0,413 cP | $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) αυξημένη συγκριτικά με την ακετόνη (0,306 cP | $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) [181]. Αυτό σημαίνει ότι το συνολικό ιξώδες της οργανικής φάσης είναι μεγαλύτερο στην περίπτωση του διχλωρομεθανίου για ίδια συγκέντρωση πολυμερούς και ένωσης. Η αύξηση του δυναμικού ιξώδους της οργανικής φάσης οδηγεί σε δυσκολότερη διατμητική διάσπαση των σταγονιδίων σε μικρότερα, επομένως τα σχηματιζόμενα σταγονίδια οργανικής φάσης διχλωρομεθανίου παρουσιάζουν αυξημένο μέγεθος συγκριτικά με της ακετόνης.

2. Η ακετόνη είναι πλήρως αναμειζίμη με το νερό και έχει τη δυνατότητα αυθόρμητης γαλακτωματοποίησης στο νερό. Αντίθετα, το διχλωρομεθάνιο είναι μη αναμειζίμο και παρουσιάζει χαμηλή διαλυτότητα στο νερό. Τα ανωτέρω οδηγούν στο συμπέρασμα ότι ανεξάρτητα της συσκευής παροχής εξωτερικής ενέργειας (εδώ συσκευή υπερήχων με ακίδα), η ακετόνη διασπείρεται πλήρως και σχηματίζει ευκολότερα σταγονίδια (φάση O) στην υδατική φάση W. Επιπλέον, η χαμηλή διαλυτότητα του διχλωρομεθανίου στο νερό ισοδυναμεί με πιο αργό ρυθμό διάχυσης προς την υδατική φάση και τελικά εξάτμισής του. Αυτό σημαίνει ότι ο ρυθμός στερεοποίησης (solidification rate) από σταγονίδια O σε σωματίδια είναι αυξημένος για την περίπτωση της ακετόνης συγκριτικά με του διχλωρομεθανίου. Ο βραδύς ρυθμός στερεοποίησης όταν χρησιμοποιείται DCM οδηγεί ενδεχομένως σε διόγκωση των τελικών σωματιδίων.

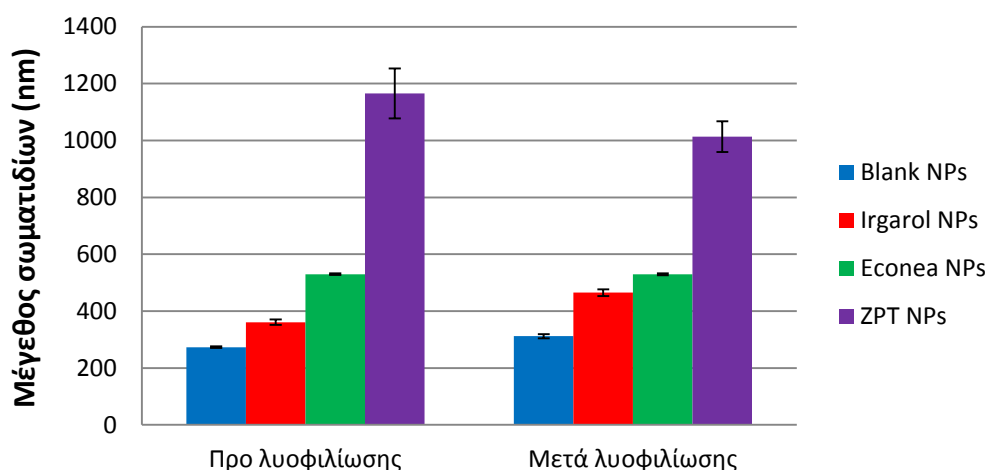
Όσον αφορά τα πειράματα στα οποία χρησιμοποιήθηκε ακετόνη ως κύριο συστατικό της οργανικής φάσης παρατηρείται αυξανόμενο μέγεθος σωματιδίων όσο αυξάνεται το ποσοστό της εγκλεισμένης ουσίας εντός αυτών (για τα αποτελέσματα των εγκλεισμών στο αντίστοιχο υποκεφάλαιο σελ. 116). Το Σχήμα 5.16 παρουσιάζει το μέγεθος των σωματιδίων μετά τη λυοφιλοποίηση που παρασκευάστηκαν με τη βοήθεια ακετόνης κατά το στάδιο της γαλακτωματοποίησης σε συνάρτηση με την προσδιοριζόμενη άμεση απόδοση εγκλεισμού. Η αύξηση στην απόδοση εγκλεισμού των ενώσεων οδηγεί σε αύξηση του μεγέθους των σωματιδίων. Η προηγούμενη συμπεριφορά κρίνεται λογική λαμβάνοντας υπόψη ότι αυξανόμενης της μάζας της ένωσης εντός της πολυμερικής μήτρας οδηγεί σε εντονότερη διόγκωση των σωματιδίων.



Σχήμα 5.16. Μέγεθος σωματιδίων ως συνάρτηση της απόδοσης εγκλεισμού των ενώσεων

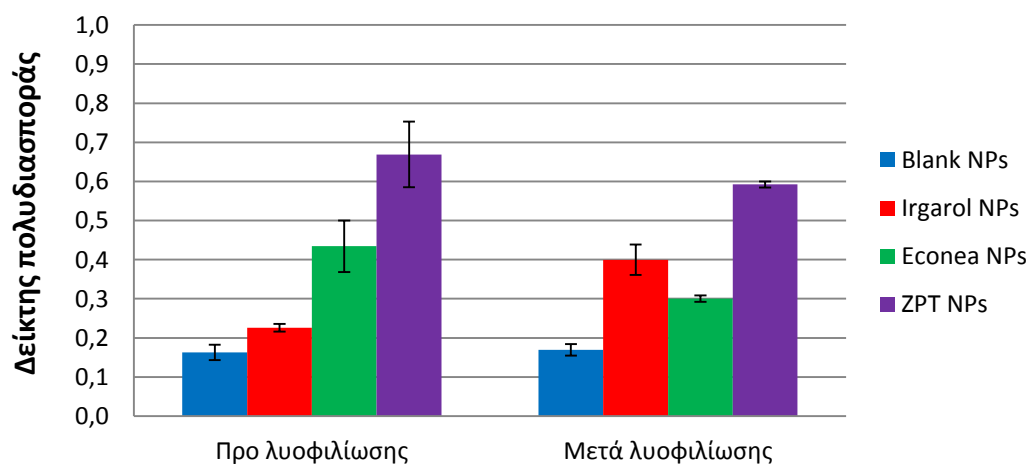
Ενδιαφέρον παρουσιάζει η μελέτη του μεγέθους των σωματιδίων καθώς και του δείκτη πολυδιασποράς πριν και μετά τη λυοφιλοποίηση. Το Σχήμα 5.17 καταγράφει τη συμπεριφορά του μεγέθους των σωματιδίων πριν και μετά την απομόνωσή τους από το αρχικό υδατικό μέσο τους. Παρατηρείται ότι τα μεγέθη των σωματιδίων δεν

υφίστανται θεαματικές μεταβολές πριν και μετά τη λυοφιλοποίησή τους παρά την απουσία κρυοπροστατευτικών ενώσεων. Η μεταβολή του μεγέθους των κενών σωματιδίων και των σωματιδίων με εγκλεισμένο Irgarol οφείλονται στη δημιουργία συσσωματωμάτων κατά τη διαδικασία λυοφιλοποίησης. Επιπλέον, επισημαίνεται ότι τα σωματίδια του ZPT δε χρήζουν σύγκρισης πριν και μετά τη λυοφιλοποίηση, αφού οι τιμές του μεγέθους τους είναι αναξιοπίστες σύμφωνα με τα προαναφερθέντα και απλά παρατέθηκαν για συγκριτικούς λόγους με τα υπόλοιπα σωματίδια.



Σχήμα 5.17. Μέγεθος σωματιδίων πριν και μετά τη λυοφιλοποίηση

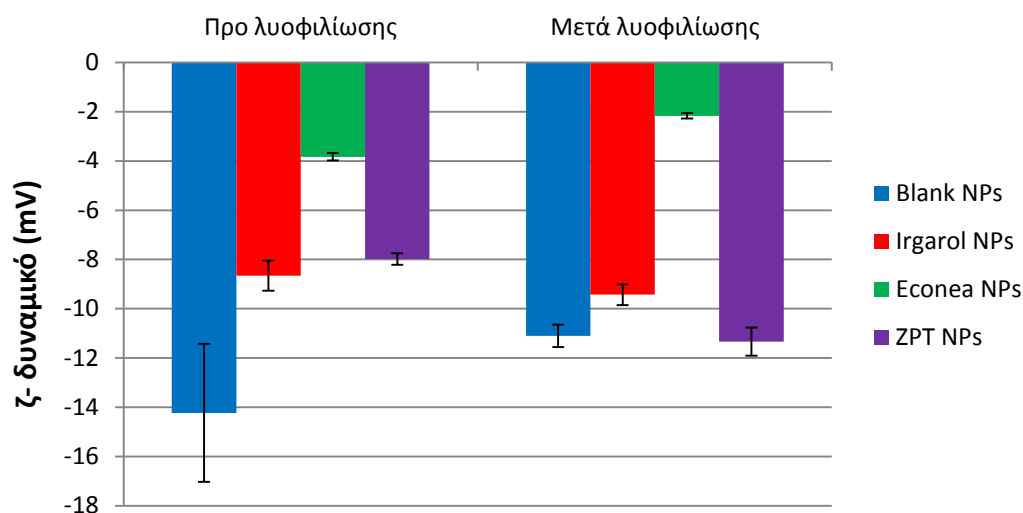
Αντίστοιχα, το Σχήμα 5.18 παρουσιάζει τη διακύμανση του δείκτη πολυδιασποράς (PDI) για κάθε δείγμα πριν και μετά τη λυοφιλοποίηση.



Σχήμα 5.18. Δείκτης πολυδιασποράς (PDI) των σωματιδίων πριν και μετά τη λυοφιλοποίηση

Στο Σχήμα 5.18 δεν καταγράφεται ομοιόμορφη συμπεριφορά του δείκτη πολυδιασποράς, καθώς σε ορισμένες περιπτώσεις ο PDI αυξάνεται μετά τη λυοφιλίωση σημαντικά (σωματίδια Irgarol), ενώ σε άλλες περιπτώσεις ελαττώνεται στα όρια του σφάλματος (σωματίδια Econeas) ή παραμένει πρακτικά σταθερός (κενά σωματίδια). Ως πιο φυσιολογική συμπεριφορά κρίνεται αυτή των σωματιδίων με Irgarol λαμβάνοντας υπόψη ότι κατά το στάδιο της λυοφιλοποίησης ευνοούνται φαινόμενα συσσωμάτωσης και επομένως ενίσχυση της ανομοιογένειας του μεγέθους

των σωματιδίων. Η ερμηνεία της μη αναμενόμενης συμπεριφοράς των σωματιδίων με Econea δεν είναι μονοσήμαντη και μπορεί να οφείλεται σε πολλούς παράγοντες, όπως η αντιπροσωπευτικότητα της δειγματοληψίας για το υπόλοιπο δείγμα, η συγκέντρωση των σωματιδίων στο μετρούμενο δείγμα μέσω δυναμικής σκέδασης φωτός, προσμίξεις (π.χ σκόνες) οι οποίες αυξάνουν το PDI κ.α.



Σχήμα 5.19. Συσχέτιση ζ-δυναμικού σωματιδίων πριν και μετά τη λυοφιλοποίηση

Το Σχήμα 5.19 καταγράφει τη διακύμανση του ζ-δυναμικού για κάθε δείγμα σωματιδίων πριν και μετά τη διαδικασία λυοφιλοποίησης. Εν αρχή, παρατηρείται ότι όλες οι μετρούμενες διασπορές απέχουν κατά τουλάχιστον 15 mV από την τιμή οριακής σταθερότητας ($\sim \pm 30$ mV) των σωματιδίων σε ένα συνεχές μέσο [114]. Η μεγάλη απόσταση από τα -30 mV οφείλεται κατά πάσα πιθανότητα στο γεγονός ότι οι διασπορές βρίσκονται στην ουδέτερη ζώνη pH η οποία αντιστοιχεί συνήθως σε ασταθείς διασπορές (Σχήμα 3.11). Εξάλλου, τα χαμηλά κατά απόλυτη τιμή ζ-δυναμικά οφείλονται ενδεχομένως στο γεγονός ότι το μοριακό βάρος του πολυμερούς είναι υψηλό. Αυτό σημαίνει ότι ο αριθμός των καρβοξυλομάδων του PLA, οι οποίες αποτελούν την αιτία για το αρνητικό πρόσημο του ζ-δυναμικού [182] [183], είναι μικρότερος από τον αντίστοιχο αριθμό καρβοξυλομάδων ενός χαμηλότερου μοριακού βάρους πολυμερούς. Επομένως, το ζ-δυναμικό των σωματιδίων επηρεάζεται άμεσα από το είδος του πολυμερικού φορέα και το μοριακό βάρος του.

Τέλος, πρέπει να επισημανθεί ότι δεν δύναται να πραγματοποιηθεί σύγκριση τιμών ζ-δυναμικού μεταξύ των διάφορων δειγμάτων εξαιτίας του γεγονότος ότι τα pH των διασπορών δεν είναι ρυθμισμένα με κατάλληλα ρυθμιστικά διαλύματα (buffer) αλλά με υπερκάθαρο νερό χαμηλής αγωγιμότητας κυμαινόμενου pH στην ουδέτερη ζώνη. Ωστόσο, παρατηρείται εν γένει ελάττωση του απόλυτου ζ-δυναμικού για τα σωματίδια με εγκλεισμένες ενώσεις συγκριτικά με τα αντίστοιχα κενά σωματίδια, γεγονός που οφείλεται στην ελάττωση του αρνητικού φορτίου της επιφάνειας των σωματιδίων. Η ελάττωση του φορτίου αποδίδεται στο ότι μειώνεται ο αριθμός των καρβοξυλομάδων ή ισοδύναμα το ποσοστό του πολυμερικού φορέα επί της μάζας των διεσπαρμένων σωματιδίων παρουσία των ενώσεων.

5.2.3 Απόδοση διεργασίας και εγκλεισμού

I. Προσδιορισμός απόδοσης διεργασίας

Η απόδοση της διεργασίας (yield ή YD) προσδιορίζεται μέσω της εξίσωσης (4.23) (σελ. 82) αφού πραγματοποιηθεί λυοφιλοποίηση της διασποράς των σωματιδίων και ζύγιση του στερεού προϊόντος. Ο Πίνακας 5.10 συνοψίζει τα σημαντικότερα στοιχεία που αφορούν τον υπολογισμό της απόδοσης της διεργασίας κάθε εγκλεισμού. Σημειώνεται ότι στη μάζα των σωματιδίων δεν περιλαμβάνεται το επιφανειοδραστικό μέσο PVA το οποίο μετά τις εκπλύσεις των σωματιδίων θεωρείται αμελητέας ποσότητας.

Πίνακας 5.10. Προσδιορισμός απόδοσης διεργασίας μετά τη διαδικασία λυοφιλοποίησης

Μέγεθος	Κενά σωματίδια	Σωματίδια με Irgarol	Σωματίδια με Econea	Σωματίδια με ZPT
Μάζα PLA PLI005 (mg)	52,6	51,9	50,0	48,3
Μάζα ένωσης προς εγκλεισμό (mg)	-	21,6	21,9	19,0
Συνολική θεωρητική μάζα σωματιδίων (mg)	52,6	73,5	71,9	67,3
Συνολική μάζα σωματιδίων μετά τη λυοφιλοποίηση (mg)	15,6	41,0	59,6	48,3
Απόδοση διεργασίας [Yield] (%)	29,7%	55,8%	82,9%	71,8%

Η απόδοση της διεργασίας μειώθηκε δραματικά για την περίπτωση των κενών σωματιδίων συγκριτικά με τα σωματίδια με εγκλεισμένες ενώσεις. Αυτή η συμπεριφορά οφείλεται πιθανότατα στο μέγεθος των σωματιδίων. Πιο συγκεκριμένα, τα μη εγκλεισμένα σωματίδια παρουσιάζουν τιμές μεγέθους μικρότερες κατά τουλάχιστον 100 nm. Αν τα σωματίδια θεωρηθούν σφαιρικά τότε η ελαττωμένη διάμετρος των κενών σωματιδίων οδηγεί σε πολύ μικρότερη ταχύτητα καταβύθισής τους v_s σύμφωνα με την εξίσωση (4.18). Επομένως, το στάδιο της φυγοκέντρωσης είναι κατά πάσα πιθανότητα η αιτία της απώλειας πολυμερικού υλικού λόγω του γεγονότος ότι δεν πρόλαβε να καταβυθιστεί. Αντίθετα, τα σωματίδια με εγκλεισμένες ενώσεις καταβυθίζονται ευκολότερα εξαιτίας της μεγαλύτερης μέσης διαμέτρου τους και οδηγούν σε μικρότερες απώλειες μάζας. Εξάλλου, κατά την πειραματική διαδικασία των εκπλύσεων παρατηρήθηκε πολύ πιο εύκολη επαναδιασπορά των κενών σωματιδίων (ασταθές πέλλετ) συγκριτικά με τα εγκλεισμένα με ενώσεις σωματίδια. Η ανωτέρω συμπεριφορά οδηγεί σε απώλειες υλικού κατά τα στάδια απόχυσης των υπερκείμενων υγρών του πέλλετ των κενών σωματιδίων. Σημαντική διαφορά στην απόδοση της διεργασίας παρατηρείται για τα σωματίδια του Irgarol συγκριτικά με της Econea. Αυτή η διαφορά οφείλεται τόσο στο αυξημένο μέγεθος των σωματιδίων της Econea (σελ. 107) όσο και στην αυξημένη απόδοση εγκλεισμού που παρουσιάζουν τα συγκεκριμένα σωματίδια (σελ.116).

II. Προσδιορισμός απόδοσης εγκλεισμού

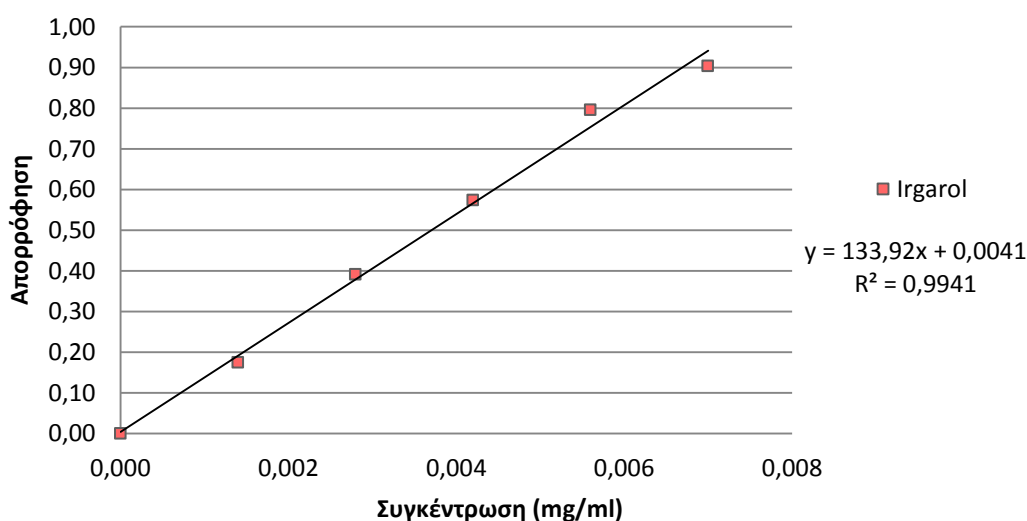
a. Καμπύλες αναφοράς ενώσεων

Ο προσδιορισμός της απόδοσης εγκλεισμού μέσω φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού προϋποθέτει την κατασκευή καμπυλών αναφοράς για τις ενώσεις προς προσδιορισμό. Όπως προαναφέρθηκε κατά την πειραματική διαδικασία (σελ. 91-92), κατασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα των ενώσεων σε μίγματα ακετονιτριλίου-νερού 1:1 και προσδιορισμός του μήκους κύματος μέγιστης απορρόφησης λ_{\max} . Το μέγιστο μήκος κάθε ένωσης επαληθεύθηκε με τουλάχιστον δύο πρότυπα διαλύματα. Τα μήκη κύματος μέγιστης απορρόφησης λ_{\max} για κάθε ένωση παρουσιάζει ο Πίνακας 5.11. Μάλιστα, τα μήκη κύματος μέγιστης απορρόφησης για το Irgarol και το Zinc Pyrithione επιβεβαιώνονται βιβλιογραφικά στις παραπομπές [40] και [184]. Στην περίπτωση του Zinc Pyrithione παρατηρήθηκαν δύο μήκη κύματος στα οποία αντιστοιχίζόταν χαρακτηριστική μέγιστη απορρόφηση: τα 246 και τα 276 nm. Επιλέχθηκε η κορυφή των 246 nm όντας πιο ευδιάκριτη, ενώ το ίδιο σημείο αντιστοιχούσε ταυτόχρονα στο ολικό μέγιστο του φάσματος.

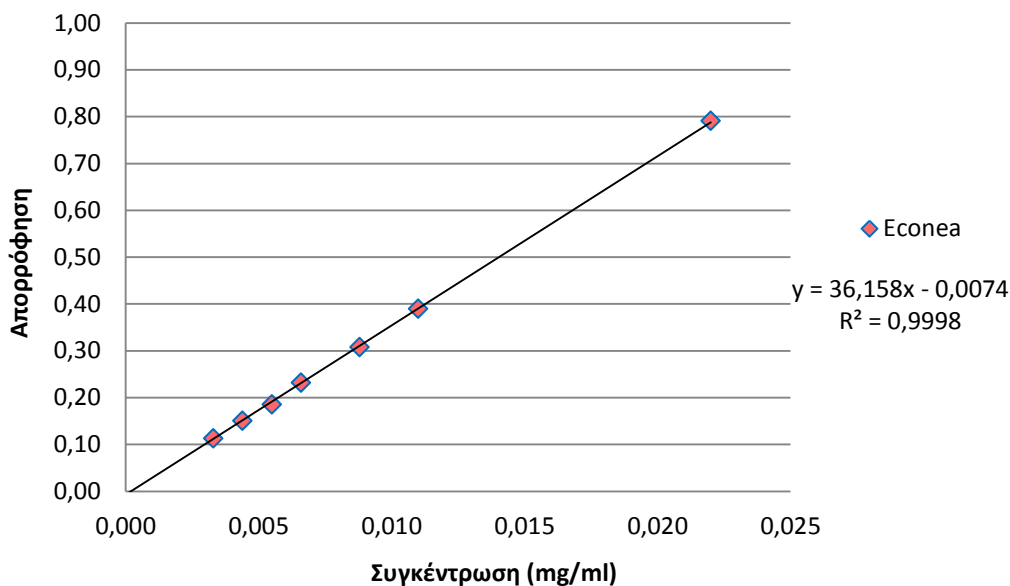
Πίνακας 5.11. Μήκη κύματος μέγιστης απορρόφησης λ_{\max} των ενώσεων προς εγκλεισμό

Ένωση	λ_{\max} (nm)
Irgarol	226
Econea	296
Zinc Pyrithione	246

Το Σχήμα 5.20 αντιστοιχίζεται στην καμπύλη αναφοράς για το ενισχυτικό βιοκτόνο του Irgarol 1051TM. Η συγκέντρωση των πρότυπων διαλυμάτων κυμαινόταν στην περιοχή $10^{-5} - 10^{-6}$ M. Αντίστοιχα, το Σχήμα 5.20 παρουσιάζει την καμπύλη αναφοράς της Econea. Τα πρότυπα διαλύματα της ένωσης στα μίγματα ακετονιτριλίου-νερού είχαν παρόμοια συγκέντρωση δηλαδή $10^{-5} - 10^{-6}$ M.

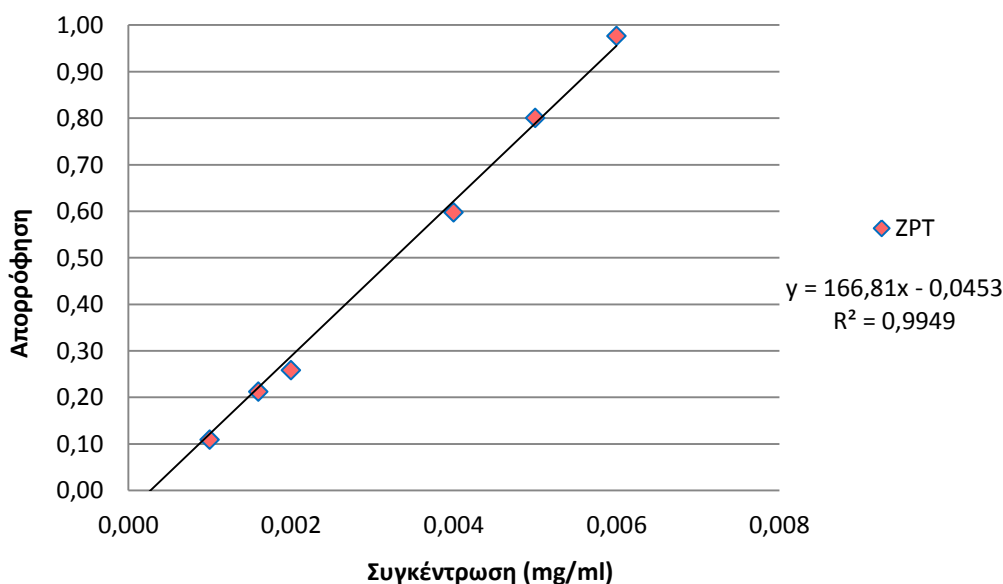


Σχήμα 5.20. Καμπύλη αναφοράς Irgarol 1051TM για φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού



Σχήμα 5.21. Καμπύλη αναφοράς Econea για φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού

Τέλος, το Σχήμα 5.22 παρουσιάζει την καμπύλη αναφοράς για την ένωση του Zinc Pyrithione. Η συγκέντρωση των προτύπων διαλυμάτων ήταν στην περιοχή 10^{-5} έως 10^{-6} M .



Σχήμα 5.22. Καμπύλη αναφοράς Zinc Pyrithione για φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού

Με προσαρμογή γραμμής τάσης με τη μορφή ευθείας προκύπτουν οι εξισώσεις (5.1), (5.2) και (5.3), οι οποίες συσχετίζουν ικανοποιητικά ($R^2 > 0,99$) τη συγκέντρωση C της εκάστοτε ένωσης σε mg ml^{-1} με την απορρόφηση A (αδιάστατο μέγεθος) στην φασματοσκοπία υπεριώδους – ορατού:

$$A = 133,92 C_{\text{IRG}} + 0,0041 \quad (5.1)$$

$$A = 36,158 C_{\text{ECO}} - 0,0074 \quad (5.2)$$

$$A = 166,81 C_{\text{ZPT}} - 0,0453 \quad (5.3)$$

b. Υπολογισμός απόδοσης εγκλεισμού με χρήση φασματοσκοπίας UV-Vis

Ο υπολογισμός της απόδοσης εγκλεισμού (encapsulation efficiency ή E.E) δύναται να πραγματοποιηθεί είτε με άμεσο τρόπο μέσω της εξίσωσης (4.22) είτε έμμεσα μέσω της τροποποιημένης εξίσωσης της σελίδας 92 όπως προαναφέρθηκε στο πειραματικό μέρος. Ο Πίνακας 5.12 συνοψίζει μεγέθη μάζας τα οποία σχετίζονται με την απόδοση εγκλεισμού όταν αυτή προσδιορίζεται έμμεσα.

Πίνακας 5.12. Έμμεσος προσδιορισμός απόδοσης εγκλεισμού μέσω φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού στα υπερκείμενα υγρά των φυγοκεντρήσεων

Μέγεθος	Σωματίδια με Irgarol	Σωματίδια με Econea	Σωματίδια με ZPT
Μάζα PLA PLI005 (mg)	51,9	50,0	48,3
Μάζα ένωσης προς εγκλεισμό (mg)	21,6	21,9	19,0
Συνολική θεωρητική μάζα σωματιδίων (mg)	73,5	71,9	67,3
Μάζα μη εγκλεισμένης ένωσης (mg)	2,9	1,4	1,6
Απόδοση εγκλεισμού [E.E] (%) (έμμεση)	86,6%	93,5%	91,8%

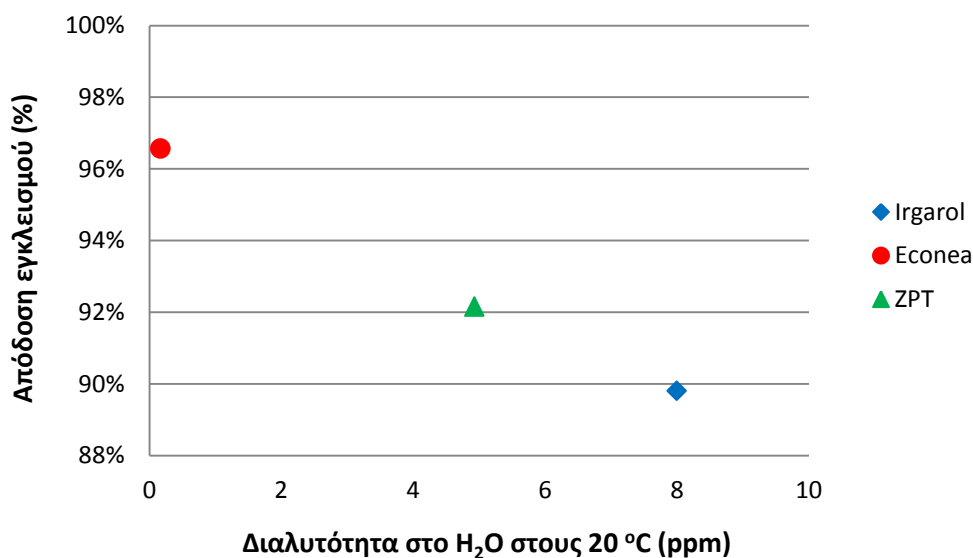
Αντίστοιχα, ο Πίνακας 5.13 συνοψίζει τα μεγέθη τα οποία σχετίζονται με την απόδοση εγκλεισμού όταν αυτή προσδιορίζεται άμεσα.

Πίνακας 5.13. Άμεσος προσδιορισμός απόδοσης εγκλεισμού μέσω φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού στα υπερκείμενα υγρά των φυγοκεντρήσεων

Μέγεθος	Σωματίδια με Irgarol	Σωματίδια με Econea	Σωματίδια με ZPT
Μάζα PLA PLI005 (mg)	51,9	50,0	48,3
Μάζα ένωσης προς εγκλεισμό (mg)	21,6	21,9	19,0
Συνολική θεωρητική μάζα σωματιδίων (mg)	73,5	71,9	67,3
Συνολική μάζα σωματιδίων μετά το FD (mg)	41	59,6	48,3
Μάζα εγκλεισμένης ένωσης (mg)	20,1	21,8	17,6
Απόδοση εγκλεισμού [E.E] (%) (άμεση)	93,0%	99,7%	92,5%

Επομένως, επιβεβαιώθηκε με διπλό τρόπο για κάθε δείγμα ότι επιτεύχθηκε εγκλεισμός των ενώσεων με αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες εντός πολυμερικών σωματιδίων. Μάλιστα, η απόδοση εγκλεισμού ήταν ιδιαίτερα υψηλή για όλα τα βιοκτόνα. Αυτή η συμπεριφορά είναι αναμενόμενη εξαιτίας του γεγονότος ότι οι προς εγκλεισμό ενώσεις είναι ιδιαίτερα υδρόφوبες με πολύ χαμηλή διαλυτότητα στο νερό της τάξης των μερικών ppm. Άρα, η διάχυση των ενώσεων κατά το στάδιο της

γαλακτωματοποίησης ή το στάδιο της εξάτμισης του διαλύτη περιορίζεται σημαντικά οδηγώντας σε πολύ υψηλές αποδόσεις εγκλεισμού. Το Σχήμα 5.23 παρουσιάζει μία ενδιαφέρουσα συσχέτιση της μέσης προσδιοριζόμενης απόδοσης εγκλεισμού (άμεσα και έμμεσα) για κάθε ένωση ως προς τη διαλυτότητα κάθε βιοκτόνου στο νερό. Παρατηρείται ότι όσο μειώνεται η διαλυτότητα ή αυξάνεται ο υδρόφοβος χαρακτήρας των ενώσεων τόσο αυξάνεται η απόδοση εγκλεισμού.

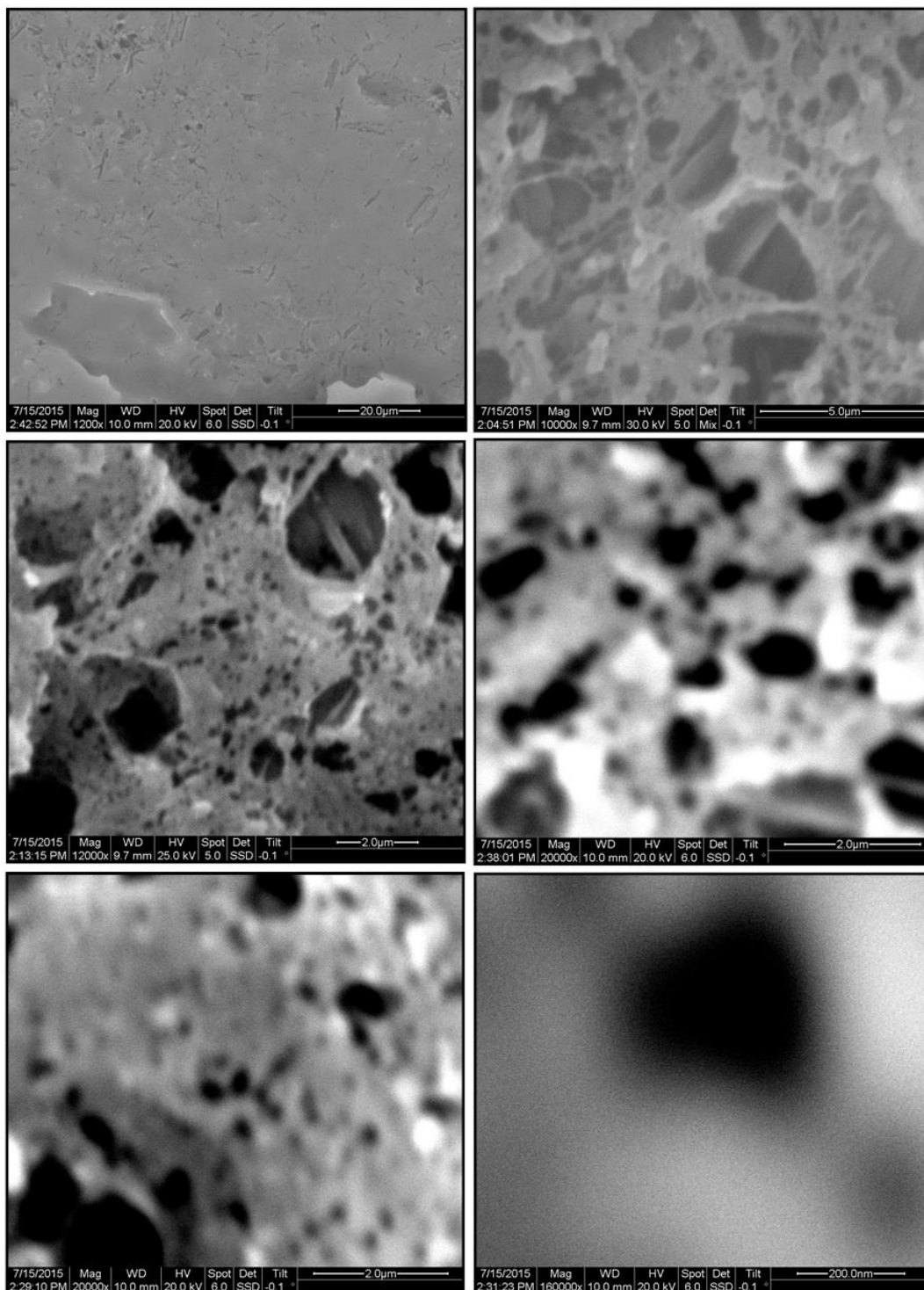


Σχήμα 5.23. Συσχέτιση μέσης προσδιοριζόμενης απόδοσης εγκλεισμού ενώσεων με τη διαλυτότητα τους στο νερό

Οι τιμές της απόδοσης εγκλεισμού με άμεσο και έμμεσο τρόπο διαφέρουν ελαφρώς μεταξύ τους (μέγιστη απόκλιση 6,4 % για την περίπτωση του Irgarol) για την ίδια ένωση σύμφωνα με τα δεδομένα που παρουσιάστηκαν πρωτύτερα. Ως πιο αξιόπιστη κρίνεται η άμεση μέθοδος εγκλεισμού αφού διασπώντας τα σωματίδια αποκαλύπτεται το πραγματικό περιεχόμενό τους. Φυσικά, το μειονέκτημα της άμεσης μεθόδου είναι το γεγονός ότι δεν λαμβάνει υπόψη στη μάζα των λυοφιλοποιημένων σωματιδίων τυχόν προσμίξεις όπως η PVA, επομένως είναι πιθανό να υπερεκτιμάται η απόδοση εγκλεισμού. Από την άλλη μεριά, η έμμεση μέθοδος υπολογισμού στηρίζεται σε ισοζύγιο μάζας της ένωσης πραγματοποιώντας την παραδοχή ότι δεν καταγράφονται απώλειες της ένωσης στα πολυάριθμα στάδια της παρασκευής των σωματιδίων. Ένα ακόμα μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι η χαμηλή διαλυτότητα των βιοκτόνων στο νερό ισοδυναμεί με διασπορά των ενώσεων στα υπερκείμενα υγρά και όχι σε διάλυσή τους. Αυτό σημαίνει ότι η πιθανότητα μη ομοιόμορφης συγκέντρωσης της ένωσης κατά τη δειγματοληψία από τα υπερκείμενα υγρά είναι ιδιαίτερα υψηλή οδηγώντας σε υποεκτίμηση ή υπερεκτίμηση της απόδοσης εγκλεισμού έμμεσα. Συμπερασματικά, η πραγματική απόδοση εγκλεισμού κυμαίνεται ενδεχομένως σε μία ενδιάμεση περιοχή τιμών συγκριτικά με αυτές που προσδιορίζονται με άμεσο και έμμεσο τρόπο. Τέλος, στο υποκεφάλαιο 5.3 πραγματοποιείται ενδελεχής ανάλυση σημείων προς προβληματισμό τα οποία συναντήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία του προσδιορισμού της απόδοσης εγκλεισμού μέσω φασματοσκοπίας UV-Vis.

5.2.4 Μορφολογικά χαρακτηριστικά σωματιδίων

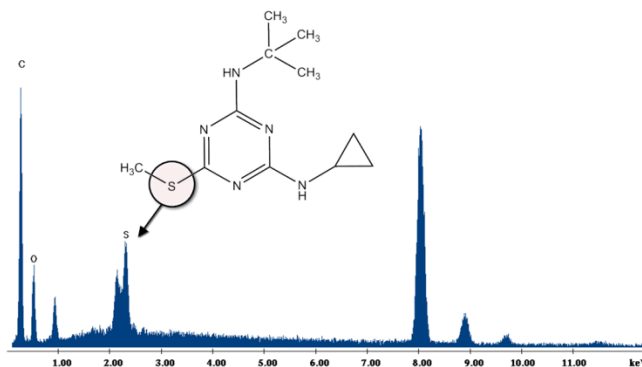
Στο δεδομένο υποκεφάλαιο πραγματοποιείται παράθεση των εικόνων που ελήφθησαν κατά την εξέταση του δείγματος των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το Irgarol 1051TM πριν τη λυοφιλοποίηση. Περισσότερες λεπτομέρειες για την προετοιμασία του δείγματος είναι διαθέσιμες στη σελίδα 94.



Σχήμα 5.24. Εικόνες που ελήφθησαν με τη βοήθεια της διάταξης SEM Quanta 200 της FEI για τα σωματίδια με εγκλεισμένο Irgarol πριν τη λυοφιλοποίηση

Στο Σχήμα 5.24 παρατίθενται έξι διαφορετικές εικόνες από το αναλυόμενο δείγμα σε διαφορετικές μεγεθύνσεις ξεκινώντας από $1.200 \times$ και καταλήγοντας σε μεγεθύνσεις $160.000 \times$. Στη μικροσκοπική κλίμακα (2 έως $5 \mu\text{m}$) διακρίνονται κάποιες νηματοειδείς δομές οι οποίες σε καμία περίπτωση δεν θυμίζουν σφαίρες. Η δομή τους οφείλεται ενδεχομένως στην εξάτμιση του μέσου διασποράς σε ατμοσφαιρικές συνθήκες και την ταχεία καταβύθιση των σωματιδίων. Όσο αυξάνεται η κλίμακα μεγέθυνσης τόσο ελαττώνεται η ευκρίνεια και η ποιότητα των εικόνων που λαμβάνονται. Ειδικά η μεταφορά από την περιοχή μεγεθύνσεων $12.000 \times$ στις $20.000 \times$ οδηγεί σε δραματική αύξηση της θολερότητας των εικόνων. Στις εικόνες με μεγεθύνσεις $20.000 \times$ διακρίνονται μαύρα στίγματα ποικίλου μεγέθους με κυκλικό σχήμα εν γένει. Αυτά τα σημεία δύναται να είναι είτε ασυνέχειες του δείγματος είτε τα ζητούμενα νανοσωματίδια τα οποία σύμφωνα με τις μετρήσεις της δυναμικής σκέδασης φωτός θα έπρεπε να είναι της τάξης των 400 nm . Η χαμηλή ποιότητα της εικόνας δεν προσφέρει πολλές δυνατότητες για εξακρίβωση των ανωτέρω υποθέσεων.

Ενθαρρυντικό στοιχείο για το ότι τα μαύρα σημεία της εικόνας είναι σωματίδια PLA με εγκλεισμένο Irgarol αποτελεί το γεγονός ότι κατά τη στοιχειακή ανάλυση στο μαύρο στίγμα της τελευταίας εικόνας (μεγέθυνση $160.000 \times$) προέκυψε παρουσία μη αμελητέου ποσοστού θείου (S). Το θείο αποτελεί άτομο το οποίο συναντάται στη χημική ένωση του Irgarol. Επομένως, ο συνδυασμός της παρουσίας σήματος που αντιστοιχεί σε άτομα θείου, άνθρακα και οξυγόνου (από τη δομή του PLA) ενισχύει την υπόθεση ότι τα μαύρα σημεία των εικόνων SEM αντιστοιχίζονται σε νανοσωματίδια PLA. Το Σχήμα 5.25 συνοψίζει τα αποτελέσματα της στοιχειακής ανάλυσης.



Σχήμα 5.25. Τοπική στοιχειακή ανάλυση δείγματος και συσχέτιση παρουσίας σήματος θείου με την ένωση του Irgarol

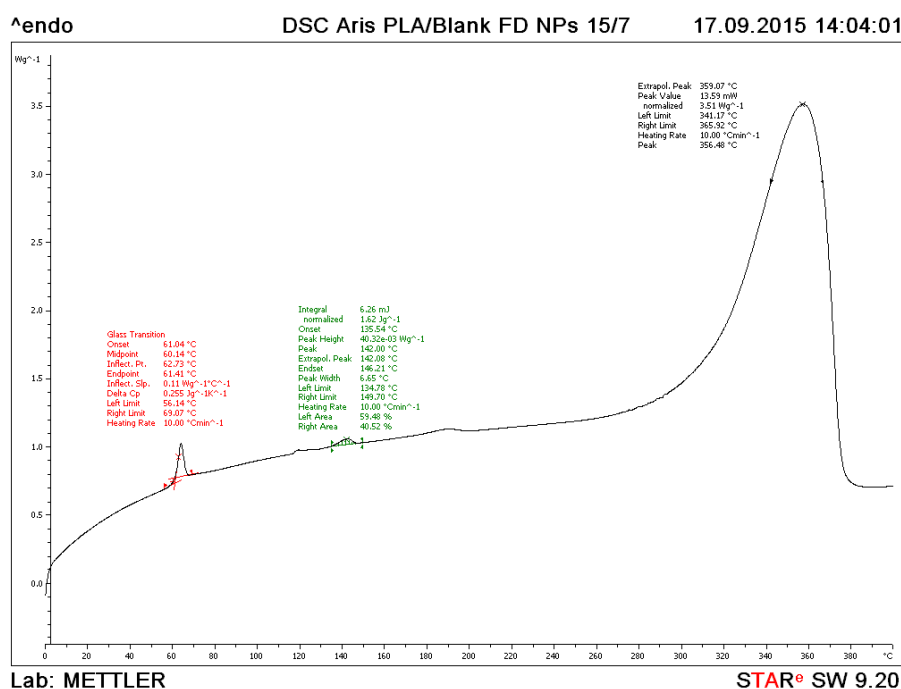
Τέλος, πραγματοποιήθηκε αντίστροφη αναζήτηση στη βιβλιογραφία για την εύρεση εικόνων SEM πολυμερικών νανοσωματιδίων από την ίδια συσκευή που χρησιμοποιήθηκε κατά την πειραματική διαδικασία. Η απουσία δημοσιεύσεων (εκτός της αναφοράς [185]) σε συνδυασμό με τις εικόνες που ελήφθησαν προσανατολίζουν στην αναζήτηση άλλων συσκευών, εναλλακτικών τεχνικών προετοιμασίας των δειγμάτων (π.χ λυοφιλοποιημένα σωματίδια αντί για εξάτμιση του μέσου των διασπορών, διαφορετική συγκέντρωση σωματιδίων, πάχος επιχρύσωσης κ.α) και διαφορετικών μεθόδων οπτικής απεικόνισης των σωματιδίων (π.χ FE-SEM).

5.2.5 Αποτελέσματα θερμικών τεχνικών DSC & TGA - σχολιασμός αποτελεσμάτων

Στο παρόν υποκεφάλαιο πραγματοποιείται παράθεση των γραφημάτων DSC και TGA που προέκυψαν για τα απομονωμένα μέσω λυοφιλοποίησης νανοσωματίδια με ή χωρίς εγκλεισμένες ενώσεις. Επιπλέον, τα γραφήματα υφίσταται ανάλυση και σύγκριση προκειμένου να εξαχθούν συμπεράσματα για τις αλληλεπιδράσεις ενώσεων και πολυμερικών φορέων.

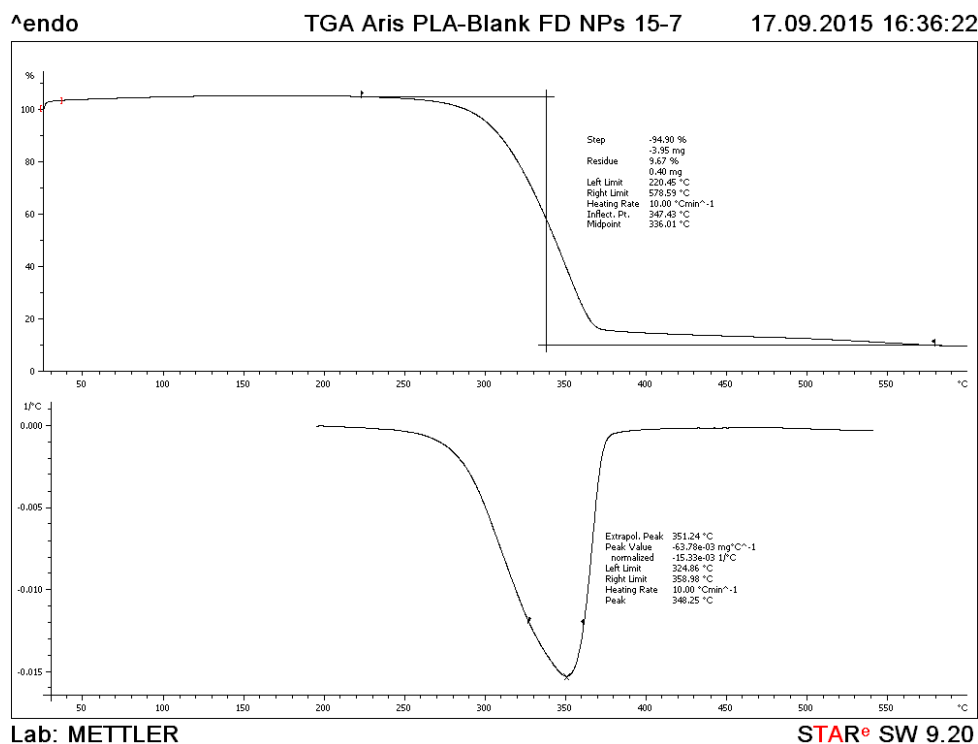
I. Κενά νανοσωματίδια

Το Σχήμα 5.26 αποτελεί το γράφημα DSC των κενών πολυμερικών σωματιδίων μετά τη λυοφιλοποίησή τους. Από το γράφημα DSC παρατηρείται μία χαρακτηριστική κορυφή κοντά στο σημείο υαλώδους μετάπτωσης του αντίστοιχου πολυμερούς (PLI005) σε μορφή κόκκου. Αυτή η κορυφή οφείλεται στο φαινόμενο της ενθαλπικής χαλάρωσης (enthalpic relaxation phenomenon) των αλυσίδων του πολυμερούς. Πολυμερή τα οποία έχουν υποστεί αργή ψύξη, όπως στη δεδομένη περίπτωση με τη διεργασία λυοφιλίωσης, σε θερμοκρασίες χαμηλότερες του T_g τους έχουν αρκετό χρόνο ώστε να «χαλαρώσουν» σε διαμορφώσεις χαμηλότερης ενέργειας ελαχιστοποιώντας τον ελεύθερο όγκο του συστήματος. Το σημείο υαλώδους μετάπτωσης δεν είναι ένα σταθερό θερμοδυναμικό μέγεθος, αλλά εξαρτάται από τον τρόπο ψύξης του υλικού και την ενεργειακή κατάσταση χαλάρωσης που βρίσκεται. Εν γένει, η δομική χαλάρωση του υλικού οδηγεί σε πτώση της ενθαλπίας του συστήματος, οπότε η μεταβολή από την υαλώδη στη ρευστή κατάσταση οδηγεί στην ανάπτυξη ενδόθερμης κορυφής. Περισσότερες πληροφορίες για της ενθαλπική χαλάρωση είναι διαθέσιμες στις αναφορές [186] και [187].



Σχήμα 5.26. Γράφημα DSC των κενών (blank) σωματιδίων

Πέρα από τη χαρακτηριστική κορυφή της ενθαλπικής χαλάρωσης, το γράφημα DSC αποκαλύπτει ότι τα παραγόμενα κενά νανοσωματίδια παρουσιάζουν ελάχιστη κρυσταλλικότητα (2 %), αφού η ενδόθερμη περιοχή τήξης είναι περιορισμένη. Επομένως, το υλικό δύναται να χαρακτηριστεί ως σχεδόν πλήρως άμορφο. Τέλος, διακρίνεται η ενδόθερμη διάσπαση του πολυμερούς με θερμοκρασία εκκίνησης φαινομένων τους 220 °C. Το Σχήμα 5.27 δίνει περαιτέρω πληροφορίες για την ποσοστιαία μεταβολή του βάρους του υλικού καθώς θερμαίνεται με σταθερό ρυθμό, δηλαδή αντιστοιχίζεται στο γράφημα TGA του δείγματος, οπότε προκύπτουν λεπτομέρειες για την απώλεια μάζας του υλικού σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία.



Σχήμα 5.27. Γράφημα TGA των κενών (blank) σωματιδίων

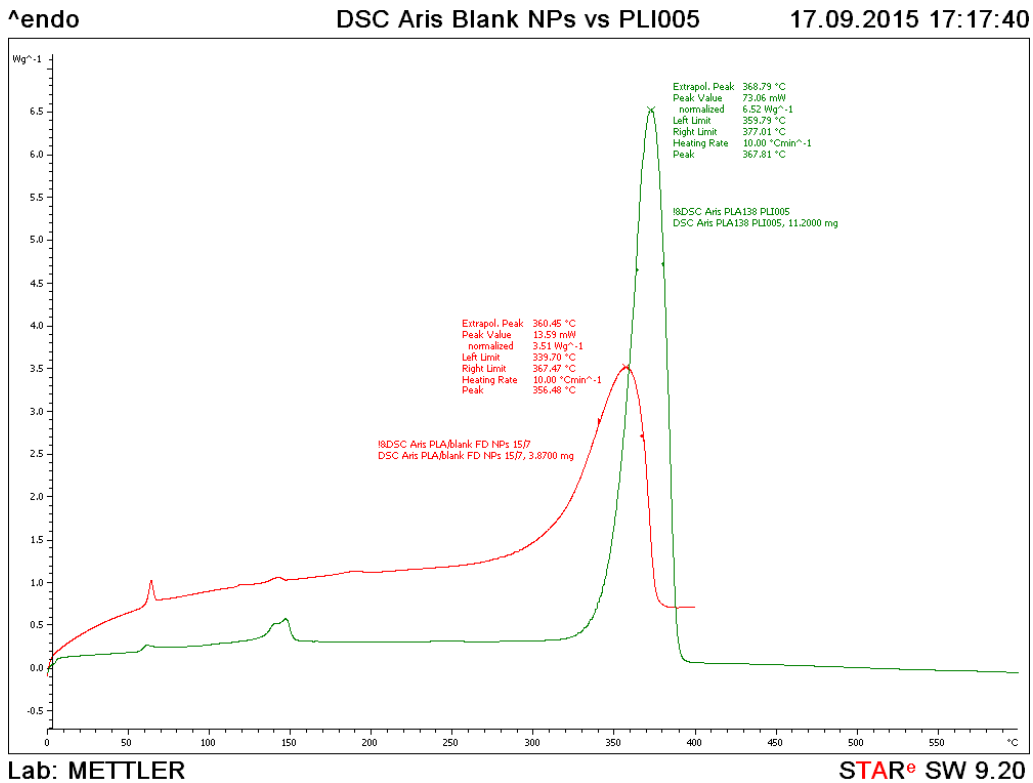
Ο Πίνακας 5.14 καταγράφει τα σημαντικότερα θερμικά μεγέθη για την περίπτωση των κενών πολυμερικών σωματιδίων και του αντίστοιχου πολυμερούς PLI005 σε μορφή κόκκου για συγκριτική μελέτη τους. Αντίστοιχη συγκριτική ανάλυση πραγματοποιείται γραφικά στο Σχήμα 5.28 (DSC) και στο Σχήμα 5.29 (TGA).

Πίνακας 5.14. Σύνοψη θερμικών ιδιοτήτων κενών νανοσωματιδίων (NPs) και PLA PLI005

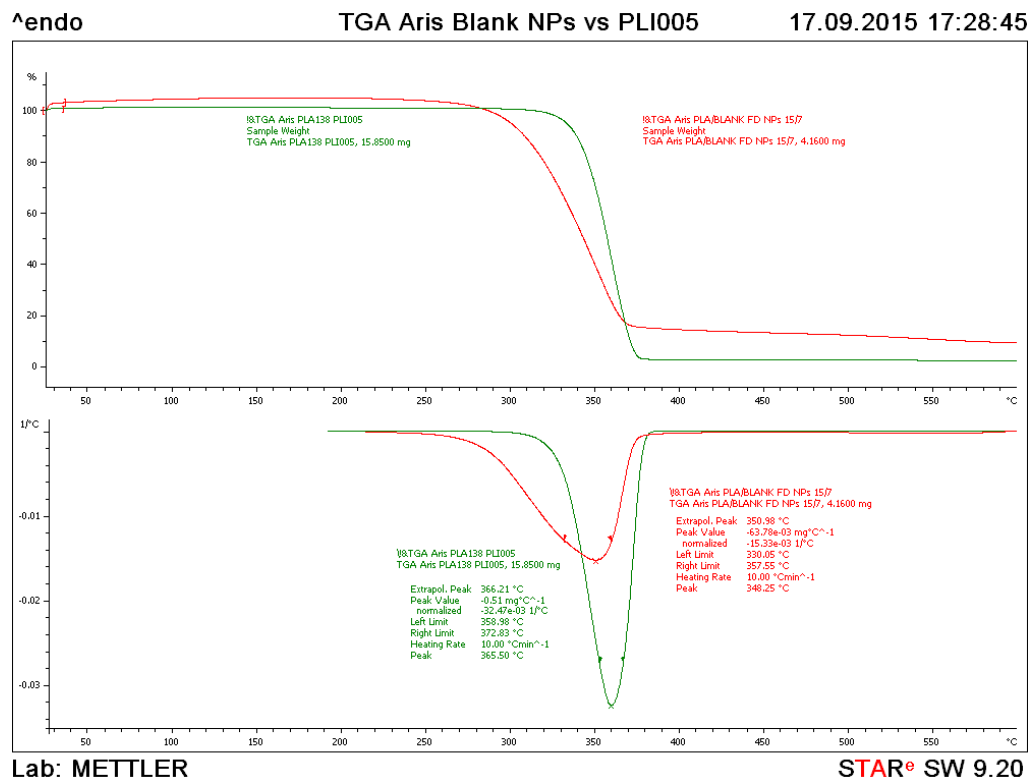
Υλικό	T_g (°C)	T_m (°C)	ΔH_m (J g ⁻¹)	ΔH_f (J g ⁻¹)	x_c (%)	T_d (°C)	Υπόλειμμα (%)
Κενά NPs	60,1	142,0	2	93	2,2	348,2	9,7
PLA PLI005	58,8	146,7	21	93	22,2	365,5	2,5

Από τη συγκριτική ανάλυση προκύπτει ότι τα δύο υλικά παρουσιάζουν παρόμοια σημεία υαλώδους μετάπτωσης και τήξης. Η κρυσταλλικότητα των πολυμερικών νανοσωματιδίων είναι ελάχιστη συγκριτικά με τον αντίστοιχο πολυμερικό φορέα. Η θερμοκρασία διάσπασης των σωματιδίων είναι ελαττωμένη τόσο ως προς τη

θερμοκρασία έναρξης των φαινομένων διάσπασης όσο και προς τη θερμοκρασία μέγιστου ρυθμού διάσπασης. Τέλος, το παρατηρούμενο υπόλειμμα στα σωματίδια είναι αυξημένο κατά ένα ποσοστό της τάξης του 7 % συγκριτικά με το PLI005.

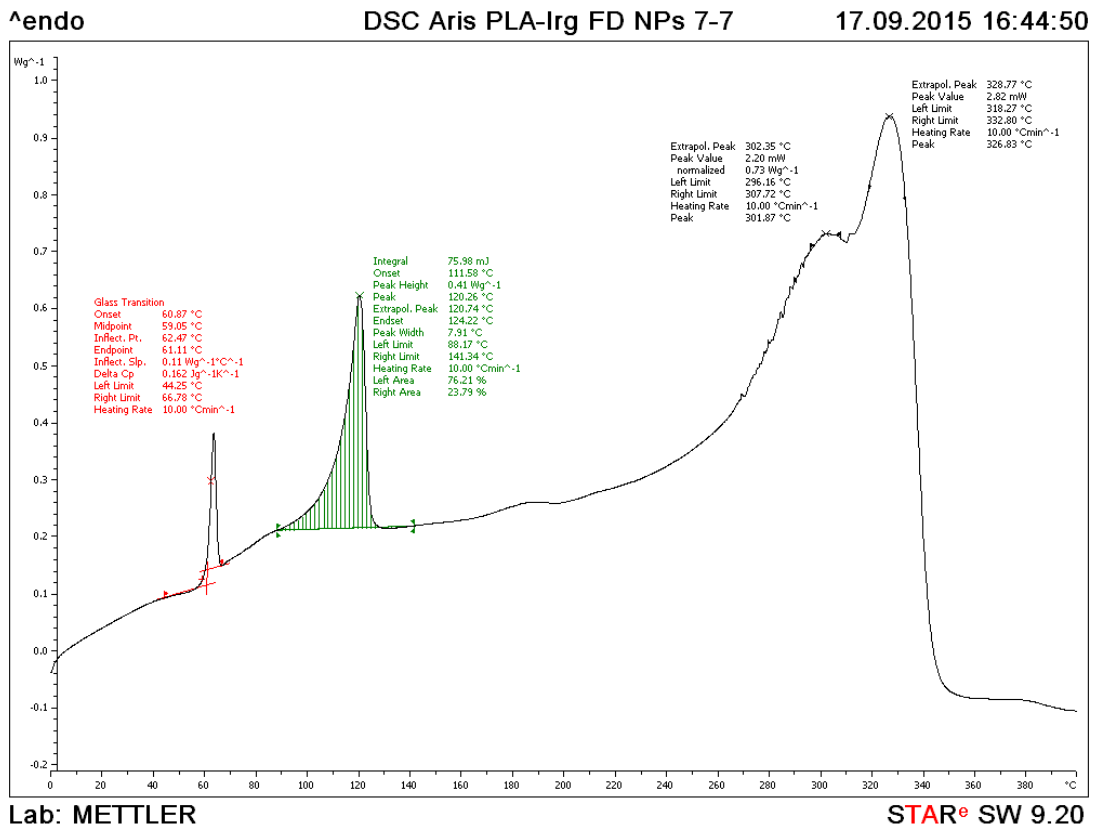


Σχήμα 5.28. Συγκριτικό γράφημα DSC κενών (blank) σωματιδίων και PLI005

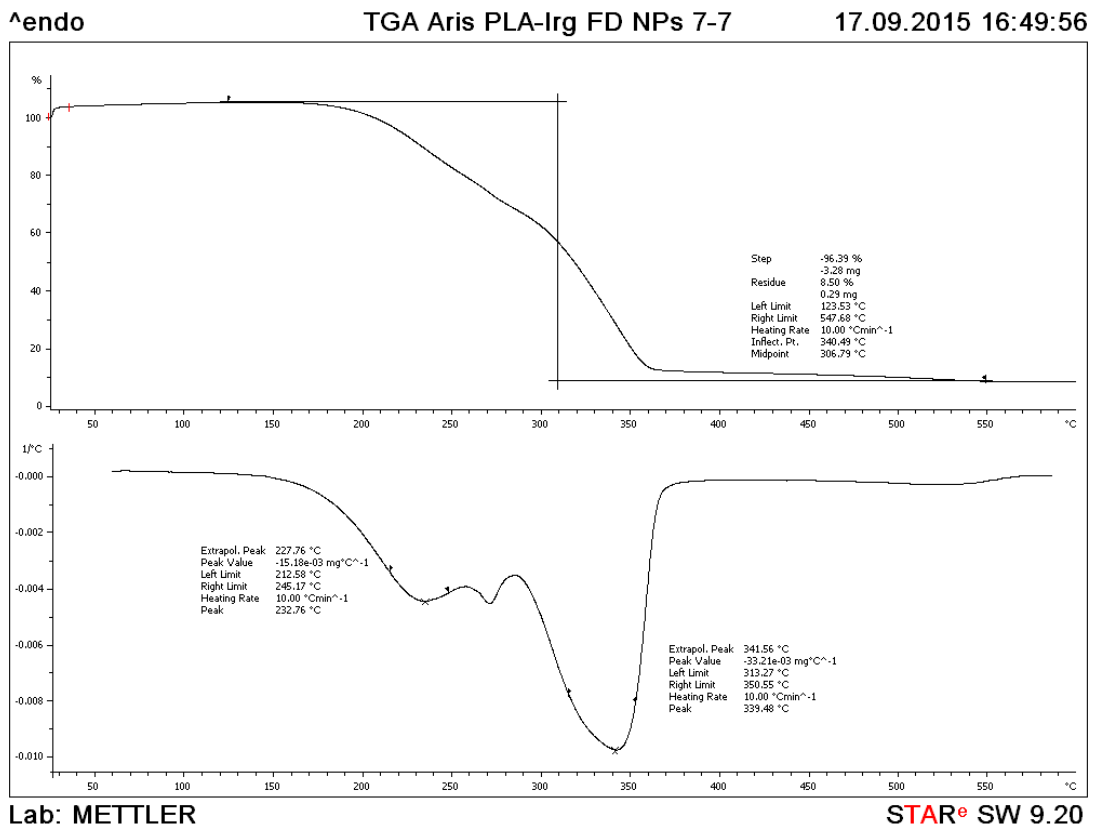


Σχήμα 5.29. Συγκριτικό γράφημα TGA κενών (blank) σωματιδίων και PLI005

II. Σωματίδια με εγκλεισμένη ένωση το Irgarol 1051™

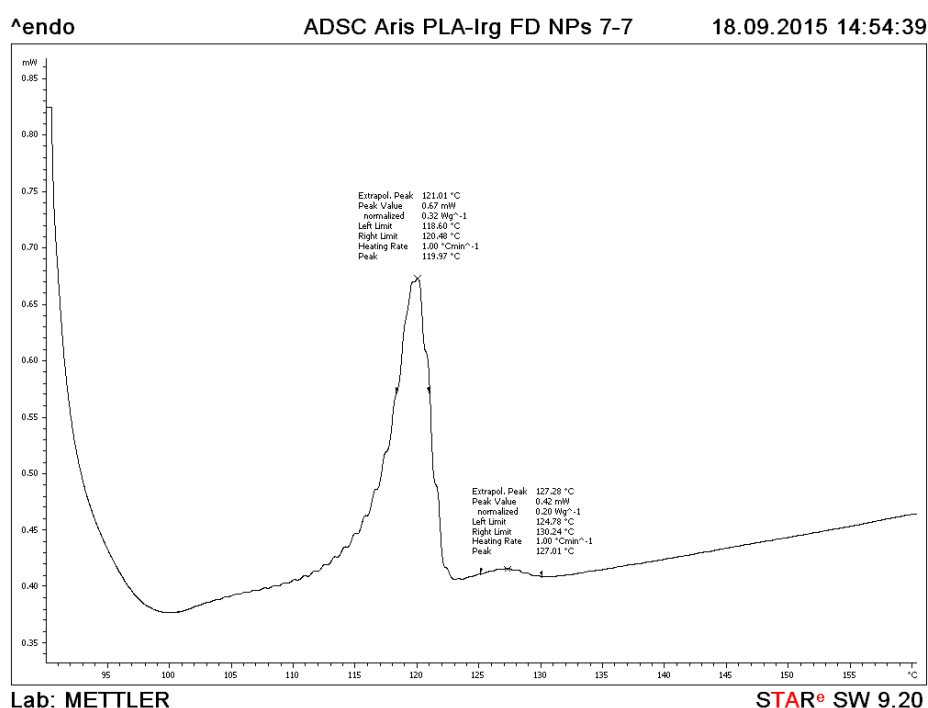


Σχήμα 5.30. Γράφημα DSC των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το Irgarol



Σχήμα 5.31. Γράφημα TGA των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το Irgarol

Το Σχήμα 5.30 αποτελεί το γράφημα DSC των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το Irgarol, ενώ το Σχήμα 5.31 αντιστοιχίζεται στο γράφημα TGA του ίδιου δείγματος. Από το γράφημα DSC είναι εύκολα διακριτό το φαινόμενο της ενθαλπικής χαλάρωσης που παρατηρήθηκε και στο αντίστοιχο γράφημα DSC των κενών σωματιδίων. Στη συνέχεια, ακολουθεί μία ενδόθερμη κορυφή η οποία δεν είναι ξεκάθαρο αν πρόκειται αποκλειστικά για την καμπύλη τήξης της ένωσης του Irgarol, αφού βρίσκεται πολύ κοντά στη θερμοκρασία τήξης του πολυμερούς. Για την ταυτοποίηση των φαινομένων της ενδόθερμης περιοχής πραγματοποιήθηκε ADSC ανάλυση του υλικού. Το Σχήμα 5.32 παρουσιάζει το γράφημα της ADSC ανάλυσης (0,5 amp, 0,8 min). Τελικά, η ενιαία κορυφή του γραφήματος DSC (Σχήμα 5.30) αναλύεται στο γράφημα ADSC σε μία κύρια κορυφή τήξης της ένωσης του Irgarol ακολουθούμενη από μία δευτερεύουσα ενδόθερμη περιοχή η οποία αντιστοιχίζεται στην καμπύλη τήξης του πολυμερούς. Επομένως, τα σωματίδια είναι σχεδόν πλήρως άμορφα, αφού η καταγραφόμενη ενδόθερμη περιοχή τήξης είναι αμελητέα.



Σχήμα 5.32. Γράφημα ADSC των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το Irgarol

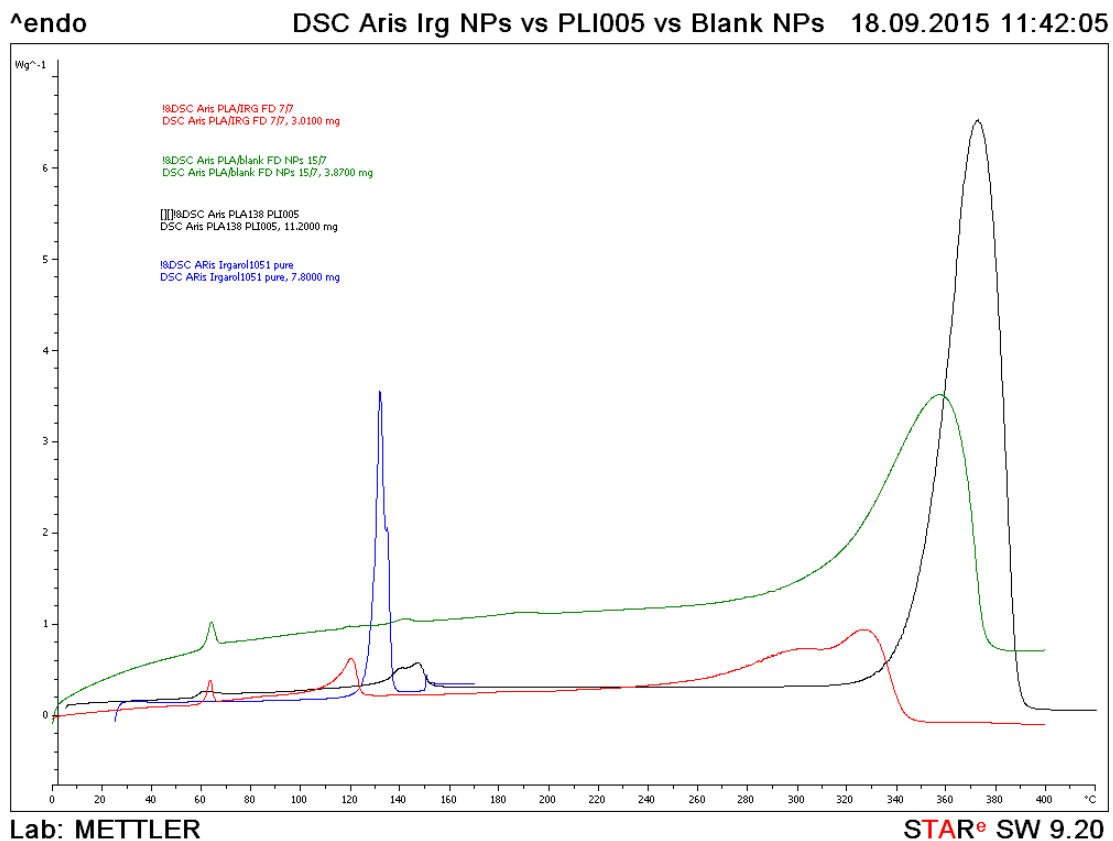
Η ενθαλπία τήξης της ένωσης στο γράφημα DSC των αντίστοιχων σωματιδίων επιβεβαιώνει ότι έχει πραγματοποιηθεί εγκλεισμός του Irgarol και μάλιστα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έμμεσο προσδιορισμό της απόδοσης εγκλεισμού της ένωσης. Χρησιμοποιώντας την ενθαλπία τήξης της ενδόθερμης κορυφής της καθαρής ένωσης (835,7 mJ) από το Σχήμα 5.7, την ενθαλπία (76,0 mJ) από το Σχήμα 5.30 (με την παραδοχή ότι η ενθαλπία τήξης του πολυμερούς είναι αμελητέα) και αντιστοιχίζοντας με τη μάζα της καθαρής ένωσης που χρησιμοποιήθηκε για το DSC (7,80 mg) προκύπτει ότι υπάρχουν τουλάχιστον 0,71 mg Irgarol στη μάζα των 3,01 mg σωματιδίων που χρησιμοποιήθηκαν στην DSC ανάλυση. Επομένως, προκύπτει ότι υπάρχουν περίπου 9,7 mg Irgarol ανάγοντας στο σύνολο των σωματιδίων που ελήφθησαν μετά τη λυοφιλοποίηση (41,0 mg). Ο λόγος της μάζας του Irgarol που

προσδιορίζεται (9,7 mg) προς τη μάζα ένωσης που χρησιμοποιήθηκε αρχικά (21,6 mg) οδηγεί σε απόδοση εγκλεισμού της τάξης του 44,9 % ποσοστό το οποίο απέχει πολύ από τις προσδιοριζόμενες τιμές έμμεσα (86,6 %) και άμεσα (93,0 %) μέσω φασματοσκοπίας υπεριώδους – ορατού.

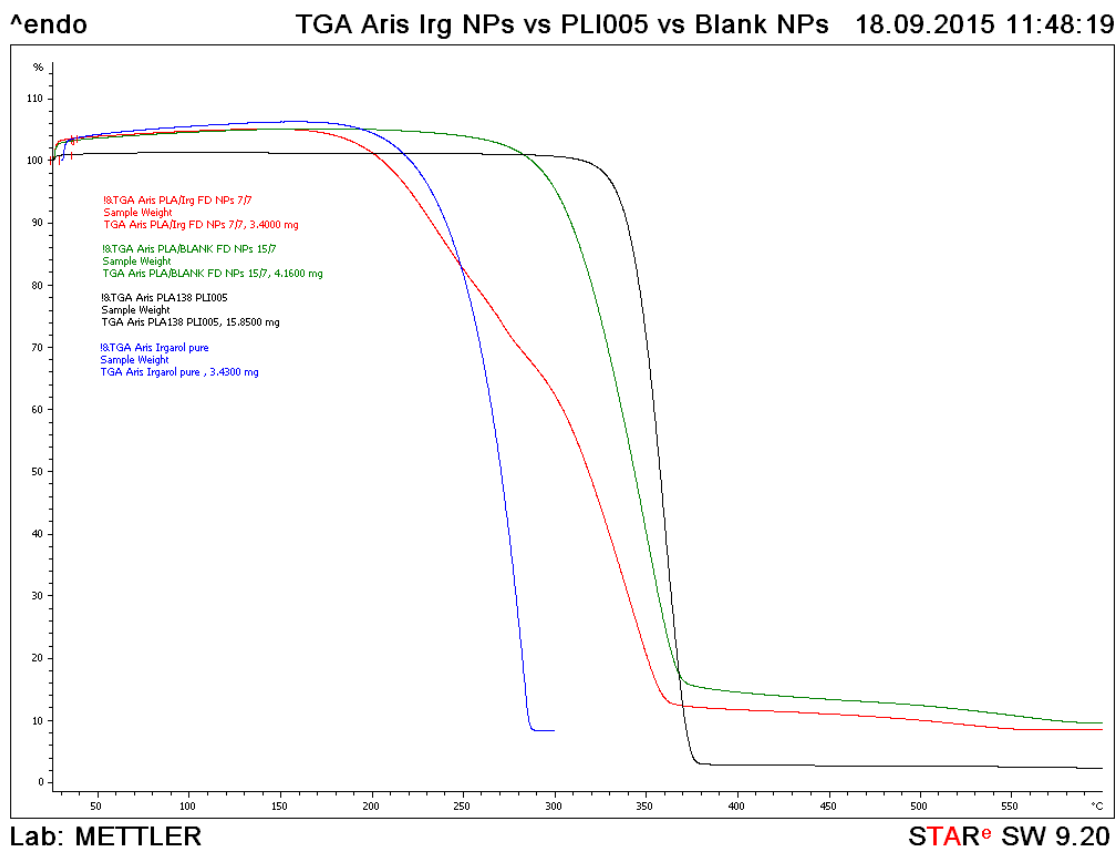
Η μεγάλη διαφοροποίηση τιμών που παρατηρείται είναι φυσιολογική λαμβάνοντας υπόψη τη μορφή της καμπύλης διάσπασης των εγκλεισμένων με Irgarol σωματιδίων από το Σχήμα 5.30 και ακόμα περισσότερο από το Σχήμα 5.31. Στο γράφημα TGA καταγράφονται περισσότερες από μία χαρακτηριστικές κορυφές μέγιστης διάσπασης του υλικού σε αντίθεση με το αντίστοιχο γράφημα των κενών νανοσωματιδίων (Σχήμα 5.27) όπου παρατηρείται αποκλειστικά μία κορυφή. Η αλλαγή στη μορφή της καμπύλης διάσπασης οφείλεται στην παρουσία Irgarol. Ο υπολογισμός της απόδοσης εγκλεισμού με αυτόν τον τρόπο αποτελεί μία υποεκτίμηση της πραγματικής κατάστασης διότι η δεδομένη περιοχή τήξης δεν είναι βέβαιο ότι αντιπροσωπεύει όλη την ποσότητα του Irgarol εντός του δείγματος. Εν γένει, η μέθοδος της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης φαίνεται ότι έχει τις προοπτικές να χρησιμοποιηθεί ως αναλυτικό εργαλείο για τον έμμεσο προσδιορισμό της απόδοσης εγκλεισμού ενώσεων ή απλά για την επιβεβαίωση της επιτυχίας ενός εγκλεισμού.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η συγκριτική απεικόνιση της θερμικής συμπεριφοράς των σωματιδίων με ή χωρίς Irgarol, καθώς και με τα υλικά παρασκευής των εγκλεισμένων σωματιδίων, δηλαδή του πολυμερικού φορέα PLI005 και της καθαρής ένωσης του Irgarol. Το Σχήμα 5.33 αποτελεί το συνοπτικό γράφημα DSC των προαναφερθέντων δειγμάτων, ενώ το Σχήμα 5.34 αντιστοιχίζεται στο γράφημα TGA. Από τα δεδομένα γραφήματα είναι εμφανής η πτώση της θερμοκρασίας διάσπασης για τα σωματίδια με εγκλεισμένο Irgarol τόσο ως προς το μέγιστο ρυθμό διάσπασης όσο και ως προς την ανά μονάδα μάζας μέγιστη ισχύ. Μία υπόθεση για αυτή τη συμπεριφορά αποτελεί το ότι τα εγκλεισμένα με Irgarol σωματίδια περιέχουν λιγότερη ποσότητα ενεργοβόρου προς διάσπαση πολυμερούς στην ίδια μάζα σωματιδίων. Συμπερασματικά, ελαττώνεται η μέγιστη απαιτούμενη ισχύς, ενώ το συνολικό φαινόμενο διάσπασης μετατοπίζεται προς χαμηλότερες τιμές εξαιτίας της χαμηλότερης μέγιστης θερμοκρασίας διάσπασης του Irgarol.

Όσον αφορά τις υπόλοιπες παρατηρούμενες διαφοροποιήσεις, η τήξη του Irgarol στα πολυμερικά σωματίδια φαίνεται πως είναι μετατοπισμένη προς ελαφρώς χαμηλότερες τιμές συγκριτικά με την αντίστοιχη καθαρή ένωση του Irgarol. Επιπλέον, η εμφανής περιοχή τήξης των κενών νανοσωματιδίων δεν διακρίνεται στα σωματίδια με εγκλεισμένο το Irgarol. Το ενδόθερμο φαινόμενο χαλάρωσης είναι κοινό για τις δύο ομάδες σωματιδίων. Τέλος, η επίδραση της παρουσίας του Irgarol φαίνεται πως δεν περιορίζεται στη μετατόπιση της καμπύλης διάσπασης προς χαμηλότερες τιμές ισχύος ανά μονάδα μάζας, αλλά επεκτείνεται και στο παρατηρούμενο υπόλειμμα. Πιο συγκεκριμένα, η καθαρή ένωση του Irgarol παρουσιάζει μικρότερο υπόλειμμα συγκριτικά με τα κενά σωματίδια, ενώ τα σωματίδια με εγκλεισμένη ένωση το Irgarol παρουσιάζουν ενδιάμεσες τιμές υπολείμματος.



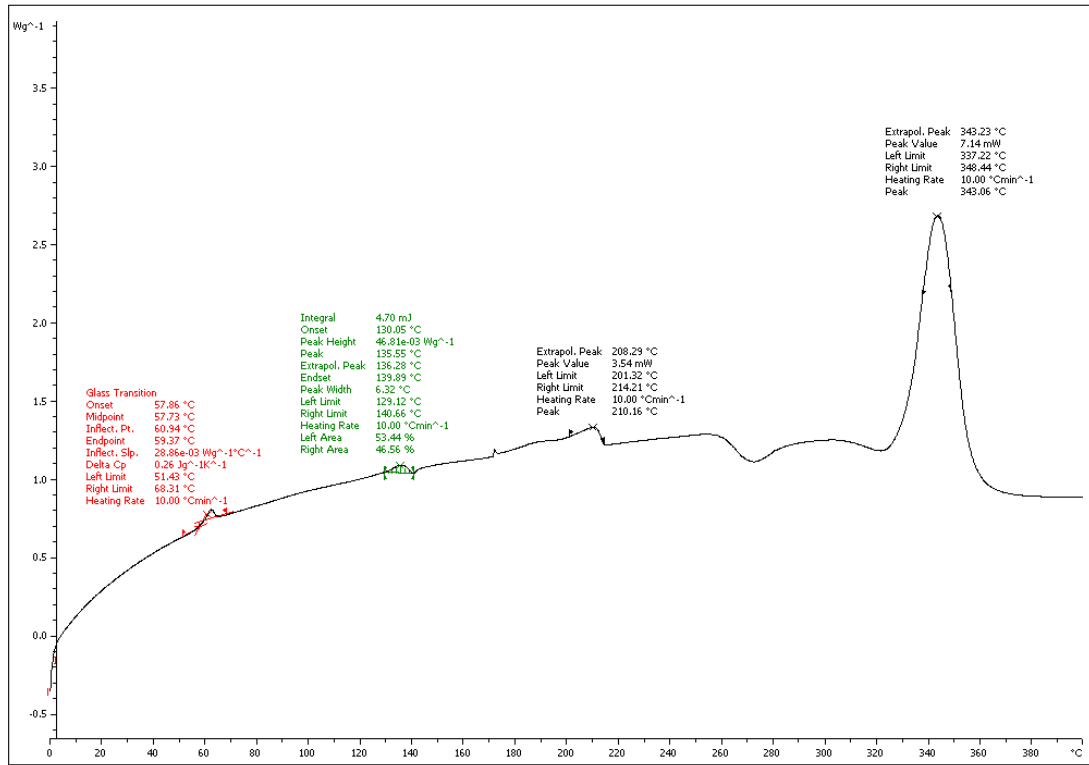
Σχήμα 5.33. Συγκριτικό γράφημα DSC σωματιδίων με Irgarol, κενών σωματιδίων και PLI005



Σχήμα 5.34. Συγκριτικό γράφημα TGA σωματιδίων με Irgarol, κενών σωματιδίων και PLI005

III. Σωματίδια με εγκλεισμένη ένωση την Econea™

^endo DSC Aris PLA-Eco FD NPs 15-7 17.09.2015 16:56:18

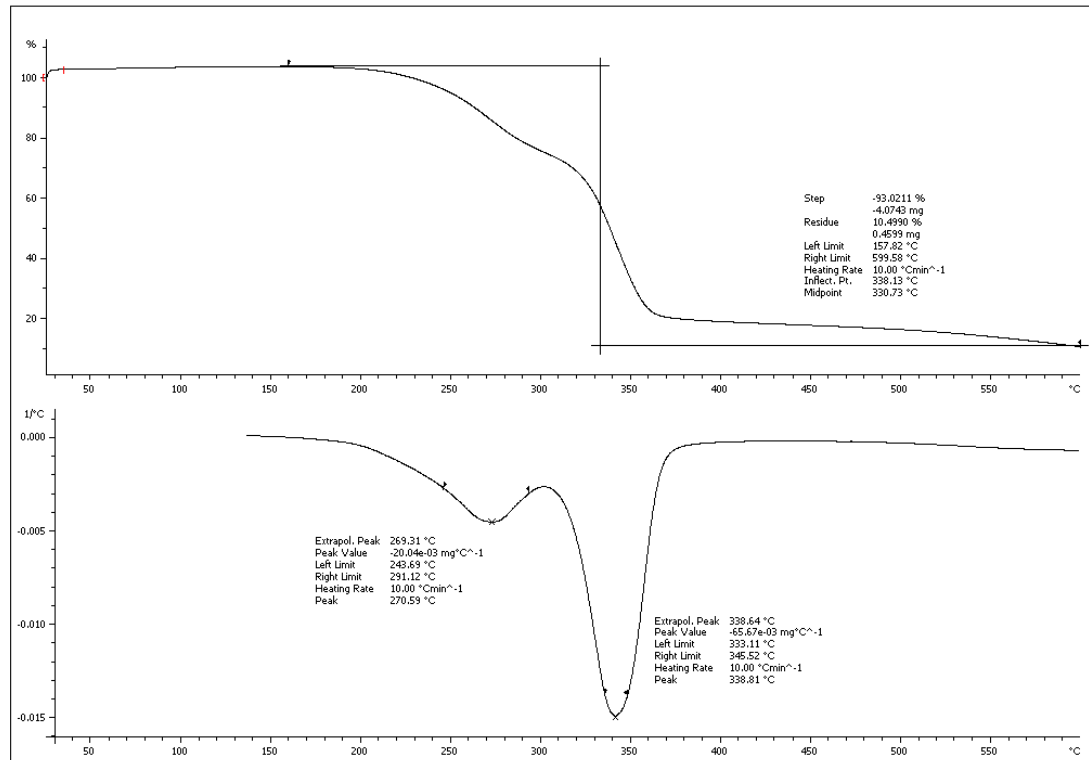


Lab: METTLER

STAR® SW 9.20

Σχήμα 5.35. Γράφημα DSC των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση την Econea

^endo TGA Aris PLA-Eco FD NPs 15-7 17.09.2015 17:01:24



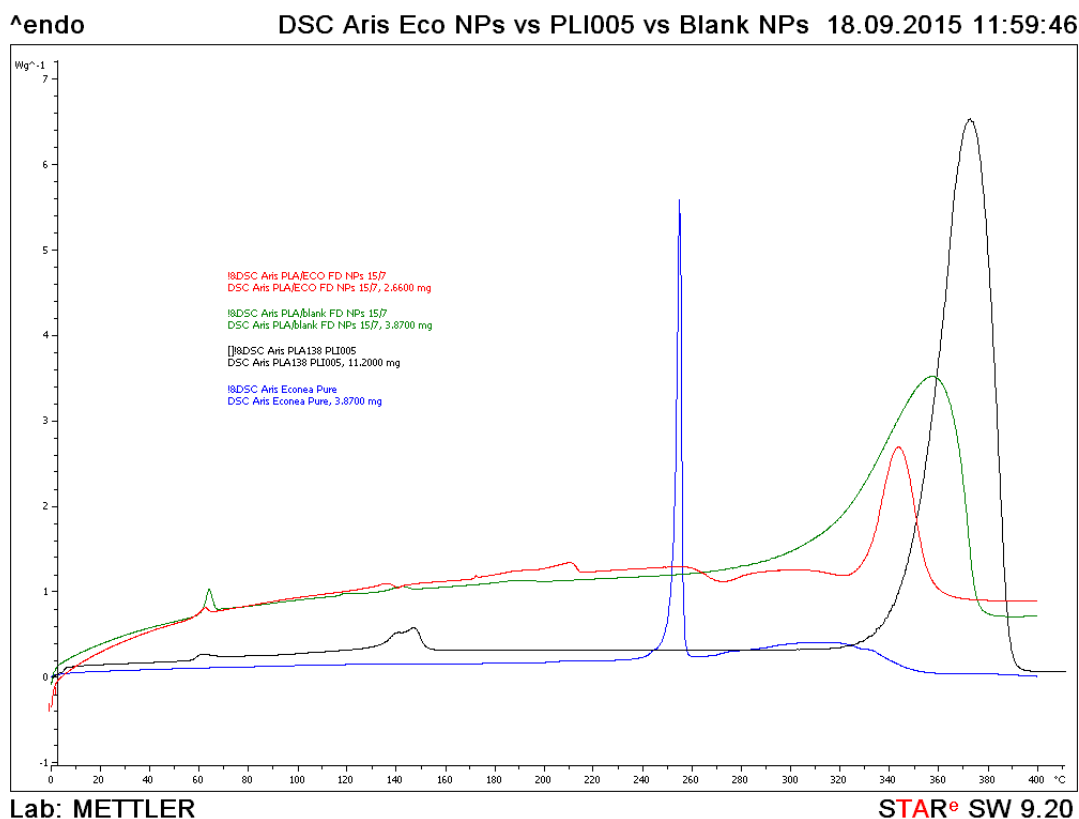
Lab: METTLER

STAR® SW 9.20

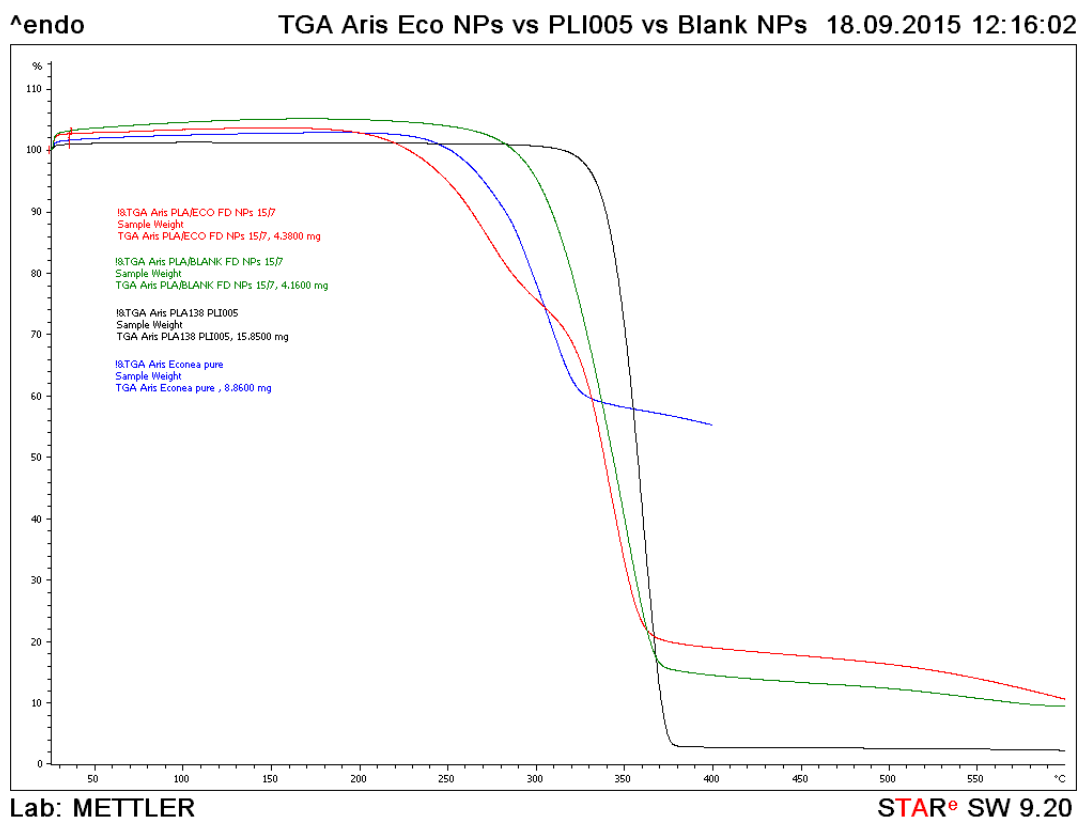
Σχήμα 5.36. Γράφημα TGA των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση την Econea

Το Σχήμα 5.35 αποτελεί το γράφημα DSC των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση την Econeα. Αντίστοιχα, το Σχήμα 5.36 συνοψίζει τη μεταβολή του βάρους του ίδιου δείγματος σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία, δηλαδή αποτελεί το γράφημα TGA των σωματιδίων με Econeα.

Όπως και στην περίπτωση των κενών σωματιδίων, αλλά και αυτών με εγκλεισμένο Irgarol, παρατηρείται το φαινόμενο της ενθαλπικής χαλάρωσης στο σημείο υαλώδους μετάπτωσης. Η επόμενη ενδόθερμη κορυφή του δείγματος αποτελεί αποκλειστικά τήξη της πολυμερικής μήτρας των σωματιδίων. Το απαιτούμενο ποσό ενέργειας για την τήξη των κρυστάλλων αποκαλύπτει ότι το υλικό είναι σχεδόν άμορφο με παρόμοια κρυσταλλικότητα με αυτή των κενών σωματιδίων. Στην συνέχεια, ακολουθεί ενδόθερμη περιοχή με θερμοκρασία μέγιστης ροής θερμότητας τους 210 °C η οποία αποτελεί ερωτηματικό και χρήζει περαιτέρω διερεύνησης διότι συνοδεύεται από φαινόμενα απώλειας μάζας σύμφωνα με το γράφημα TGA. Μία υπόθεση αποτελεί ότι πρόκειται για υπολείμματα PVA. Ωστόσο, παρά την έναρξη της καταγραφής απωλειών μάζας σε αυτήν την περιοχή θερμοκρασιών, η συμπεριφορά του DSC γραφήματος δεν είναι σταθερή και παρουσιάζει διακυμάνσεις με ενδόθερμα και εξώθερμα διάσπασης. Αυτή η συμπεριφορά περιπλέκει την κατάσταση. Τέλος, μία σημαντική ενδόθερμη κορυφή διάσπασης παρατηρείται κοντά στους 340 °C η οποία αντιστοιχίζεται στη διάσπαση του πολυμερικού φορέα και ίσως μέρος της ενώσεως της Econeα. Η σύγκριση με τα αντίστοιχα κενά σωματίδια δύναται να δώσει πληροφορίες για το αν η διάσπαση σε αυτή τη θερμοκρασία είναι αποκλειστικά του πολυμερούς ή και της ένωσης.



Σχήμα 5.37. Συγκριτικό γράφημα DSC σωματιδίων με Econeα, κενών σωματιδίων και PLI005

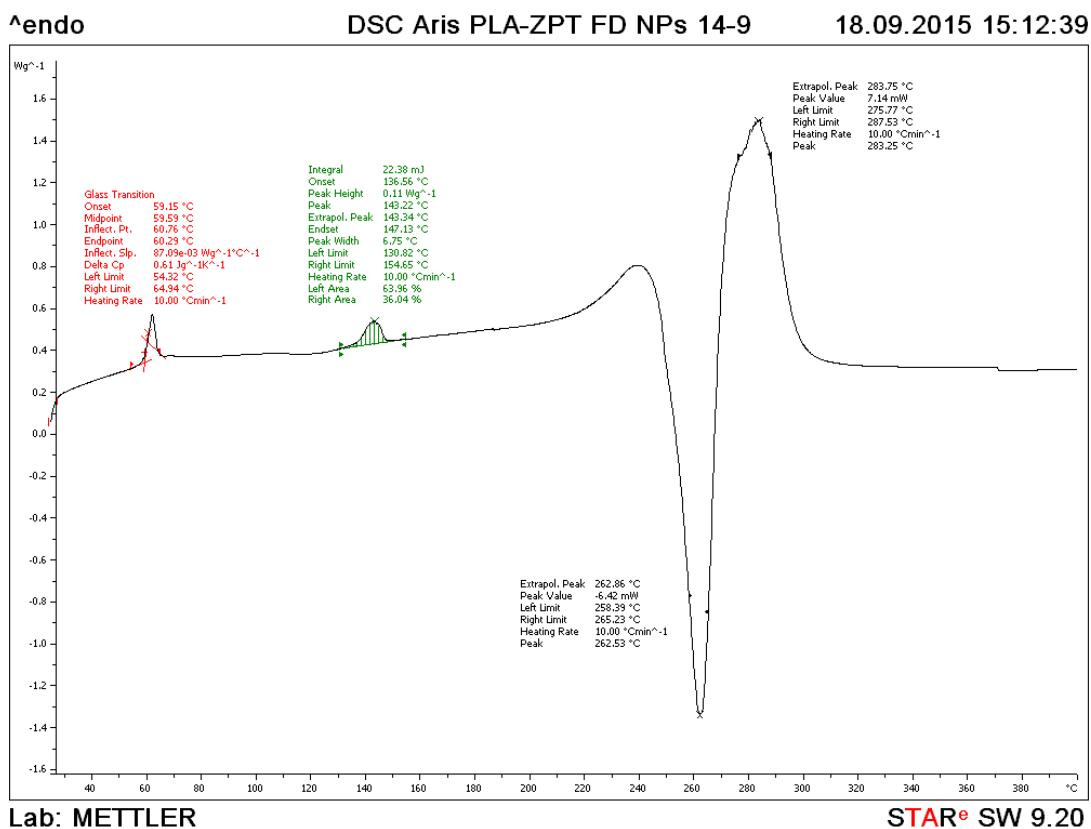


Σχήμα 5.38. Συγκριτικό γράφημα TGA σωματιδίων με Econea, κενών σωματιδίων και PLI005

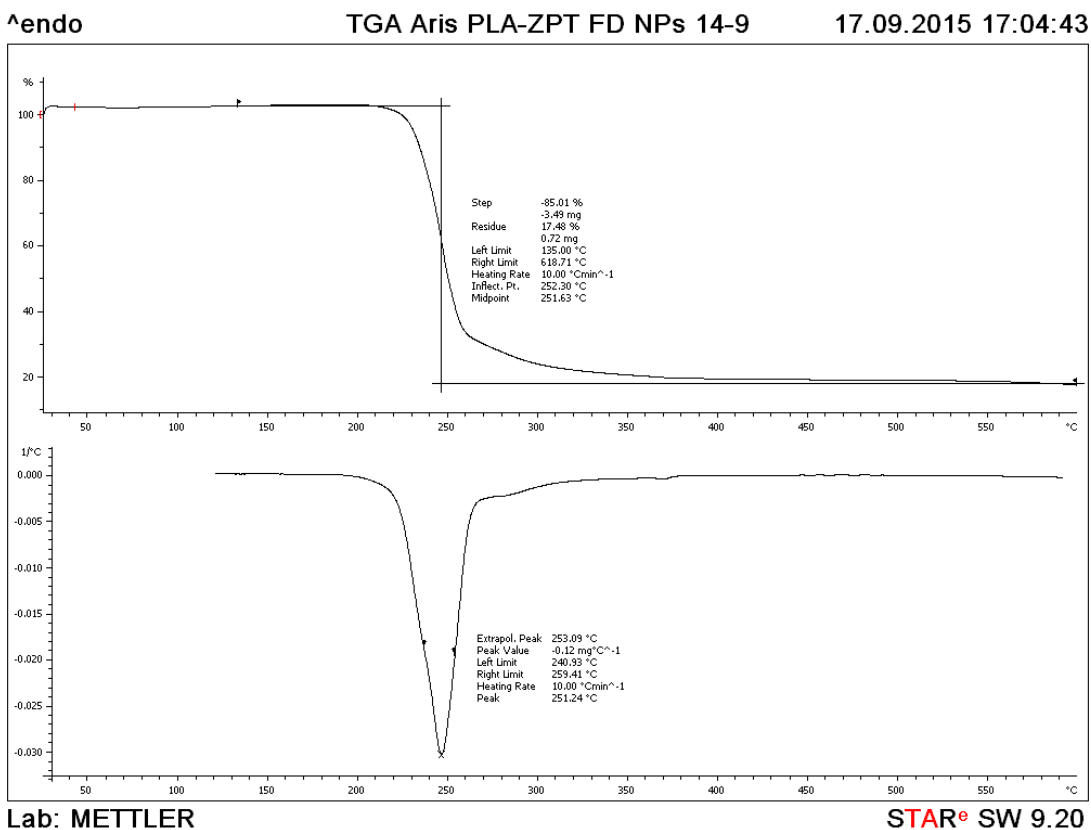
Αξιοποιώντας τις θερμικές καμπύλες των κενών σωματιδίων, των σωματιδίων με εγκλεισμένη Econea, της αντίστοιχης καθαρής ένωσης και του πολυμερούς PLI005 προκύπτουν τα συνοπτικά γραφήματα DSC (Σχήμα 5.37) και TGA (Σχήμα 5.38). Τα δεδομένα γραφήματα αποκαλύπτουν πτώση της θερμοκρασίας διάσπασης για τα σωματίδια με εγκλεισμένη Econea τόσο ως προς το μέγιστο ρυθμό διάσπασης όσο και ως προς την ανά μονάδα μάζας μέγιστη ισχύ. Όπως και στην περίπτωση των σωματιδίων με Irgarol, η συγκεκριμένη συμπεριφορά αποδίδεται στο ότι τα σωματίδια με εγκλεισμένη ένωση περιέχουν λιγότερη ποσότητα ενεργοβόρου προς διάσπαση πολυμερούς στην ίδια μάζα σωματιδίων. Επομένως, ελαττώνεται η μέγιστη καταγραφόμενη ισχύς διάσπασης, ενώ το συνολικό φαινόμενο μετατοπίζεται προς χαμηλότερες τιμές εξαιτίας της χαμηλότερης θερμοκρασίας μέγιστης διάσπασης της Econea.

Στο υποκεφάλαιο 5.1.2 και πιο συγκεκριμένα στη σελίδα 104 αναφέρθηκε ότι η τήξη της Econea δεν είναι απόλυτα διακριτή, διότι από μία θερμοκρασία και μετά εντός της ενδόθερμης περιοχής τήξης συνοδεύεται από φαινόμενα απώλειας μάζας. Η τήξη της Econea στα πολυμερικά σωματίδια δεν είναι τόσο ευδιάκριτη όπως για παράδειγμα στην περίπτωση των πολυμερικών σωματιδίων με Irgarol, διότι λαμβάνουν χώρα μεταβολές της προσδιοριζόμενης μάζας. Τέλος, το υπόλειμμα της Econea είναι πολύ υψηλό εξαιτίας των ανόργανων ατόμων που περιέχει στο μόριό της. Αυτό σημαίνει ότι τα πολυμερικά σωματίδια που περιέχουν εγκλεισμένη Econea παρουσιάζουν ενδιάμεσες τιμές υπολείμματος συγκριτικά με τα κενά πολυμερικά σωματίδια και την καθαρή ένωση, όπως φαίνεται παραστατικά στο Σχήμα 5.38.

IV. Σωματίδια με εγκλεισμένη ένωση το Zinc Pyrithione



Σχήμα 5.39. Γράφημα DSC των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το Zinc Pyrithione

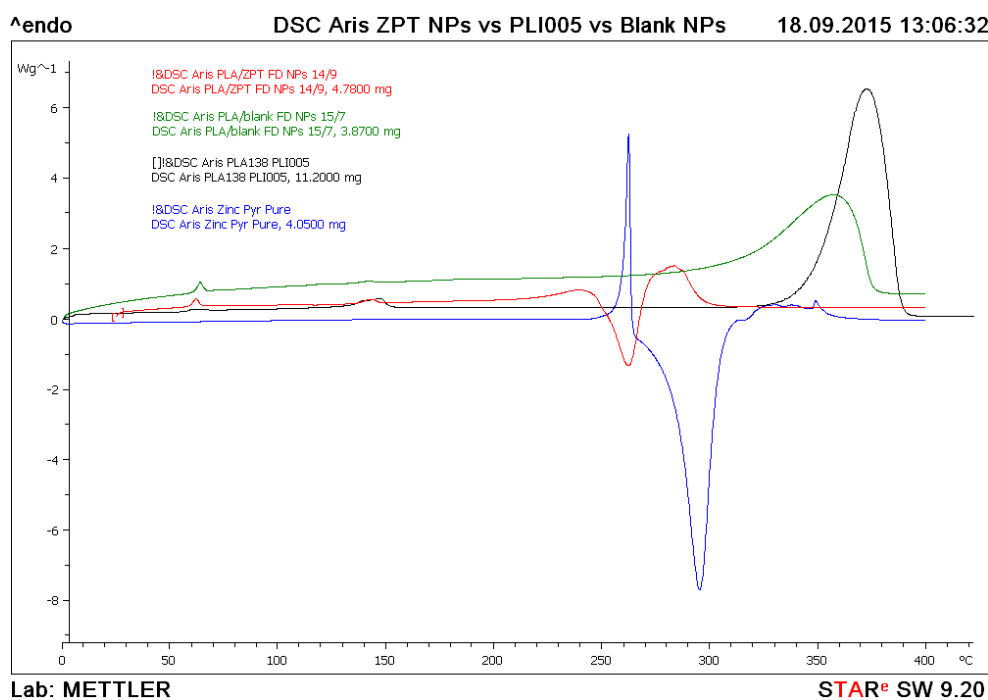


Σχήμα 5.40. Γράφημα TGA των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το Zinc Pyrithione

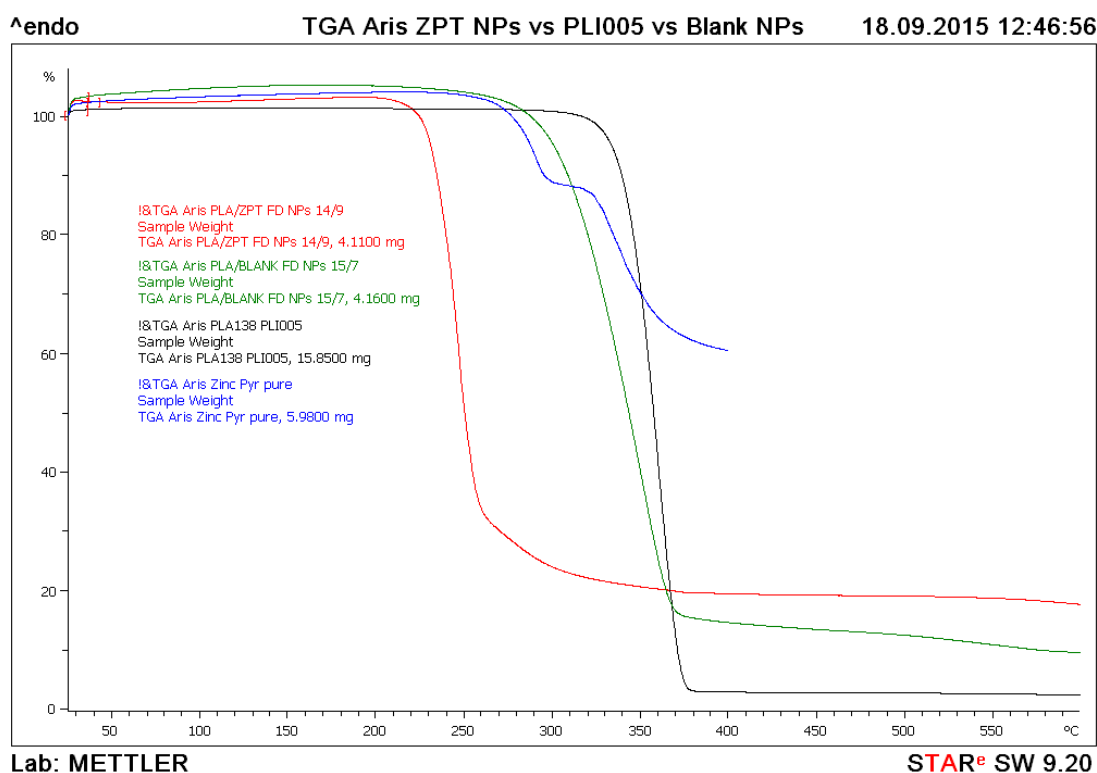
Το Σχήμα 5.39 αποτελεί το γράφημα DSC των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το Zinc Pyrithione. Αντίστοιχα, το Σχήμα 5.40 συνοψίζει τη μεταβολή του βάρους του ίδιου δείγματος σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία, δηλαδή αποτελεί το γράφημα TGA των σωματιδίων με Zinc Pyrithione.

Το φαινόμενο της ενθαλπικής χαλάρωσης στο σημείο υαλώδους μετάπτωσης είναι έντονο και σε αυτά τα πολυμερικά σωματίδια, όπως παρατηρήθηκε και στις προηγούμενες τρεις περιπτώσεις. Η επόμενη ενδόθερμη κορυφή του δείγματος αποτελεί αποκλειστικά τήξη της πολυμερικής μήτρας των σωματιδίων, αφού δεν συνοδεύεται από φαινόμενα απώλειας μάζας. Μάλιστα, η ενδόθερμη περιοχή τήξης αυτών των σωματιδίων είναι η μεγαλύτερη που καταγράφηκε για τα πολυμερικά σωματίδια που παρήχθησαν. Φυσικά, το υλικό είναι τυπικά ημικρυσταλλικό, αλλά πρακτικά σχεδόν. Κοντά στους 210 °C παρατηρείται η έναρξη φαινόμενων απώλειας μάζας, σύμφωνα με το γράφημα TGA (Σχήμα 5.40). Όπως και στην περίπτωση της καθαρής ένωσης, παρατηρούνται δύο διαδοχικές θερμοκρασίες μέγιστου ρυθμού διάσπασης του υλικού με την πρώτη περιοχή διάσπασης να είναι ενδόθερμη και τη δεύτερη εξώθερμη. Τέλος, καταγράφεται μία ενδόθερμη κορυφή διάσπασης κοντά στους 280 °C η οποία αντιστοιχίζεται στη διάσπαση του πολυμερικού φορέα και ίσως μέρος της ενώσεως του Zinc Pyrithione. Η τριπλή καμπύλη διάσπασης που παρατηρείται στο γράφημα DSC φαίνεται πως στο γράφημα TGA κανονικοποιείται σε μία θερμοκρασία μέγιστου ρυθμού διάσπασης (251,2 °C).

Στο Σχήμα 5.41 (DSC) και στο Σχήμα 5.42 (TGA) πραγματοποιείται συγκριτική απεικόνιση της θερμικής συμπεριφοράς των σωματιδίων με ή χωρίς Zinc Pyrithione, καθώς και με τα υλικά παρασκευής των εγκλεισμένων σωματιδίων, δηλαδή του πολυμερικού φορέα PLI005 και της καθαρής ένωσης του Zinc Pyrithione.



Σχήμα 5.41. Συγκριτικό γράφημα DSC σωματιδίων με Zinc Pyrithione, κενών σωματιδίων και PLI005

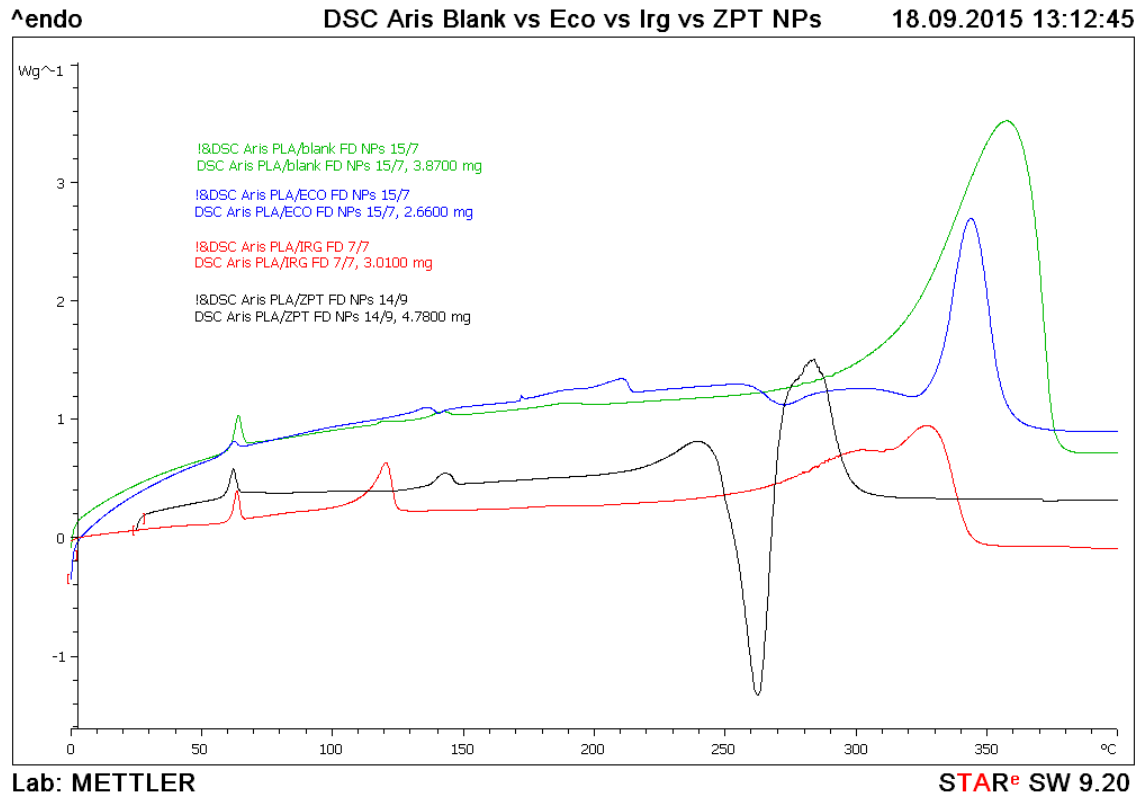


Σχήμα 5.42. Συγκριτικό γράφημα TGA σωματιδίων με Zinc Pyrithione, κενών σωματιδίων και PLI005

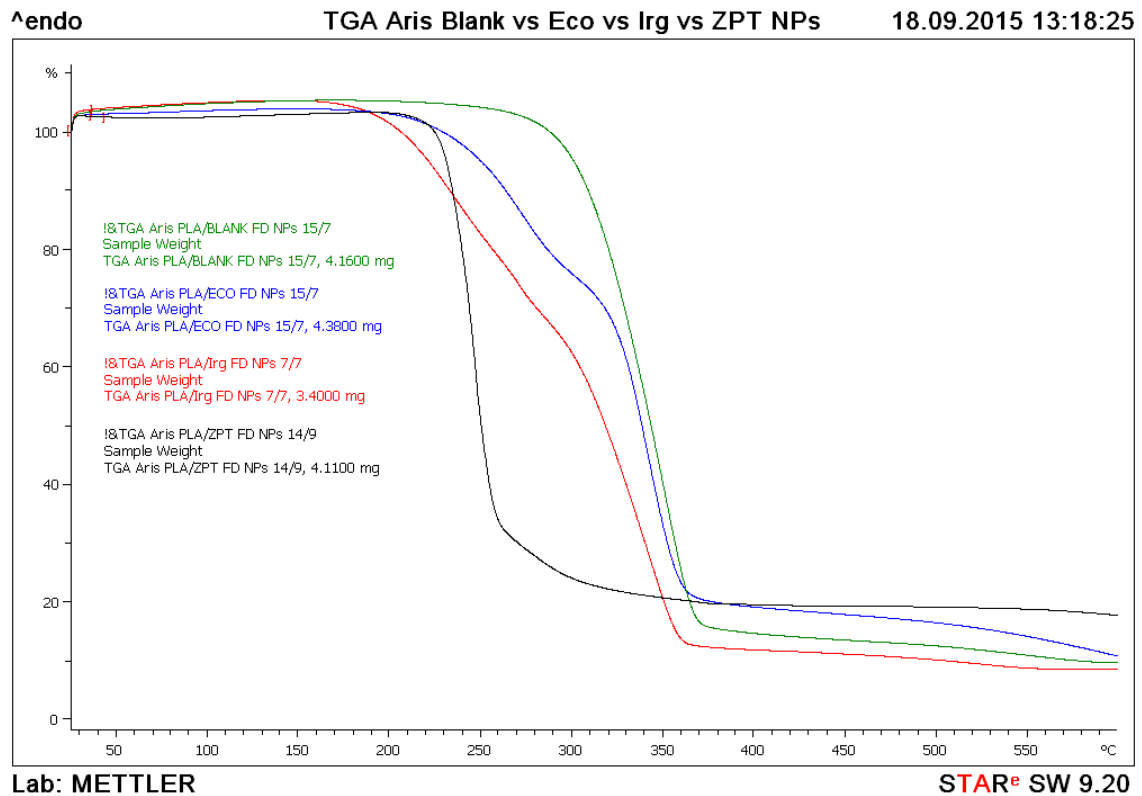
Τα ανωτέρω συγκριτικά γραφήματα αποκαλύπτουν δραματική πτώση της θερμοκρασίας διάσπασης για τα σωματίδια με εγκλεισμένη ένωση το Zinc Pyrithione τόσο ως προς το μέγιστο ρυθμό διάσπασης όσο και ως προς την ανά μονάδα μάζας μέγιστη ισχύ. Η ένωση του Zinc Pyrithione περιέχει στο μόριο της ένα άτομο ψευδαργύρου. Ο ψευδάργυρος αποτελεί ένα μέταλλο με καταλυτικές ιδιότητες ο οποίος χρησιμοποιείται ευρέως στην οργανική σύνθεση [188] [189]. Μία υπόθεση αποτελεί ότι ο ψευδάργυρος του ZPT αποτελεί καταλυτικό παράγοντα για τη διάσπαση τόσο των προϊόντων της διάσπασης του όσο και του πολυμερικού φορέα των σωματιδίων. Άλλωστε, η πτώση της θερμοκρασίας έναρξης απώλειας μάζας και της θερμοκρασίας μέγιστου ρυθμού διάσπασης των πολυμερικών σωματιδίων με Zinc Pyrithione κατά τουλάχιστον 50 °C αποτελεί ενθαρρυντικό στοιχείο για την επαλήθευση του παραπάνω συλλογισμού. Όπως και στην περίπτωση των σωματιδίων με Irgarol και Econepe, η λιγότερη ποσότητα ενεργοβόρου προς διάσπαση πολυμερούς στην ίδια μάζα σωματιδίων συγκριτικά με τα κενά σωματίδια αποτελεί μία ακόμα αιτία για τις μειωμένες ανάγκες ισχύος του δείγματος των σωματιδίων με ZPT. Τέλος, το υπόλειμμα του ZPT είναι πολύ υψηλό εξαιτίας του ατόμου του Zn στο μόριο του. Επομένως, τα πολυμερικά σωματίδια που περιέχουν εγκλεισμένο ZPT παρουσιάζουν ενδιάμεσες τιμές υπολείμματος συγκριτικά με τα κενά πολυμερικά σωματίδια και την καθαρή ένωση, όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.42.

Το υπόλειμμα των σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το ZPT θα μπορούσε να αξιοποιηθεί για τον υπολογισμό της απόδοσης εγκλεισμού των σωματιδίων αν λάμβανε χώρα στοιχειακή ανάλυση στο υπόλειμμα και εύρεση της μάζας του ψευδαργύρου στο δείγμα (έμμεσος προσδιορισμός ποσότητας ZPT).

V. Συγκριτική παράθεση DSC και TGA καμπυλών εγκλεισμένων και μη σωματιδίων



Σχήμα 5.43. Συγκριτικό γράφημα DSC όλων των παραχθέντων σωματιδίων



Σχήμα 5.44. Συγκριτικό γράφημα TGA όλων των παραχθέντων σωματιδίων

5.3 Παρατηρήσεις επί της πειραματικής διαδικασίας

Το παρόν υποκεφάλαιο αποτελεί προσπάθεια σύνοψης μίας σειράς αποτυχημένων/ημιτελών πειραμάτων τα οποία οδήγησαν στην εξαγωγή χρήσιμων παρατηρήσεων και συμπερασμάτων επί της πειραματικής διαδικασίας τόσο κατά το παρασκευαστικό στάδιο όσο και κατά το χαρακτηρισμό των σωματιδίων. Στόχοι του δεδομένου υποκεφαλαίου αποτελούν κατά κύριο λόγο η αποφυγή παρόμοιων σφαλμάτων μελλοντικά, η συζήτηση επί των δυσκολιών που συναντήθηκαν και η αξιοποίηση των πρακτικών προβλημάτων που προέκυψαν για την εύρεση εναλλακτικών εργαλείων/τεχνικών.

5.3.1 Παρατηρήσεις επί της διαδικασίας γαλακτωματοποίησης

Η εφαρμογή που προορίζονται τα παραγόμενα σωματίδια με εγκλεισμένα βιοκτόνα προϋποθέτει τη χρησιμοποίηση ενός πολυμερικού φορέα ο οποίος θα είναι ανθεκτικός στις συνθήκες της εφαρμογής. Με αυτό το σκεπτικό προκρίθηκε η χρησιμοποίηση του πολυμερούς υψηλού μοριακού βάρους PLA 4042D με αντοχή στην υδρόλυση και βραδύτερο ρυθμό απελευθέρωσης συγκριτικά με το PLI005 για την πραγματοποίηση των εγκλεισμών. Για το δεδομένο υλικό ήταν γνωστό ότι διαλύεται σε χλωριωμένους διαλύτες, ωστόσο ήταν άγνωστη η συμπεριφορά του ως προς την ακετόνη. Τελικά, αποδείχθηκε ότι μόνο το PLI005 διαλύεται στην ακετόνη και όχι το PLA 4042D. Ωστόσο, τα αρχικά πειράματα εγκλεισμών έλαβαν χώρα με χρήση του PLA 4042D και διαλύτη το διχλωρομεθάνιο.

Η διεργασία της γαλακτωματοποίησης για μη αναμειξιμούς με το νερό διαλύτες προϋποθέτει τη χρήση μίας συσκευής παροχής εξωτερικής ενέργειας, σε αντίθεση με την πλήρως αναμειξιμη με το νερό ακετόνη για την οποία αρκεί η ταχεία διάχυσή της στο νερό προκειμένου να πραγματοποιηθεί η γαλακτωματοποίηση. Στη δεδομένη διπλωματική επιλέχθηκε η χρήση συσκευής υπερήχων με ακίδα για τη δημιουργία του γαλακτώματος O/W του διχλωρομεθανίου στο νερό. Σε αντίθεση με το αυθόρμητο γαλάκτωμα της ακετόνης και του νερού το οποίο είχε ελαφρά γαλακτώδη όψη (ouzo effect), το γαλάκτωμα του διχλωρομεθανίου στο νερό ήταν ιδιαίτερα γαλακτερό οπτικά χωρίς να προσφέρει τη δυνατότητα κρίσης της παρουσίας μακροσκοπικών ακαθαρσιών ή μη αναμειχθέντων συστατικών.

Πέρα από τη γαλακτώδη όψη, ο έντονος αφρισμός αποτέλεσε έναν ακόμα παράγοντα ο οποίος δυσχέραινε την παρασκευή ενός ομοιόμορφου γαλακτώματος. Ελάττωση του έντονου αφρισμού παρατηρήθηκε όταν η άκρη της ακίδας της συσκευής υπερήχων βυθίστηκε περίπου μέχρι το μέσο του υγρού. Ωστόσο, η βύθιση της ακίδας μέχρι το μέσο οδήγησε πολλές φορές στην εμφάνιση ακαθαρσιών στην επιφάνεια του υγρού τα οποία δεν αναμειγνύονταν με το υπόλοιπο μίγμα. Η τοποθέτηση της ακίδας στο υγρό, η συχνότητα, η ένταση και η διάρκεια λειτουργίας των υπερήχων, το μέγεθος του ποτηριού που φιλοξενείται το υγρό, ο όγκος του μίγματος καθώς και ο τρόπος απόχυσης/ανάμειξης των δύο φάσεων αποτελούν παράγοντες οι οποίοι δύνανται να μεταβάλουν δραματικά τα φυσικοχημικά

χαρακτηριστικά των παραγόμενων σωματιδίων [190]. Επομένως, γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι αν αυτοί οι παράγοντες επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά των σωματιδίων στην εργαστηριακή κλίμακα τότε χρήζει προβληματισμού αν είναι βιώσιμο ένα σενάριο σε βιομηχανική ή ακόμα και πιλοτική κλίμακα.

Τα προβλήματα που προέκυψαν με τη χρήση του διχλωρομεθανίου ως διαλύτη της οργανικής φάσης (πολυδιάσπαρτα σωματίδια και μεγάλα μεγέθη σωματιδίων, εμφάνιση υπολειμμάτων πολυμερούς μετά τη γαλακτωματοποίηση κ.α) έστρεψαν τα πειράματα προς το PLI005 και χρήση της ακετόνης η οποία γαλακτωματοποιείται αυθόρμητα. Οπότε, η συσκευή υπερήχων αποτελούσε πλέον έναν τρόπο εξασφάλισης της ομοιομορφίας των σωματιδίων και ικανοποιητικής ανάμειξης των δύο φάσεων.

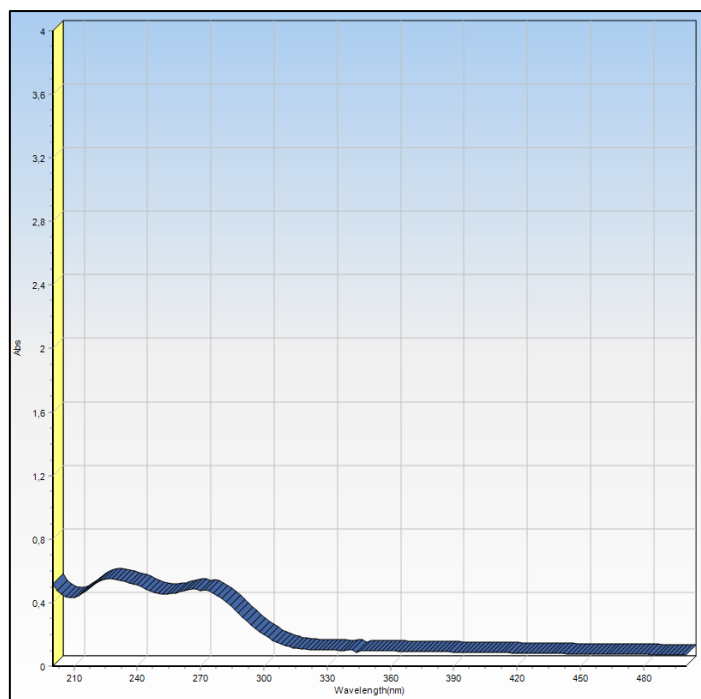
5.3.2 Παρατηρήσεις επί της διαδικασίας εξάτμισης του οργανικού διαλύτη

Μετά τη διαδικασία γαλακτωματοποίησης απαιτείται η αφαίρεση του οργανικού διαλύτη για τη σκλήρυνση των σταγονιδίων οργανικής φάσης προς στερεά πολυμερικά σωματίδια. Η δεδομένη διεργασία λαμβάνει χώρα συνήθως με εξάτμιση του διαλύτη σε ατμοσφαιρικές συνθήκες ή υπό κενό όπως προαναφέρθηκε πρωτύτερα στη σελίδα 75. Στη βιβλιογραφία συναντώνται και οι δύο τεχνικές εξάτμισης του διαλύτη, ωστόσο στις περισσότερες περιπτώσεις αποφεύγεται η αναφορά των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών/παραμέτρων της εξάτμισης, όπως για παράδειγμα ο ρυθμός μαγνητικής ανάδευσης ή ακόμα και ο χρόνος ανάδευσης για την περίπτωση της εξάτμισης σε ατμοσφαιρικές συνθήκες, ή το μέγεθος του κενού και ο χρόνος εξάτμισης για την περίπτωση της εξάτμισης υπό κενό.

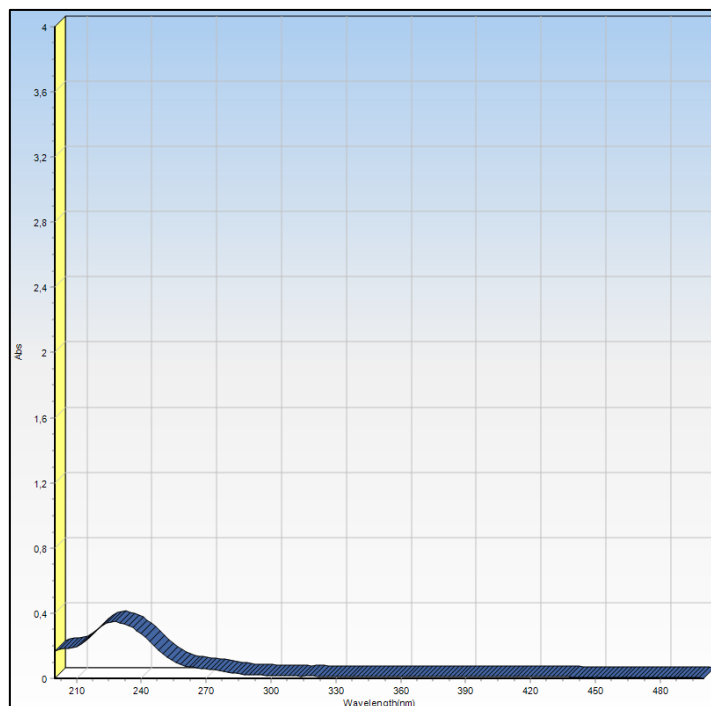
Μεγάλος αριθμός πειραμάτων πραγματοποιήθηκε με την τεχνική εξάτμισης του διαλύτη σε περιστροφικό εξατμιστήρα υπό κενό. Παρά τα σχετικά μακρά χρονικά διαστήματα εξάτμισης στα οποία αφηνόταν το γαλάκτωμα (~3 h) για το δεδομένο όγκο οργανικής φάσης (συνήθως 5 ml οργανικού διαλύτη), η φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού παρουσίαζε προβλήματα στον εντοπισμό των ενώσεων με τον έμμεσο τρόπο φασματομετρίας των υπερκείμενων υγρών της φυγοκέντρωσης. Πραγματοποιώντας ξεχωριστή αξιολόγηση των υπερκείμενων υγρών κάθε σταδίου της φυγοκέντρωσης (τρία συνολικά υπερκείμενα) με σάρωση του φάσματος αποκαλύφθηκε ότι η ακετόνη δεν εξατμιζόταν επαρκώς.

Πιο συγκεκριμένα, το Σχήμα 5.45 αποτελεί το φάσμα UV-Vis του υπερκείμενου υγρού της πρώτης φυγοκέντρωσης ενός πειράματος εγκλεισμού με δραστική ένωση το Irgarol, το Σχήμα 5.46 αντιστοιχίζεται στο υπερκείμενο υγρό της δεύτερης φυγοκέντρωσης του ίδιου πειράματος και τέλος το Σχήμα 5.47 αποτελεί την εικόνα του υπερκείμενου υγρού της τρίτης φυγοκέντρωσης. Υπενθυμίζεται ότι η ένωση του Irgarol παρουσιάζει λ_{\max} στα 226 nm, σύμφωνα με όσα προαναφέρθηκαν στη σελίδα 114. Στα γραφήματα UV-Vis των υπερκείμενων υγρών παρατηρείται η ανάπτυξη μίας δεύτερης καμπυλότητας με μέγιστο στην περιοχή 260 – 270 nm ιδιαίτερα για την περίπτωση των υπερκείμενων της πρώτης φυγοκέντρωσης, δηλαδή

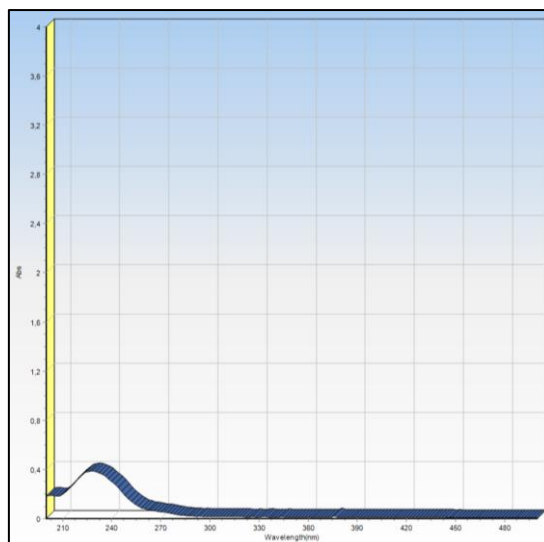
του υγρού στο οποίο θα είχε διαχυθεί η ακετόνη κατά το στάδιο της εξάτμισης και η οποία ενδεχομένως να μην είχε προλάβει να περάσει στην αέρια φάση. Πράγματι, η ακετόνη όταν αποτελεί το διαλυμένο συστατικό στη φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού απορροφά μέγιστα στην περιοχή 259 – 279 nm [176]. Μάλιστα, παρουσιάζει λ_{\max} στα 254 nm για διαλύτη νερό σύμφωνα με το [191].



Σχήμα 5.45. Γράφημα UV-Vis υπερκείμενων υγρών πρώτης φυγοκέντρησης πειράματος εγκλεισμού με δραστική ένωση το Irgarol



Σχήμα 5.46. Γράφημα UV-Vis υπερκείμενων υγρών δεύτερης φυγοκέντρησης πειράματος εγκλεισμού με δραστική ένωση το Irgarol



Σχήμα 5.47. Γράφημα UV-Vis υπερκείμενων υγρών τρίτης φυγοκέντρησης πειράματος εγκλεισμού με δραστική ένωση το Irgarol

Στο δεδομένο πείραμα, η αρχικά προστιθέμενη ακετόνη ήταν μόλις 3 ml και το γαλάκτωμα είχε αφαιρεθεί στον περιστροφικό εξάτμιστήρα για 2 h στα 100 mbar και άλλη 1 h στα 50 mbar. Άμεσο συμπέρασμα αποτελεί ότι παρά την αναμενόμενη πλήρη εξάτμιση του διαλύτη στις έντονες συνθήκες εξάτμισης η ακετόνη δεν είχε αφαιρεθεί πλήρως. Στην περίπτωση του Irgarol, η παρουσία της ακετόνης δημιουργεί εν γένει αμελητέες μετατοπίσεις της τιμής απορρόφησης στο παρατηρούμενο μέγιστο των 226 nm αφού τα μέγιστα απέχουν κατά περίπου 30 nm. Ωστόσο, σε περιπτώσεις άλλων ενώσεων οι οποίες απορροφούν κοντά στα 254 nm, στα οποία απορροφά η ακετόνη σε διαλύτη νερού, δύναται να εξαχθούν λανθασμένα συμπεράσματα για την επιτυχία του εγκλεισμού και την πραγματική τιμή απορρόφησης ή ισοδύναμα συγκέντρωσης της ένωσης. Επομένως, συνίσταται η πολύωρη (≥ 16 h) εξάτμιση των γαλακτωμάτων σε ατμοσφαιρικές συνθήκες με ήπιο ρυθμό ανάδευσης ή/και η χρήση της άμεσης μεθόδου προσδιορισμού της απόδοσης εγκλεισμού (σελ. 92).

5.3.3 Παρατηρήσεις επί της διαδικασίας προσδιορισμού της απόδοσης εγκλεισμού και της απόδοσης της διεργασίας

Στο υποκεφάλαιο 5.2.3 και πιο συγκεκριμένα στη σελίδα 117 καταγράφονται ορισμένοι προβληματισμοί που αφορούν τις διαδικασίες άμεσου και έμμεσου προσδιορισμού της απόδοσης εγκλεισμού μέσω φασματοσκοπίας υπεριώδους – ορατού. Στο δεδομένο υποκεφάλαιο συνοψίζονται ορισμένες πειραματικές παρατηρήσεις οι οποίες συμπληρώνουν τα προβλήματα που παρατέθηκαν πρωτότερα.

Η έμμεση μέθοδος προσδιορισμού της απόδοσης εγκλεισμού στηρίζεται στην εύρεση της συγκέντρωσης της μη εγκλεισμένης ένωσης. Η μη εγκλεισμένη ένωση υπολογίζεται μέσω της απορρόφησης της στο χαρακτηριστικό μήκος κύματος της ένωσης χρησιμοποιώντας τα υπερκείμενα υγρά των φυγοκεντρήσεων. Τα υπερκείμενα υγρά αποτελούνται κατά βάση από νερό, μη εγκλεισμένη ένωση, τον επιφανειοδραστικό παράγοντα (εδώ η PVA), πιθανώς μικροποσότητες του οργανικού

διαλύτη που δεν εξατμίστηκε και σωματίδια τα οποία δεν πρόλαβαν να καταβυθιστούν κατά τη διαδικασία της φυγοκέντρωσης. Όσο αυξάνονται τα στάδια της φυγοκέντρωσης τόσο ελαττώνεται το ποσοστό ακαθαρσιών και αυξάνεται ταυτόχρονα η συγκέντρωση του νερού στα υπερκείμενα υγρά. Επομένως, το πρώτο υπερκείμενο υγρό, το οποίο φέρει το μεγαλύτερο ποσοστό ακαθαρσιών, διαφέρει ποιοτικά από τα αντίστοιχα πρότυπα διαλύματα που κατασκευάστηκε η καμπύλη αναφοράς. Η συγκεκριμένη διαφοροποίηση καταγράφεται με σταθερή ανύψωση της τάξης του 0,1 στις τιμές απορρόφησης κατά τη σάρωση του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος (π.χ Σχήμα 5.45). Η αύξηση της καταγραφόμενης απορρόφησης οφείλεται πιθανότατα στη σκέδαση του φωτός από τις ακαθαρσίες του δείγματος και οδηγεί σε υπερεκτίμηση της συγκέντρωσης της μη εγκλεισμένης ένωσης. Επομένως, οι προσδιοριζόμενες τιμές απόδοσης εγκλεισμού είναι χαμηλότερες από την πραγματική τους τιμή. Σε άλλες περιπτώσεις, η παρουσία των ακαθαρσιών δύναται να οδηγήσει σε ολική συγκάλυψη της χαρακτηριστικής κορυφής της ένωσης οπότε ο έμμεσος προσδιορισμός της απόδοσης εγκλεισμού κρίνεται αδύνατος.

Πηγές σφαλμάτων παρατηρούνται και στη διαδικασία άμεσου προσδιορισμού, αλλά και στον υπολογισμό της απόδοσης της διεργασίας. Πρωτίτερα, πραγματοποιήθηκε αναφορά στο γεγονός ότι οποιαδήποτε παρουσία πρόσμιξης (π.χ PVA, κρυσταλλοπροστατευτικές ενώσεις, σκόνες) στα τελικά ζυγιζόμενα σωματίδια οδηγεί σε έμμεση υπερεκτίμηση της απόδοσης εγκλεισμού και της απόδοσης της διεργασίας, αφού η ποσότητα των λυοφιλοποιημένων σωματιδίων χρησιμοποιείται τόσο για την εύρεση της απόδοσης εγκλεισμού όσο και για την εύρεση της απόδοσης της διεργασίας. Δέον όπως επισημανθεί ότι εκτός της παρουσίας προσμίξεων η αρχική παρουσία υγρασίας στους πολυμερικούς κόκκους του PLA δύναται να οδηγήσει σε σφάλματα των υπολογισμών. Πιο συγκεκριμένα, η ξήρανση του PLI005 υπό κενό οδήγησε σε μεταβολή μάζας της τάξης του 2,5 %. Αυτό σημαίνει ότι η απόδοση της διεργασίας πιθανώς υποεκτιμάται αν χρησιμοποιείται μη ξηραμένο πολυμερές, διότι τότε η υγρασία του υλικού θα συμπεριλαμβάνεται στον παρανομαστή του κλάσματος της εξίσωσης (4.23) ενώ στον αριθμητή του κλάσματος χρησιμοποιείται η μάζα των σωματιδίων μετά τη ξήρανση με κατάψυξη, δηλαδή μάζα χωρίς υγρασία.

Τέλος, η φασματοσκοπία UV-Vis προϋποθέτει τη χρησιμοποίηση κατάλληλου διαλύτη για τις προς εγκλεισμό ενώσεις. Οι καμπύλες αναφοράς πρέπει να κατασκευάζονται με διαλύτες οι οποίοι θα διαλύουν πλήρως τις ενώσεις, θα περιέχουν νερό κατά ένα ποσοστό ώστε να μπορεί να πραγματοποιηθεί μέτρηση των υπερκείμενων υγρών μετά από κατάλληλη τροποποίηση των δειγμάτων (για υδρόφοβες οργανικές ενώσεις προτείνονται μίγματα οργανικού διαλύτη με νερό οπότε απαιτείται η προσθήκη ανάλογης ποσότητας οργανικού διαλύτη στα υπερκείμενα) και ταυτόχρονα θα παρουσιάζουν επαρκώς χαμηλό σε nm κατώφλι απορρόφησης (UV-Vis cut-off), όπως το ακετονιτρίλιο με 190 – 200 nm, ώστε να καταγράφεται και να είναι εύκολα διακριτή η κορυφή απορρόφησης της προσδιοριζόμενης ένωσης. Περισσότερες λεπτομέρειες για το κατώφλι απορρόφησης στη φασματοσκοπία UV-Vis είναι διαθέσιμες στις παραπομπές [177] και [192].

Κεφάλαιο 6. Συμπεράσματα & Προτάσεις

6.1 Συμπεράσματα επί της διπλωματικής

Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε μελέτη της δυνατότητας εγκλεισμού ενώσεων με αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες (Irgarol 1051TM, EconeaTM, Zinc Pyrithione) σε πολυμερικούς φορείς πολυ(γαλακτικού οξέος) (PLA) σε αναλογία ένωσης: πολυμερούς 40 %. Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της γαλακτωματοποίησης – εξάτμισης του διαλύτη και έλαβε χώρα χαρακτηρισμός των σωματιδίων που παρήχθησαν μέσω θερμικής ανάλυσης (DSC και TGA), δυναμικής και ηλεκτροφορητικής σκέδασης φωτός (DLS και ELS), φασματοσκοπίας υπεριώδους – ορατού (UV-Vis) και ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (SEM). Συμπεράσματα και σημαντικές παρατηρήσεις επί της πειραματικής διαδικασίας υπάρχουν διάχυτα στο κείμενο της διπλωματικής οπότε το παρόν υποκεφάλαιο επιχειρεί τη συνοπτική καταγραφή τους.

Το βασικότερο συμπέρασμα επί της διπλωματικής αποτελεί ότι πραγματοποιήθηκε επιτυχής εγκλεισμός των ενώσεων με αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες στον επιλεγμένο πολυμερικό φορέα PLA (PLI005) με μοριακό βάρος 135.000. Μάλιστα, οι προσδιοριζόμενες αποδόσεις εγκλεισμού ήταν ιδιαίτερα υψηλές (> 86 %) γεγονός που αποδίδεται στον υδρόφοβο χαρακτήρα των ενώσεων και τη χαμηλή διαλυτότητά τους στο νερό. Επιπλέον, οι αποδόσεις των διεργασιών παραγωγής ήταν μεγαλύτερες από 55 % για όλα τα παραγόμενα σωματίδια με εγκλεισμένες ενώσεις και σημαντικά μεγαλύτερες από την αντίστοιχη τιμή απόδοσης των κενών σωματιδίων (30 %).

Τα σωματίδια που παρήχθησαν είχαν μεγέθη στην περιοχή της νανοκλίμακας η οποία οριοθετείται στην περιοχή 1 – 1000 nm και στις περισσότερες περιπτώσεις σωματιδίων ο προσδιοριζόμενος δείκτης πολυδιασποράς είχε τιμή μικρότερη από 0,4. Επομένως, τα μεγέθη των σωματιδίων δεν παρουσίασαν ιδιαίτερες διαφοροποιήσεις οπότε τα μεγέθη ήταν σχετικά μονοδιάσπάρτα. Μάλιστα, πραγματοποιήθηκε μελέτη του μεγέθους και του δείκτη πολυδιασποράς των σωματιδίων πριν και μετά τη διαδικασία λυοφιλοποίησης. Τα αποτελέσματα αποκάλυψαν ελαφρά αύξηση του μεγέθους των σωματιδίων μετά τη λυοφιλοποίηση στις περισσότερες περιπτώσεις. Διαφοροποιήσεις στις τελικές μορφολογικές ιδιότητες των σωματιδίων παρατηρήθηκαν όταν η ακετόνη αντικαταστάθηκε από το διχλωρομεθάνιο ως διαλύτης της οργανικής φάσης. Το διχλωρομεθάνιο οδήγησε στο σχηματισμό πολυδιάσπαρτων σωματιδίων στα όρια της νανοκλίμακας και μικροκλίμακας. Όσον αφορά την φυσικοχημική ιδιότητα του ζ-δυναμικού, όλες οι παραγόμενες διασπορές σωματιδίων κρίθηκαν ασταθείς εξαιτίας των χαμηλών απόλυτων τιμών ζ-δυναμικού που προσδιορίστηκαν μέσω ELS, οι οποίες κυμαίνονταν στην περιοχή –2 mV έως –14 mV. Το αρνητικό πρόσημο του ζ-δυναμικού αποδόθηκε στις ουδέτερες συνθήκες pH των διασπορών και στην παρουσία των καρβοξυλομάδων του πολυμερικού φορέα του PLA.

Σημαντικά συμπεράσματα προέκυψαν από τα γραφήματα TGA και DSC για τα σωματίδια με ή χωρίς εγκλεισμένες ενώσεις. Εν γένει, παρατηρήθηκε το φαινόμενο της ενθάλπικης χαλάρωσης στο σημείο υαλώδους μετάπτωσης των σωματιδίων (~60 °C) εξαιτίας της διεργασίας λυοφιλοποίησης που είχαν υποστεί πρωτύτερα. Εξάλλου, τα παραγόμενα σωματίδια ήταν σχεδόν πλήρως άμορφα ή με αμελητέα κρυσταλλικότητα. Τέλος, παρατηρήθηκε γενική πτώση της θερμοκρασίας μέγιστου ρυθμού διάσπασης τόσο για τα σωματίδια με εγκλεισμένες ενώσεις όσο και για τα κενά σωματίδια συγκριτικά με τον αντίστοιχο πολυμερικό φορέα του PLI005. Τα υπολείμματα των σωματιδίων μετά τη θερμική τους επεξεργασία ήταν συνάρτηση της περιεχόμενης ένωσής τους. Εν γένει, η παρουσία ανόργανων στοιχείων με σχετικά μεγάλο ατομικό αριθμό στα μόρια των προς εγκλεισμό ενώσεων (π.χ Br στην Econe, Zn στο Zinc Pyrithione) οδήγησε σε αυξημένα υπολείμματα από τα αντίστοιχα σωματίδια συγκριτικά με τα κενά σωματίδια και τον αντίστοιχο πολυμερικό φορέα σε μορφή κόκκου. Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) πραγματοποιήθηκε σε μη λυοφιλοποιημένο δείγμα σωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση το Irgarol. Οι εικόνες που ελήφθησαν δεν έδωσαν τη δυνατότητα ταυτοποίησης της ύπαρξης των σωματιδίων, αφού δεν παρατηρήθηκαν οι χαρακτηριστικές νανοσφαίρες που παρατίθενται στη βιβλιογραφία. Ωστόσο, ορισμένα στοιχεία όπως η τοπική στοιχειακή ανάλυση του υλικού και ορισμένα μαύρα κυκλικού σχήματος στίγματα αποτελούν ενθαρρυντικούς παράγοντες για την ύπαρξη των σωματιδίων.

Τέλος, οι δυσκολίες που συναντήθηκαν κατά τη διαδικασία παρασκευής των σωματιδίων οδηγούν στο συμπέρασμα ότι ο πολυπαραμετρικός χαρακτήρας της διεργασίας δυσχεραίνει τη μετάβαση από την εργαστηριακή στην εμπορική κλίμακα. Πληθώρα παραμέτρων ρυθμίστηκαν κατάλληλα με βάση τη βιβλιογραφία και την πειραματική παρατήρηση μέχρι τα αποτελέσματα του χαρακτηρισμού των σωματιδίων να είναι αποδεκτά. Ωστόσο, η ρύθμιση αυτών των παραμέτρων στην τάξη των 100 mg είναι αβέβαιο αν θα αποτελεί ικανοποιητική συνταγή για μία τάξη μεγέθους μαζών από 10^3 έως και 10^6 φορές μεγαλύτερη. Εξάλλου, ο αριθμός των σταδίων παραγωγής των σωματιδίων και οι αναλογίες των υλικών που χρησιμοποιήθηκαν αποτελούν πρόκληση για τη διερεύνηση της βιωσιμότητας αυτής της διεργασίας.

6.2 Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

6.2.1 Συμπληρωματικά πειράματα επί της διπλωματικής

Η δεδομένη διπλωματική εργασία περιορίστηκε πειραματικά και χρονικά στον εγκλεισμό ενώσεων με ενδιαφέρουσες αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες και στη μελέτη ορισμένων ιδιοτήτων των παραγόμενων σωματιδίων. Φυσικά, η προσπάθεια που πραγματοποιήθηκε αποτελεί ένα αξιοπρεπές σημείο εκκίνησης για περαιτέρω έρευνα με επιπλέον συμπληρωματικά πειράματα τα οποία θα δώσουν πληροφορίες για τη βιωσιμότητα της εφαρμογής νανοσωματιδίων σε υφαλοχρώματα ενισχύοντας τις επιδόσεις των αντίστοιχων προϊόντων.

Σε πρώτη μέριμνα πρέπει να είναι πειράματα που αφορούν την εξακρίβωση της μορφολογίας και του μεγέθους των σωματιδίων. Επομένως, απαιτείται η εξέταση των σωματιδίων είτε σε λυοφιλοποιημένη μορφή είτε σε μορφή διασποράς με κατάλληλες τεχνικές όπως η SEM και η TEM. Οι προηγούμενες μέθοδοι μπορούν να εξακριβώσουν τις διαφοροποιήσεις ως προς το μέγεθος με βάση αυτά που υπολογίζονται στη διάταξη DLS, ενώ η SEM ή παραλλαγές της δύναται να δώσουν πληροφορίες για τη μορφολογία των παραγόμενων σωματιδίων. Στη συνέχεια, απαιτείται η προκαταρκτική μελέτη της ικανότητας διασποράς των σωματιδίων σε ένα εμπορικό υφαλόχρωμα το οποίο θα παρουσιάζει κατάλληλα χαρακτηριστικά για τη φιλοξενία των σωματιδίων χωρίς να διαταράσσει τη δομή ή τη μορφολογία τους. Ακολούθως, το υφαλόχρωμα πρέπει να μελετηθεί ως προς τις τροποποιημένες ιδιότητές του (π.χ. ικανότητα επάλειψης, εξωτερικά οπτικά χαρακτηριστικά, αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες πριν και μετά την προσθήκη κ.α). Τέλος, θα μπορούσαν να πραγματοποιηθούν μελέτες αποδέσμευσης της εγκλεισμένης ένωσης πριν και μετά την προσθήκη των σωματιδίων στο υφαλόχρωμα και συσχέτιση με τη διατήρηση των αντιβιοεπιστρωτικών ιδιοτήτων του υφαλοχρώματος.

Πέρα από τα ανωτέρω, μία ιδιαίτερα σημαντική παράμετρος που αφορά τα σωματίδια είναι το ζ-δυναμικό. Στη δεδομένη διπλωματική εργασία δεν πραγματοποιήθηκε μελέτη του ζ-δυναμικού ως συνάρτηση του pH το οποίο αποτελεί την κρισιμότερη παράμετρο αυτού του μεγέθους αλλά προσδιορισμός του σε μία μοναδική τιμή για κάθε διασπορά σωματιδίων. Η μελέτη του ζ-δυναμικού ως συνάρτηση του pH μπορεί να δώσει πληροφορίες για το ισοηλεκτρικό σημείο, αλλά και για τις περιοχές pH στις οποίες τα σωματίδια θα είναι σταθερά εντός της διασποράς. Επομένως, η μελέτη αυτού του μεγέθους ως συνάρτηση αυτής της παραμέτρου δύναται να δώσει σημαντικές πληροφορίες για το περιβάλλον που θα πρέπει να βρίσκονται τα σωματίδια εντός του υφαλοχρώματος.

Τελευταίο κομμάτι αποτελεί η διαδικασία μεταφοράς από την εργαστηριακή κλίμακα σε πιλοτική κλίμακα και στη συνέχεια σε βιομηχανική κλίμακα (scale up) προκειμένου όλα τα προηγούμενα πειράματα να γνωρίσουν εμπορική εφαρμογή. Φυσικά, η μεταφορά από μία κλίμακα παραγωγής εργαστηρίου σε μία κλίμακα βιομηχανίας αποτελεί διαχρονικά ένα από τα δυσκολότερα προβλήματα που έχει να αντιμετωπίσει ο χημικός μηχανικός και παρόμοιες ειδικότητες, αφού οι διαφοροποιήσεις στις συμπεριφορές των προϊόντων είναι συνήθως χαώδεις. Τότε απαιτείται η γεφύρωση και εξάλειψη αυτών των διαφοροποιήσεων προκειμένου τα προϊόντα να επιδέχονται βιομηχανικής παραγωγής.

6.2.2 Τροποποιήσεις επί της πειραματικής διαδικασίας

Στα εισαγωγικά κεφάλαια της δεδομένης διπλωματικής πραγματοποιήθηκε συνοπτική παρουσίαση των γενικότερων τεχνικών, διεργασιών και υλικών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή και απομόνωση νανοσωματιδίων με εγκλεισμένες ενώσεις. Κάθε παράγοντας αυτού του ερευνητικού θέματος, είτε αφορά τα χρησιμοποιούμενα υλικά (π.χ. πολυμερικός φορέας, συστατικά προς εγκλεισμό,

επιφανειοδραστικές ενώσεις κ.α) είτε τις γενικότερες τεχνικές (π.χ τεχνική γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης διαλύτη, φυγοκέντρωση, ξήρανση με κατάψυξη κ.α) είτε τις παραμέτρους των διεργασιών (π.χ θερμοκρασία, αναλογίες υλικών κλπ), επιδέχεται τροποποίησης και εκ νέου επιλογής με τελικό στόχο τη βελτίωση του παραγόμενου αποτελέσματος, δηλαδή του προϊόντος. Κατά τη συγγραφή αυτής της διπλωματικής πραγματοποιήθηκε προσπάθεια για την αιτιολόγηση κάθε επιλογής που έλαβε χώρα προκειμένου να είναι ευκολότερος μελλοντικά ο εντοπισμός των σημείων που επιδέχονται τροποποίησης και βελτίωσης. Άλλωστε, ένα σύστημα με τόσες παραμέτρους παρουσιάζει ενδεχομένως περισσότερες από μία λύσεις προς την επιτυχία.

Δέον όπως επισημανθεί ότι υπάρχουν δύο τουλάχιστον σημεία τα οποία χρήζουν ιδιαίτερης προσοχής προς μελλοντική έρευνα. Το πρώτο σημείο αφορά την παραγωγή σωματιδίων χωρίς επιφανειοδραστικές ενώσεις (surfactant free) ούτως ώστε να μειωθεί το κόστος παραγωγής και να εξαιρεθεί το χρονοβόρο στάδιο της φυγοκέντρωσης όπως αυτό περιγράφηκε πρωτύτερα στο πειραματικό μέρος. Το δεύτερο σημείο αποτελεί η αποφυγή της χρήσης του διχλωρομεθανίου ως διαλύτη κατά την παρασκευαστική διαδικασία. Όπως προαναφέρθηκε, οι χλωριωμένοι διαλύτες ήταν οι μοναδικοί υποψήφιοι για τη διάλυση του πολυμερικού φορέα του PLA (περίπτωση PLA 4042D) όταν αυτό είχε μεγάλο μοριακό βάρος. Από την άλλη μεριά, όταν ο πολυμερικός φορέας του PLA ήταν χαμηλότερου μοριακού βάρους (περίπτωση PLA PLI005) μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν λιγότερο τοξικοί διαλύτες όπως ο οξικός αιθυλεστέρας και η ακετόνη. Ωστόσο, η εφαρμογή νανοσωματιδίων σε υφαλοχρώματα προϋποθέτει όσο το δυνατό μεγαλύτερο μοριακό βάρος του πολυμερικού φορέα προκειμένου να ελαττώνεται ο ρυθμός αποδέσμευσης των εγκλεισμένων ενώσεων. Επομένως, για την ικανοποίηση των δύο παραπάνω γεγονότων προτείνεται η μελέτη της ικανότητας χρήσης του πολυμερισμού στερεάς κατάστασης (Steady State Polymerization ή SSP) ως εργαλείο για την αύξηση του μοριακού βάρους πολυμερικών σωματιδίων τα οποία χρησιμοποιούν φορέα με ικανότητα διάλυσης σε χαμηλής τοξικότητας/επικινδυνότητας διαλύτες, όπως για παράδειγμα το PLA τύπου PLI005 σε ακετόνη.

6.2.3 Εγκλεισμός ενζύμων και NPAs σε βιοδιασπώμενα πολυμερή

Στο Κεφάλαιο 2 αναφέρθηκαν δύο φιλικές προς το περιβάλλον κατηγορίες υλικών οι οποίες παρουσιάζουν ενδιαφέρουσες αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες. Αυτά τα υλικά είναι βιολογικής φύσης και πιο συγκεκριμένα πρόκειται για τα ένζυμα και τα φυσικά προϊόντα με αντιβιοεπιστρωτική δράση ή NPAs.

Οι τεχνολογίες που χρησιμοποιούν ένζυμα (σελίδα 14) στερούνται σταθερότητας στις αντιβιοεπιστρωτικές επιδόσεις τους μακροχρόνια εξαιτίας της αστάθειας των ενζύμων [18]. Για παράδειγμα οι πρωτεάσες χρησιμοποιούνται σε θαλάσσιες εφαρμογές υφαλοχρωμάτων και καταλύουν την αποδόμηση πρωτεϊνικών δομών, συμπεριλαμβάνοντας ωστόσο τόσο τον εαυτό τους όσο και άλλα ένζυμα [193]. Επομένως, η παρουσία των πρωτεασών ελαττώνει τη γενική ενζυμική σταθερότητα

του σχεδιαζόμενου προϊόντος [193]. Ο εγκλεισμός των πρωτεασών ενδέχεται να ευνοήσει την επίδοση του υφαλοχρώματος, αφού προσφέρεται η δυνατότητα χρησιμοποίησης «κοκτέιλ» ενζύμων όσο αποφεύγεται η απευθείας επαφή των πρωτεασών με άλλα χρήσιμα ένζυμα [193]. Εγκλεισμός πρωτεασών έχει πραγματοποιηθεί σε ανόργανους φορείς στην παραπομπή [194].

Πέρα από τα ένζυμα τα οποία αποτελούν μία λύση με εξαιρετικές προοπτικές, τα NPAs (σελίδα 28) διαθέτουν ορισμένα χαρακτηριστικά τα οποία τα καθιστούν υποψήφια για μελλοντική αντικατάσταση των εμπορικών βιοκτόνων. Ωστόσο, αυτό προϋποθέτει να ικανοποιήσουν ορισμένες προδιαγραφές όπως η μακροπρόθεσμη διατήρηση της σταθερότητάς τους και κατά συνέπεια των αντιβιοεπιστρωτικών τους ικανοτήτων, αλλά και η δυνατότητα διάθεσής τους σε βιομηχανική κλίμακα. Τα περισσότερα φυσικά προϊόντα με αντιβιοεπιστρωτική δράση είναι έλαια τα οποία προστιθέμενα σε μία επικάλυψη μεταβάλλουν σημαντικά τις φυσικοχημικές ιδιότητές της ή/και δεν παρουσιάζουν αποτελεσματικούς ρυθμούς απελευθέρωσης από την επικάλυψη [195]. Ο εγκλεισμός των NPAs αποτελεί μία υποσχόμενη λύση η οποία δύναται να δώσει ενδεχομένως απάντηση στα ανωτέρω προβλήματα. Ωστόσο, ο εγκλεισμός αυτών των ενώσεων αποτελεί μέρος μίας πολύπλοκης λύσης και δεν απαντά σε σημαντικά προβλήματα που σχετίζονται με τις διαδικασίες εμπορικής σύνθεσης αυτών των μορίων, τις περιβαλλοντικές τους συνέπειες σε μεγάλες ποσότητες και τα νομοθετικά εμπόδια για την εμπορική εκμετάλλευσή τους [195] [196]. Για παράδειγμα χρειάζονται περίπου 10 χρόνια και μερικά εκατομμύρια δολάρια για την έγκριση ενός νέου βιοκτόνου στις Η.Π.Α [195]. Επομένως, υπάρχει ακόμα αρκετός δρόμος να διανυθεί προκειμένου τα φυσικά προϊόντα με αντιβιοεπιστρωτική δράση να αποτελέσουν ανταγωνιστικά μόρια ως προς τα συνεχώς εξελισσόμενα εμπορικά βιοκτόνα και τις όλο και πιο αποτελεσματικές εναλλακτικές αντιβιοεπιστρωτικές τεχνολογίες.

6.2.4 Έρευνα και ανάπτυξη μη τοξικών επικαλύψεων με αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες

Όλες οι προηγούμενες προτάσεις που καταγράφηκαν αφορούσαν την αντιμετώπιση του φαινομένου της βιοεπίστρωσης με χημικώς ενεργές επικαλύψεις εφαρμόζοντας τη διαδεδομένη τεχνολογία εγκλεισμών για τη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των παραγόμενων υφαλοχρωμάτων. Κατά τη συγγραφή των εισαγωγικών τμημάτων της διπλωματικής έλαβε χώρα προσπάθεια για την όσο το δυνατό σφαιρικότερη καταγραφή των διαθέσιμων αντιβιοεπιστρωτικών τεχνολογιών (Κεφάλαιο 2). Η διάκριση των διαθέσιμων τεχνολογιών πραγματοποιήθηκε με βάση τη χημική ενεργότητά τους. Η δεδομένη διπλωματική κινείται ερευνητικά στο πεδίο των χημικά ενεργών υφαλοχρωμάτων με στόχο τη βελτίωση των επιδόσεών τους και του περιβαλλοντικούς τους αντίκτυπου μέσω του εγκλεισμού των ενισχυτικών βιοκτόνων.

Οι εναλλακτικές μη τοξικές τεχνολογίες αποτελούν ένα συνεχώς εξελισσόμενο πεδίο με προοπτικές και δυνατότητες βελτίωσης. Η σταδιακή μετατόπιση της

ερευνητικής κοινότητας στην ανάπτυξη εναλλακτικών φιλικότερων προς το περιβάλλον τεχνολογιών αποτελεί μονόδρομο για ουσιαστική πρόοδο στην αντιμετώπιση του φαινομένου της αυθόρμητης βιοεπίστρωσης επιφανειών. Αυτές οι τεχνολογίες θα βασίζονται σε επικαλύψεις με επιφανειακά χαρακτηριστικά (φυσικοχημικά, μηχανικά, τοπογραφικά) τα οποία θα αποτρέπουν τη μόνιμη απόθεση οργανισμών και την ανάπτυξη των στρωμάτων της βιοεπίστρωσης όπως αυτά περιγράφηκαν στο υποκεφάλαιο 2.2.2 [196]. Ο βιομιμητισμός θαλάσσιων οργανισμών οι οποίοι επιτυγχάνουν αντιμετώπιση της βιοεπίστρωσης της εξωτερικής επιφάνειάς τους συνιστά μία ορθή προσέγγιση του προβλήματος, αφού οι μηχανισμοί της φύσης αποτελούν προϊόν με προϋπηρεσία μερικών εκατομμυρίων ετών. Μία σύντομη ενδιαφέρουσα περίπτωση εμπνευσμένων από τη φύση αντιβιοεπιστρωτικών τεχνολογιών λαμβάνει χώρα στην αναφορά [197].

Όσο οι περιβαλλοντικοί κανονισμοί περιορίζουν τη χρήση βιοκτόνων στις αντιβιοεπιστρωτικές τεχνολογίες τόσο θα μεγεθύνεται η ανάγκη για εύρεση φιλικότερων προς το περιβάλλον εναλλακτικών λύσεων. Η μελλοντική ανάγκη για επικαλύψεις με εξαιρετικές αντιβιοεπιστρωτικές ιδιότητες και φιλικό προς το περιβάλλον χαρακτήρα δείχνουν το δρόμο προς τον οποίο οφείλει να κινηθεί η ερευνητική κοινότητα.

Ευρετήριο Όρων

Αγγλική ορολογία	Ελληνική απόδοση	Σελίδα
Biofouling	Βιοεπίστρωση	1
Algae	Φύκη	2
Conditioning film	Υμένιο προετοιμασίας	3
Primary colonization	Πρωτοβάθμιος αποικισμός	3
Exopolymers	Βακτηριακά βιοπολυμερή	3
(macro)Algal spores	Σπόρια (μακρο)φυκών	3
Barnacle cyprids	Κυπρίδια βαλάνων	3
Barnacles	Βάλανοι	4
Tunicates	Χιτωνοφόρα	4
Molluscs	Μαλάκια	4
Bryozoans	Βρυόζωα	4
Extracellular polymeric substances (EPS)	Εξωκυτταρικές πολυμερικές ουσίες	4
Invertebrates	Ασπόνδυλα	4
Polychaetes	Πολύχαιτα	4
Cnidarians	Κνιδόζωα	4
Hard fouling	Σκληρές επικαθίσεις	5
Soft fouling	Μαλακές επικαθίσεις	5
Microfouling	Μικροεπικαθίσεις	5
Macrofouling	Μακροεπικαθίσεις	5
Tubeworms	Πωγωνοφόρα	5
Mussels	Μύδια	5
Oysters	Στρείδια	5
Bivalves	Δίθυρα	5
Hydroids	Υδροειδή	5

Encrusting sponges	Επιφλοιωτικά σφουγγάρια	5
Dry-docking Operations	Εργασίες δεξαμενισμού	6
International Maritime Organization (IMO)	Διεθνής Ναυτιλιακός Οργανισμός	7
Antifouling paints	Υφαλοχρώματα με αντιβιοεπιστρωτική δράση	8
Tributyltin (TBT)	Τριβουτυλοκασσίτερος	8
Self-polishing copolymer (SPC) coatings	Αυτοκαθαριζόμενες επικαλύψεις συμπολυμερών	8
Tie-coat	Ενδιάμεση συνδετική επίστρωση	9
Primer	Αστάρι	9
Top-coat	Εξωτερική επικάλυψη με αντιβιοεπιστρωτική δράση	9
Insoluble matrix paints	Υφαλοχρώματα αδιάλυτης μήτρας	11
Contact paints	Υφαλοχρώματα επαφής	11
Binder	Μήτρα, συνδετικό μέσο	11
Hard paints	Σκληρά υφαλοχρώματα	11
Soluble matrix paints	Υφαλοχρώματα διαλυτής μήτρας	11
Rosin	Κολοφώνιο	11
Controlled depletion polymer coatings (CDP)	Πολυμερικές επιστρώσεις ελεγχόμενης αποδέσμευσης	12
Bituminous-based primer	Ασφαλτικής βάσης αστάρι	12
Leaching rate	Ρυθμός έκπλυσης	12
Pigment	Βαφή	13
Self-polishing effect	Φαινόμενο αυτοκαθαρισμού	13
Coating polishing rate	Ρυθμός καθαρισμού επικάλυψης	13
Enzyme-based paints	Υφαλοχρώματα ενζυμικής βάσης	14
Proteases	Πρωτεάσες	14
Glycosylases	Γλυκοζυλάσες	14
Bioadhesive	Βιοσυγκολλητικό	14
Tin-free antifouling paints	Επικαλύψεις με αντιβιοεπιστρωτική δράση χωρίς κασσίτερο	15
Engineered Microtopographical Surfaces	Επικαλύψεις διαμόρφωσης μικροτοπογραφίας	15

Attachment points	Σημεία πρόσδεσης	15
Fouling Release Coatings (FRC)	Επικαλύψεις απελευθέρωσης ρύπων	16
Hybrid self-polishing systems	Υβριδικά αυτοκαθαριζόμενα συστήματα	17
Antifouling booster biocide	Ενισχυτικό βιοκτόνο με αντιβιοεπιστρωτική δράση	20
Aromatic halides	Αρωματικά αλογονίδια	20
Carbamates	Καρβαμιδικά	20
Agrochemicals	Αγροχημικά	20
Pesticides	Παρασιτοκτόνα	20
Herbicides	Ζιζανιοκτόνα	20
Fungicides	Μυκητοκτόνα	20
Bactericides	Βακτηριοκτόνα	20
Isothiazolinone	Ισοθειαζολινόνη	21
Partitioning	Κατακερματισμός	23
Dredging	Εργασίες βυθοκόρου	23
Native plastoquinone	Εγγενής πλαστοκινόνη	23
Reactive oxygen species	Δραστικές μορφές οξυγόνου	23
Copper-free antifouling paints	Επικαλύψεις με αντιβιοεπιστρωτική δράση χωρίς χαλκό	25
Transchelation	trans-συμπλοκοποίηση	28
Sessile marine organisms	Άμισχοι θαλάσσιοι οργανισμοί	28
Natural Product Antifoulants (NPAs)	Φυσικά προϊόντα με αντιβιοεπιστρωτική δράση	28
Encapsulation	Εγκλεισμός	29
Capsules (nano/micro)	Κάψουλες (νανο/μικρο)	29
Spheres (nano/micro)	Σφαίρες (νανο/μικρο)	29
Carrier	Φορέας	30
Cross-linking	Αντιδράσεις διασταύρωσης	33
Emulsification-solvent evaporation technique	Τεχνική γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης διαλύτη	34
Spontaneous emulsification technique	Τεχνική αυθόρμητης γαλακτωματοποίησης	34

Emulsifying agent	Γαλακτωματοποιητής	35
Stabilizer	Σταθεροποιητής	35
Precipitation	Καταβύθιση	35
Hardening	Σκλήρυνση	35
Solidification	Στερεοποίηση	35
Solvent displacement technique	Τεχνική εκτόπισης διαλύτη	36
Nanoprecipitation technique	Τεχνική νανοκαταβύθισης	36
Biodegradable	Βιοδιασπώμενος	38
Spray-drying	Ξήρανση με εκνέφωση	40
Lyophilization	Λυοφιλοποίηση/ λυοφιλίωση	40
Polydispersity index (PDI)	Δείκτης πολυδιασποράς	44
Dynamic light scattering (DLS)	Δυναμική σκέδαση φωτός	45
Scanning Electron Microscopy (SEM)	Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης	45
Transmission Electron Microscopy (TEM)	Ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης	45
Photon Correlation Spectroscopy (PCS)	Φασματοσκοπία συσχέτισης φωτονίων	45
Quasi-Elastic Light Scattering (QELS)	Ψευδο-ελαστική σκέδαση φωτός	45
Solvation layer	Στιβάδα επιδιαλύτωσης	45
Hydration layer	Στιβάδα ενυδάτωσης	45
Slipping plane	Επίπεδο ολίσθησης	47
Surface of hydrodynamic shear	Επιφάνεια υδροδυναμικής διάτμησης	47
Isoelectric point	Ισοηλεκτρικό σημείο	47
Electrophoretic mobility	Ηλεκτροφορητική κινητικότητα	48
Leaching	Έκπλυση	49
Differential Scanning Calorimetry (DSC)	Διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης	56
Thermogravimetric analysis (TGA)	Θερμοβαρυμετρική ή θερμοσταθμική ανάλυση	56
Thermobalance	Θερμοζυγός	65
Blank/Placebo nanoparticles	Κενά νανοσωματίδια	69

Sonication bath	Λουτρό υπερήχων	72
Sonication probe	Συσκευή υπερήχων με ακίδα	72
High-shear stirrers	Υψηλής-διάτμησης αναδευτήρες	72
High-pressure homogenizers	Υψηλής-πίεσης ομογενοποιητές	72
Deforming force	Δύναμη απόσπασης/παραμόρφωσης	72
Interfacial force	Διεπιφανειακή δύναμη	72
Compression areas	Περιοχές υψηλής πίεσης/συμπίεσης	73
Rarefaction areas	Περιοχές χαμηλής πίεσης/πυκνότητας/αραίωσης	73
Cavitation	Σπηλαίωση	73
Rotary evaporator	Περιστροφικός εξατμιστήρας	75
Washing	Έκπλυση	76
Centrifugal field	Φυγοκεντρικό πεδίο	77
Relative centrifugal field (RCF)	Σχετικό φυγοκεντρικό πεδίο	77
Centrifugal tubes	Σωληνάρια φυγοκέντρωσης	77
Supernatant	Υπερκείμενο υγρό	78
Freeze drying	Ξήρανση με κατάψυξη	79
Cryo-drying	Κρυοξηήρανση	80
Cryoprotectants	Κρυοπροστατευτικά	81
Nanoparticle cake	Κέικ νανοσωματιδίων	81
Encapsulation efficiency (E.E)	Απόδοση εγκλεισμού	82
Yield	Απόδοση της διεργασίας	82
Non-Invasive Backscatter Detection (NIBS)	Μη-επεμβατική οπισθοσκεδαζόμενη ανίχνευση	85
Correlation functions	Συναρτήσεις συσχέτισης	85
Digital correlator	Ψηφιακός συσχετιστής	85
Monodisperse	Μονοδιάσπαρτο	85
Non Negative Least Squares method (NNLS)	Μέθοδος μη αρνητικών ελαχίστων τετραγώνων	86
Electrophoretic Light Scattering (ELS)	Ηλεκτροφορητική σκέδαση φωτός	87

Attenuator	Ρυθμιστής έντασης	87
Compensation optics	Σύστημα αποκατάστασης των οπτικών χαρακτηριστικών	87
Modulation	Διαμόρφωση με κάτοπτρα	87
Refractive index	Δείκτης διάθλασης	88
Standard Operating Procedure (SOP)	Τυποποιημένη διαδικασία λειτουργίας	88
Alternating Differential Scanning Calorimetry (ADSC)	Διαφορική θερμοδομετρία σάρωσης ημιτονοειδούς θέρμανσης	95
Burst release	Εκρηκτική απελευθέρωση	96
Enthalpic relaxation phenomenon	Φαινόμενο ενθαλπικής χαλάρωσης	120
UV-Vis cut-off	Κατώφλι απορρόφησης	138
Steady State Polymerization (SSP)	Πολυμερισμός στερεάς κατάστασης	142

Βιβλιογραφία

- [1] Diego Meseguer Yebra, Soren Kiil, and Kim Dam-Johansen, "Antifouling technology—past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings," *Progress in Organic Coatings*, vol. 50, pp. 75-104, 2004.
- [2] Woods Hole Oceanographic Institute (WHOI), "The History and Prevention of Fouling," *Marine Fouling and its Prevention*, 1952.
- [3] Elisabete Almeida, Teresa C. Diamantino, and Orlando de Sousa, "Marine paints: The particular case of antifouling paints," *Progress in Organic Coatings*, vol. 59, pp. 2-20, 2007.
- [4] Marlène Lejars, André Margailan, and Christine Bressy, "Fouling Release Coatings: A Nontoxic Alternative to Biocidal Antifouling Coatings," *Chemical Reviews*, vol. 112, no. 8, pp. 4347-4390, 2012.
- [5] Maureen E. Callow and Robert L. Fletcher, "The Influence of Low Surface Energy Materials on Bioadhesion - a Review," *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 34, no. 3-4, pp. 333-348, 1994.
- [6] Sibylle Abarzua and Sabiene Jakubowski, "Biotechnological investigation for the prevention of biofouling. I. Biological and biochemical principles for the prevention of biofouling," *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, vol. 123, pp. 301-312, 1995.
- [7] J. Azeredo and R. Oliveira, "The role of hydrophobicity and exopolymers in initial adhesion and biofilm formation," in *Biofilms in Medicine, Industry and Environmental Biotechnology: Characteristics, Analysis and Control.*: IWA Publishing, 2003, ch. 2, pp. 16-31.
- [8] Gregory D. Bixler and Bharat Bhushan, "Biofouling: lessons from nature," *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, vol. 370, no. 1967, pp. 2381--2417, 2012.
- [9] Sergey Dobretsov, David N. Williams, and Jeremy C. Thomason, *Biofouling Methods.*: John Wiley & Sons, 2014.
- [10] M. Lehaitre and C. Compère, "Biofouling and underwater measurements," in *Real-time Coastal Observing Systems for Marine Ecosystem Dynamics and Harmful Algal Blooms: theory, instrumentation and modelling.*: UNESCO Publishing, 2008, ch. 12, pp. 463-493.
- [11] A. Abbott, P. D. Abel, D. W. Arnold, and A. Milne, "Cost-benefit analysis of

- the use of TBT: the case for a treatment approach," *The Science of the Total Environment*, vol. 258, pp. 5-19, 2000.
- [12] Michael A. Champ, "A review of organotin regulatory strategies, pending actions, related costs and benefits," *The Science of the Total Environment*, vol. 258, pp. 21-71, 2000.
- [13] Joseph J. Cooney and Ruey-Jing Tang, "Quantifying Effects of Antifouling Paints on Microbial Biofilm Formation," *Methods in Enzymology*, vol. 310, pp. 637-644, 1999.
- [14] K. Reise, S. Gollasch, and W. J. Wolff, "Introduced marine species of the North Sea coasts," *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, vol. 52, no. 3-4, pp. 219-234, 1998.
- [15] S. Gollasch, "The Importance of Ship Hull Fouling as a Vector of Species Introductions into the North Sea," *Biofouling*, vol. 18, no. 2, pp. 105-121, 2002.
- [16] Maria Salta et al., "Designing biomimetic antifouling surfaces," *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, vol. 368, no. 1929, pp. 4729-4754, 2010.
- [17] L. D. Chambers, K. R. Stokes, F. C. Walsh, and R.J. K. Wood, "Modern approaches to marine antifouling coatings," *Surface & Coatings Technology*, vol. 201, no. 6, pp. 3642-3652, 2006.
- [18] S. M. Olsen, L. T. Pedersen, M. H. Laursen, S. Kiil, and K. Dam-Johansen, "Enzyme-based antifouling coatings: a review," *Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*, vol. 23, no. 5, pp. 369-383, 2007.
- [19] A. J. Scardino, E. Harvey, and R. De Nys, "Testing attachment point theory: diatom attachment on microtextured polyimide biomimics," *Biofouling*, vol. 22, no. 1, pp. 55 - 60, 2006.
- [20] Todorka Vladkova, "Surface Engineering for Non-toxic Biofouling Control," *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, vol. 42, no. 3, pp. 239-256, 2007.
- [21] Dickon Howell and Brigitte Behrends, "A review of surface roughness in antifouling coatings illustrating the importance of cutoff length," *Biofouling*, vol. 22, no. 6, pp. 401-410, 2006.
- [22] Robert F. Brady, "Fouling-release Coatings for Warships," *Defense Science Journal*, vol. 55, no. 1, pp. 75-81, 2005.

- [23] Alexandre Beigbeder et al., "Preparation and characterisation of silicone-based coatings filled with carbon nanotubes and natural sepiolite and their application as marine fouling-release coatings," *Biofouling*, vol. 24, no. 4, pp. 291-302, 2008.
- [24] Hongxia Fang, Shuxue Zhou, and Limin Wu, "Microphase separation behavior on the surfaces of PEG–MDI–PDMS multiblock copolymer coatings," *Applied Surface Science*, vol. 253, no. 6, pp. 2978-2983, 2006.
- [25] Zhen Ge and Yunjun Luo, "Synthesis and characterization of siloxane-modified two-component waterborne polyurethane," *Progress in Organic Coatings*, vol. 76, no. 11, pp. 1522–1526, 2013.
- [26] S.K. Rath et al., "Two component silicone modified epoxy foul release coatings: Effect of modulus, surface energy and surface restructuring on pseudobarnacle and macrofouling behavior," *Applied Surface Science*, vol. 256, no. 8, pp. 2440-2446, 2010.
- [27] Katherine A. Dafforn, John A. Lewis, and Emma L. Johnston, "Antifouling strategies: History and regulation, ecological impacts and mitigation," *Marine Pollution Bulletin*, vol. 62, no. 3, pp. 453–465, 2011.
- [28] N. Voulvoulis, M. D. Scrimshaw, and J. N. Lester, "Alternative Antifouling Biocides," *Applied Organometallic Chemistry*, vol. 13, no. 3, pp. 135-143, 1999.
- [29] Iwao Omae, "General Aspects of Tin-Free Antifouling Paints," *Chemical Reviews*, vol. 103, no. 9, pp. 3431–3448, 2003.
- [30] Dean C. Webster and Bret J. Chisholm, "New Directions in Antifouling Technology," in *Biofouling*, Simone Durr and Jeremy C. Thomason, Eds.: Wiley-Blackwell, 2009, ch. 25, pp. 366-387.
- [31] Francisco Antonio Guardiola, Alberto Cuesta, José Meseguer, and Maria Angeles Esteban, "Risks of Using Antifouling Biocides in Aquaculture," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 13, no. 2, pp. 1541–1560, 2012.
- [32] H. Okamura et al., "Photodegradation of Irgarol 1051 in water," *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, vol. 34, no. 2, pp. 225-238, 1999.
- [33] I. K. Konstantinou and T. A. Albanis, "Worldwide occurrence and effects of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment: a review,"

- Environment International*, vol. 30, no. 2, pp. 235–248, 2004.
- [34] Nikolaos Voulvoulis, "Antifouling Paint Booster Biocides: Occurrence and Partitioning in Water and Sediments," in *Antifouling Paint Biocides*, Ioannis K. Konstantinou, Ed.: Springer Science & Business Media, 2006, pp. 155-170.
- [35] Georgia Gatidou, Nikolaos S. Thomaidis, and John L. Zhou, "Fate of Irgarol 1051, diuron and their main metabolites in two UK marine systems after restrictions in antifouling paints," *Environment International*, vol. 33, no. 1, pp. 70–77, 2007.
- [36] S. D.W. Comber et al., "Partitioning of marine antifoulants in the marine environment," *The Science of the Total Environment*, vol. 286, no. 1-3, pp. 61-71, 2002.
- [37] N. Voulvoulis, M. D. Scrimshaw, and J. N. Lester, "Partitioning of selected antifouling biocides in the aquatic environment," *Marine Environmental Research*, vol. 53, no. 1, pp. 1–16, 2002.
- [38] Dickon Howell and Brigitte Behrends, "Consequences of Antifouling Coatings – The Chemist's Perspective," in *Biofouling*, Simone Durr and Jeremy C. Thomason, Eds.: Wiley-Blackwell, 2009, ch. 16, pp. 226-242.
- [39] J. C. Bowman, J. W. Readman, and J. L. Zhou, "Seasonal variability in the concentrations of Irgarol 1051 in Brighton Marina, UK; including the impact of dredging," *Marine Pollution Bulletin*, vol. 46, no. 4, pp. 444–451, 2003.
- [40] Vasilios A. Sakkas, Dimitra A. Lambropoulou, and Triantafyllos A. Albanis, "Photochemical degradation study of irgarol 1051 in natural waters: influence of humic and fulvic substances on the reaction," *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, vol. 147, no. 2, pp. 135–141, 2002.
- [41] A. R. Fernández-Alba, M. D. Hernando, L. Piedra, and Y. Chisti, "Toxicity evaluation of single and mixed antifouling biocides measured with acute toxicity bioassays," *Analytica Chimica Acta*, vol. 456, no. 2, pp. 303–312, 2002.
- [42] M. E. Callow and G. L. Willingham, "Degradation of antifouling biocides," *Biofouling*, vol. 10, no. 1-3, pp. 239-249, 1996.
- [43] J. C. Chesworth, M. E. Donkin, and M. T. Brown, "The interactive effects of the antifouling herbicides Irgarol 1051 and Diuron on the seagrass *Zostera marina* (L.)," *Aquatic Toxicology*, vol. 66, no. 3, pp. 293–305, 2004.
- [44] K. M. Eriksson et al., "Community-Level Analysis of psbA Gene Sequences and Irgarol Tolerance in Marine Periphyton," *Applied and Environmental*

- Microbiology*, vol. 75, no. 4, pp. 897–906, 2009.
- [45] Thomas J. Monaco, Stephen C. Weller, and Floyd M. Ashton, *Weed Science: Principles and Practices*, 4th ed.: John Wiley & Sons, 2002.
- [46] L.W Jr Hall, J. M. Giddings, K. R. Solomon, and R. Balcomb, "An ecological risk assessment for the use of Irgarol 1051 as an algaecide for antifoulant paints," *Crit Rev Toxicol.*, vol. 29, no. 4, pp. 367-437, 1999.
- [47] K. V. Thomas and S. Brooks, "The environmental fate and effects of antifouling paint biocides," *Biofouling*, vol. 26, no. 1, pp. 73–88, 2010.
- [48] Janssen Preservation & Material Protection. (2015) Ecomea Marine Antifouling Agent The First Global Solution for Copper-free Antifouling Paints. [Online]. <http://www.janssenpmp.com/content/antifouling>
- [49] Gary M. Rand, "Fate and effects of the insecticide–miticide chlorfenapyr in outdoor aquatic microcosms," *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 58, no. 1, pp. 50–60, 2004.
- [50] EPA (U.S Environmental Protection Agency). (2012, May) Preliminary Risk Assessment for Zinc Pyrithione. [Online]. http://www.epa.gov/oppad001/reregistration/zinc_pyrithione/
- [51] Michael Ash and Irene Ash, *Handbook of Preservatives*, 1st ed.: Synapse Info Resources, 2004.
- [52] Nancy L. Reeder et al., "The antifungal mechanism of action of zinc pyrithione," *British Journal of Dermatology*, vol. 165, no. s2, pp. 9-12, 2011.
- [53] Health and Safety Executive, "Evaluation on zinc pyrithione: use as a booster biocide in anti-fouling products," *Advisory Committee on Pesticides evaluation of fully approved or provisionally approved products*, no. No 208, p. 172, May 2003.
- [54] Janssen Preservation & Material Protection. (2015) Zinc PYRION™ Antifouling Product Information. [Online]. <http://www.janssenpmp.com/>
- [55] Thomas Cresswell, Jonathan P. Richards, Gillian A. Glegg, and James W. Readman, "The impact of legislation on the usage and environmental concentrations of Irgarol 1051 in UK coastal waters," *Marine Pollution Bulletin*, vol. 52, no. 10, pp. 1169-1175, 2006.
- [56] Patricia A. Turley, Robert J. Fenn, James C. Ritter, and Maureen E. Callow, "Pyrrithiones as antifoulants: Environmental fate and loss of toxicity,"

- Biofouling*, vol. 21, no. 1, pp. 31-40, 2005.
- [57] I. Konstantinou, "Antifouling Paint Biocides," in *The Handbook of Environmental Chemistry*, I. Konstantinou, Ed.: Springer Science & Business Media, 2006, ch. 5, p. 266.
- [58] Daisuke Yasokawa et al., "DNA microarray analysis suggests that zinc pyrithione causes iron starvation to the yeast *Saccharomyces cerevisiae*," *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 109, no. 5, pp. 479-486, 2010.
- [59] I.S.I. AL-Adham, A. J. Dinning, I. M. Eastwood, P. Austin, and P. J. Collier, "Cell membrane effects of some common biocides," *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, vol. 21, pp. 6-10, 1998.
- [60] A. J. Dinning, I.S.I. Al-Adham, I. M. Eastwood, P. Austin, and P. J. Collier, "Pyrithione biocides as inhibitors of bacterial ATP synthesis," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 85, pp. 141-146, 1998.
- [61] E. Ermolayeva and D. Sanders, "Mechanism of Pyrithione-Induced Membrane Depolarization in *Neurospora crassa*," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 61, no. 9, pp. 3385-3390, 1995.
- [62] Juan Bellas, "Comparative toxicity of alternative antifouling biocides on embryos and larvae of marine invertebrates," *Science of the Total Environment*, vol. 367, no. 2-3, pp. 573-585, 2006.
- [63] Pei-Yuan Qian, Ying Xu, and Nobushino Fusetani, "Natural products as antifouling compounds: recent progress and future perspectives," *Biofouling*, vol. 26, no. 2, pp. 223-234, 2010.
- [64] Anthony S. Clare, "Marine natural product antifoulants: Status and potential," *Biofouling*, vol. 9, no. 3, pp. 211-229, 1996.
- [65] C. Holmström and S. Kjelleberg, "The effect of external biological factors on settlement of marine invertebrate and new antifouling technology," *Biofouling*, vol. 8, no. 1, pp. 147-160, 1994.
- [66] Rocky de Nys and Peter D. Steinberg, "Linking marine biology and biotechnology," *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 13, no. 3, pp. 244-248, 2002.
- [67] Martin Wahl, "Marine epibiosis. I. Fouling and antifouling: some basic aspects," *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, vol. 58, pp. 175-189, 1989.
- [68] Claire Hellio et al., "Inhibitory Effects of Mediterranean Sponge Extracts and

- Metabolites on Larval Settlement of the Barnacle *Balanus amphitrite*," *Marine biotechnology (New York, N.Y.)*, vol. 7, no. 4, pp. 297-305, 2005.
- [69] T. V. Raveendran and V. P. Limna Mol, "Natural product antifoulants," *Current science*, vol. 97, no. 4, pp. 508-520, 2009.
- [70] Dan Rittschof, "Natural product antifoulants: One perspective on the challenges related to coatings development," *Biofouling*, vol. 15, no. 1-3, pp. 119-127, 2000.
- [71] Nobuhiro Fusetani, "Biofouling and antifouling," *Natural Product Reports*, vol. 21, no. 1, pp. 94-104, 2004.
- [72] Nobuhiro Fusetani and Anthony S. Clare, *Antifouling Compounds*. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 2006.
- [73] Claire Hellio and Diego Yebra, Eds., *Advances in Marine Antifouling Coatings and Technologies*. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd, 2009.
- [74] Nobuhiro Fusetani, "Antifouling marine natural products," *Natural Product Reports*, vol. 28, no. 2, pp. 400–410, 2011.
- [75] Hans-Uwe Dahms, Tao Jin, and Pei-Yuan Qian, "Adrenoceptor Compounds Prevent the Settlement of Marine Invertebrate Larvae: *Balanus amphitrite* (Cirripedia), *Bugula neritina* (Bryozoa) and *Hydroides elegans* (Polychaeta)," *Biofouling*, vol. 20, no. 6, pp. 313 – 321, 2004.
- [76] Sergey Dobretsov, Hans-Uwe Dahms, and Pei-Yuan Qian, "Inhibition of biofouling by marine microorganisms and their metabolites," *Biofouling*, vol. 22, no. 1, pp. 43 – 54, 2006.
- [77] Thomas Kissel, Sascha Maretschek, Claudia Packhäuserr, Julia Schnieders, and Nina Seidel, "Microencapsulation Techniques for Parenteral Depot Systems and Their Application in the Pharmaceutical Industry," in *Microencapsulation Methods and Industrial Applications*, Simon Benita, Ed. Boca Raton, FL, U.S.A: CRC Press, 2006, ch. 4, pp. 99-122.
- [78] A. A. Kulkarni and P. S. Rao, "Synthesis of polymeric nanomaterials for biomedical applications," in *Nanomaterials in Tissue Engineering: Fabrication and Applications*, A. K. Gaharwar et al., Eds. Philadelphia, U.S.A: Woodhead Publishing Limited, 2013, ch. 2, pp. 27-63.
- [79] Christopher A. Finch and Roland Bodmeier, "Microencapsulation," in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*.: Wiley-VCH, 2011.

- [80] J. Prasad Rao and Kurt E. Geckeler, "Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters," *Progress in Polymer Science*, vol. 36, no. 7, pp. 887–913, 2011.
- [81] Christine Vauthier and Kawthar Bouchemal, "Methods for the Preparation and Manufacture of Polymeric Nanoparticles," *Pharmaceutical Research*, vol. 26, no. 5, pp. 1025-1058, 2009.
- [82] Anil Mahapatro and Dinesh K. Singh, "Biodegradable nanoparticles are excellent vehicle for site directed in-vivo delivery of drugs and vaccines," *Journal of Nanobiotechnology*, vol. 9:55, 2011.
- [83] Catarina Pinto Reis, Ronald J. Neufeld, António J. Ribeiro, and Francisco Veiga, "Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles," *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, vol. 2, no. 1, pp. 8–21, 2006.
- [84] Verónica Lassalle and María Luján Ferreira, "PLA Nano- and Microparticles for Drug Delivery: An Overview of the Methods of Preparation," *Macromolecular Bioscience*, vol. 7, no. 6, pp. 767-783, 2007.
- [85] Janet R. Wendorf, Manmohan Singh, and Derek T. O'Hagan, "Nanoparticles and Microparticles as Vaccine Adjuvants," in *Nanoparticulates as Drug Carriers*, Vladimir P. Torchilin, Ed. London, U.K: Imperial College Press, 2006, ch. 28, pp. 675-696.
- [86] C. A. Finch, "Industrial Microencapsulation: Polymers for Microcapsule Walls," in *Encapsulation and Controlled Release*, D. R. Karsa and R. A. Stephenson, Eds. Cambridge, England: Woodhead Publishing Ltd, 1993, pp. 1-12.
- [87] N. Venkata Naga Jyothi et al., "Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency," *Journal of Microencapsulation*, vol. 27, no. 3, pp. 187–197, 2010.
- [88] S. S. Bansode, S. K. Banarjee, D. D. Gaikwad, S. L. Jadhav, and R. M. Thorat, "Microencapsulation: a review," *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, vol. 1, no. 2, pp. 38-43, 2010.
- [89] Jason Park and Tarek M. Fahmy, "Biodegradable Nanoparticles for Drug Delivery," in *Handbook of nanophysics. Nanomedicine and nanorobotics*, Klaus D. Sattler, Ed. Boca Raton, FL, U.S.A: CRC Press, 2011, ch. 29.
- [90] B. V. N. Nagavarma, Hemant K. S. Yadav, A. Ayaz, L. S. Vasudha, and H. G. Shivakumar, "Different techniques for preparation of polymeric nanoparticles- a

- review," *Asian Journal of Pharmaceutical & Clinical Research*, vol. 5, no. 3, pp. 16-23, 2012.
- [91] Elias Fattal, Hervé Hillaireau, Simona Mura, Julien Nicolas, and Nicolas Tsapis, "Targeted Delivery Using Biodegradable Polymeric Nanoparticles," in *Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery*, Juergen Siepmann, Ronald A. Siegel, and Michael J. Rathbone, Eds. New York, U.S.A: Springer Science & Business Media, 2012, ch. 10, pp. 255-288.
- [92] Ming Li, Olivier Rouaud, and Denis Poncelet, "Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 363, no. 1-2, pp. 26–39, 2008.
- [93] Patrick B. O'Donnell and James W. McGinity, "Preparation of microspheres by the solvent evaporation technique," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 28, no. 1, pp. 25–42, 1997.
- [94] David Quintanar-Guerrero, Eric Allémann, Hatem Fessi, and Eric Doelker, "Preparation Techniques and Mechanisms of Formation of Biodegradable Nanoparticles from Preformed Polymers," *Drug Development and Industrial Pharmacy*, vol. 24, no. 12, pp. 1113-1128, 1998.
- [95] Sergio Freitas, Hans P. Merkle, and Bruno Gander, "Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology," *Journal of Controlled Release*, vol. 102, no. 2, pp. 313–332, 2005.
- [96] Yoon Yeo and Kinam Park, "Control of Encapsulation Efficiency and Initial Burst in Polymeric Microparticle Systems," *Archives of Pharmacal Research*, vol. 27, no. 1, pp. 1-12, 2004.
- [97] M. F. Zambaux et al., "Influence of experimental parameters on the characteristics of poly(lactic acid) nanoparticles prepared by a double emulsion method," *Journal of Controlled Release*, vol. 50, no. 1-3, pp. 31-40, 1998.
- [98] Majid Jamshidian, Elmira Arab Tehrani, Muhammad Imran, Muriel Jacquot, and Stephane Desobry, "Poly-Lactic Acid: Production, Applications, Nanocomposites, and Release Studies," *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 9, no. 5, pp. 552–571, 2010.
- [99] Catia Bastioli, Ed., *Handbook of Biodegradable Polymers*, 2nd ed. U.K: Smithers Rapra Technology, 2014.
- [100] Isabelle Vroman and Lan Tighzert, "Biodegradable Polymers," *Materials*, vol.

2, no. 2, pp. 307-344, 2009.

- [101] Jae Hyung Park, Mingli Ye, and Kinam Park, "Biodegradable Polymers for Microencapsulation of Drugs," *Molecules*, vol. 10, no. 1, pp. 146-161, 2005.
- [102] Anne Ammala, "Biodegradable polymers as encapsulation materials for cosmetics and personal care markets," *International Journal of Cosmetic Science*, vol. 35, no. 2, pp. 113–124, 2013.
- [103] Ray Smith, Ed., *Biodegradable polymers for industrial applications*. Boca Raton FL, U.S.A: CRC Press, 2005.
- [104] Rafael Auras et al., Eds., *Poly(Lactic Acid): Synthesis, Structures, Properties, Processing, and Applications*. Hoboken, NJ, U.S.A: John Wiley & Sons, Inc., 2010.
- [105] Rahul M. Rasal, Amol V. Janorkar, and Douglas E. Hirt, "Poly(lactic acid) modifications," *Progress in Polymer Science*, vol. 35, no. 3, pp. 338–356, 2010.
- [106] Anders Södergård and Mikael Stolt, "Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition," *Progress in Polymer Science*, vol. 27, no. 6, pp. 1123–1163, 2002.
- [107] John R. Dorgan, Hans J. Lehermeier, Liviu-Iulian Palade, and John Cicero, "Polylactides: properties and prospects of an environmentally benign plastic from renewable resources," *Macromolecular Symposia*, vol. 175, no. 1, pp. 55–66, 2001.
- [108] Giovanni K. Zorzi, Begoña Seijo, and Alejandro Sanchez, "Endogenous Polymers as Biomaterials for Nanoparticulate Gene Therapy," in *Handbook of Polymers for Pharmaceutical Technologies, Structure and Chemistry*, Vijay Kumar Thakur and Manju Kumari Thakur, Eds. Hoboken, NJ, U.S.A: John Wiley & Sons, Inc., 2015, ch. 8, pp. 237-265.
- [109] Daniel S. Kohane, "Microparticles and Nanoparticles for Drug Delivery," *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 96, no. 2, pp. 203-209, 2007.
- [110] Anja Judefeind and Melgardt M. de Villiers, "Drug Loading into and In Vitro Release from Nanosized Drug Delivery Systems," in *Nanotechnology in Drug Delivery*, Melgardt M. de Villiers, Pornanong Aramwit, and Glen S. Kwon, Eds. New York, U.S.A: Springer Science & Business Media, 2009, ch. 5, pp. 129-162.
- [111] Kevin Mattison, Ana Morfesis, and Michael Kaszuba, "A Primer on Particle Sizing Using Dynamic Light Scattering," *American Biotechnology Laboratory*,

- vol. 21, no. 13, pp. 20-22, 2003.
- [112] W. I. Goldberg, "Dynamic light scattering," *American Journal of Physics*, vol. 67, no. 12, pp. 1152-1160, 1999.
- [113] Robert J. Hunter, *Zeta Potential in Colloid Science: Principles and Applications*. London, U.K.: Academic Press, 1981.
- [114] Malvern Instruments Ltd., *Zetasizer Nano User Manual*. Worcestershire, U.K., 2013.
- [115] M. Edge, N. S. Allen, D. Turner, J. Robinson, and Ken Seal, "The enhanced performance of biocidal additives in paints and coatings," *Progress in Organic Coatings*, vol. 43, no. 1-3, pp. 10–17, 2001.
- [116] Markus Andersson Trojer et al., "Use of microcapsules as controlled release devices for coatings," *Advances in Colloid and Interface Science*, Available online 16 June 2014, In Press.
- [117] David Julian McClements, *Nanoparticle- and Microparticle-based Delivery Systems: Encapsulation, Protection and Release of Active Compounds.*: CRC Press, 2014.
- [118] M. Zhang, E. Cabane, and J. Claverie, "Transparent Antifouling Coatings Via Nanoencapsulation of a Biocide," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 105, no. 6, pp. 3826–3833, 2007.
- [119] G. Sørensen et al., "Controlled release of biocide from silica microparticles in wood paint," *Progress in Organic Coatings*, vol. 68, no. 4, pp. 299–306, 2010.
- [120] Lars Nordstierna, Alireza Movahedi, and Magnus Nydén, "New Route for Microcapsule Synthesis," *Journal of Dispersion Science and Technology*, vol. 32, no. 3, pp. 310–311, 2011.
- [121] Ronald R. Price, Marcia Patchan, Anthony Clare, Dan Rittschof, and Joe Bonaventura, "Performance enhancement of natural antifouling compounds and their analogs through microencapsulation and controlled release," *Biofouling*, vol. 6, no. 2, pp. 207-216, 1992.
- [122] Thomas Geiger, Pascal Delavy, Roland Hany, Jurg Schleuniger, and Manfred Zinn, "Encapsulated Zosteric Acid Embedded in Poly[3-hydroxyalkanoate] Coatings - Protection against Biofouling," *Polymer Bulletin*, vol. 52, no. 1, pp. 65-72, 2004.
- [123] Jakob Broberg Kristensen et al., "Biomimetic silica encapsulation of enzymes

- for replacement of biocides in antifouling coatings," *Green Chemistry*, vol. 12, no. 3, pp. 387-394, 2010.
- [124] Tamás Szabó, Lívia Molnár-Nagy, János Bognár, Lajos Nyikos, and Judit Telegdi, "Self-healing microcapsules and slow release microspheres in paints," *Progress in Organic Coatings*, vol. 72, no. 1-2, pp. 52–57, 2011.
- [125] Tamás Szabó, Judith Mihály, István Sajó, Judit Telegdi, and Lajos Nyikos, "One-pot synthesis of gelatin-based, slow-release polymer microparticles containing silver nanoparticles and their application in anti-fouling paint," *Progress in Organic Coatings*, vol. 77, no. 7, pp. 1226–1232, 2014.
- [126] Qilin Li et al., "Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications," *Water Research*, vol. 42, no. 18, pp. 4591–4602, 2008.
- [127] Curt Thies, "Formation of degradable drug-loaded microparticles by in-liquid drying processes," in *Microcapsules and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy*.: CRC Press, 1992, ch. 3, pp. 47-71.
- [128] S. M. Ionomopoulou, A. K. Andreopoulou, A. Soto, J. K. Kallitsis, and G. A. Voyiatzis, "Incorporation of low molecular weight biocides into polystyrene–divinyl benzene beads with controlled release characteristics," *Journal of Controlled Release*, vol. 102, no. 1, pp. 223–233, 2005.
- [129] José M. Asua, "Miniemulsion polymerization," *Progress in Polymer Science*, vol. 27, no. 7, pp. 1283–1346, 2002.
- [130] Fabienne Faÿ, Isabelle Linossier, Gaëlle Legendre, and Karine Vallée-Réhel, "Micro-Encapsulation and Antifouling Coatings: Development of Poly(lactic acid) Microspheres Containing Bioactive Molecules," *Macromolecular Symposia*, vol. 272, no. 1, pp. 45-51, 2008.
- [131] Nga Ying Alberta Mok, "Microencapsulation for controlling biocide release from protective coatings," Department of Chemical and Biological Engineering, Chalmers University of Technology, Göteborg, Sweden, Master Thesis 2010.
- [132] Lars Nordstierna, Atta Alla Abdalla, Mariam Masuda, Gunnar Skarnemark, and Magnus Nydén, "Molecular release from painted surfaces: Free and encapsulated biocides," *Progress in Organic Coatings*, vol. 69, no. 1, pp. 45–48, 2010.
- [133] Lars Nordstierna, Atta Alla Abdalla, Matias Nordin, and Magnus Nydén, "Comparison of release behaviour from microcapsules and microspheres,"

- Progress in Organic Coatings*, vol. 69, no. 1, pp. 49–51, 2010.
- [134] Ronald Lee Hart, David Russell Virgallito, and Dale Ellis Work, "Microencapsulation of biocides and antifouling agents," US 7,938,897 B2, May 10, 2011.
- [135] Eva Wallström, Henrik T. Jespersen, and Kjeld Schaumburg, "A new concept for anti-fouling paint for Yachts," *Progress in Organic Coatings*, vol. 72, no. 1-2, pp. 109-114, 2011.
- [136] Jonatan Bergek, Markus Andersson Trojer, Alberta Mok, and Lars Nordstierna, "Controlled release of microencapsulated 2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one from coatings: Effect of microscopic and macroscopic pores," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 458, no. 20, pp. 155-167, 2014.
- [137] Jani Mikael Pelto et al., "Encapsulation of 3-iodo-2-propynyl N-butylcarbamate (IPBC) in polystyrene-polycaprolactone (PS/PCL) blends," *Journal of Microencapsulation*, vol. 31, no. 5, pp. 415-421, 2014.
- [138] Εργαστήριο Τεχνολογίας Πολυμερών, "Προσδιορισμός μοριακού βάρους πολυμερών με μετρήσεις ιζωδομετρίας," in *Επιλογή εργαστηριακών ασκήσεων κατεύθυνσης πολυμερών (Θεωρία - Πείραμα - Κατ' οίκον Εργασία)*. Αθήνα: Εσωτερικές εκδόσεις Ε.Μ.Π., 2014, ch. 9, pp. 49-53.
- [139] Robert J. Young and Peter A. Lovell, *Introduction to Polymers*, 2nd ed. London, U.K: Chapman & Hall, 1991.
- [140] ASTM D 2857-70 (1977), *Standard Method of Test for Dilute Solution Viscosity of Polymers*.
- [141] Fred W. Billmeyer Jr., "Methods for Estimating Intrinsic Viscosity," *Journal of Polymer Science*, vol. 4, no. 1, pp. 83-86, 1949.
- [142] John R. Dorgan et al., "Fundamental solution and single-chain properties of polylactides," *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, vol. 43, no. 21, pp. 3100–3111, 2005.
- [143] Douglas A. Skoog, F. James Holler, and Stanley R. Crouch, *Principles of Instrumental Analysis*, 6th ed.: Thomson Brooks/Cole, 2007.
- [144] Αθηνά Παππά, *Φυσικές Μέθοδοι Ανάλυσης: χρωματογραφικές, θερμικές, ηλεκτρομετρικές, φασματομετρία μάζας*. Αθήνα: Εσωτερικές εκδόσεις Ε.Μ.Π., 2004.

- [145] Joseph D. Menczel and R. Bruce Prime, *Thermal analysis of polymers: fundamentals and applications*. New Jersey, U.S.A: John Wiley & Sons, 2009.
- [146] Chang-Gu Keum et al., "Practical preparation procedures for docetaxel-loaded nanoparticles using polylactic acid-co-glycolic acid," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 6, pp. 2225–2234, 2011.
- [147] Vipin Saxena and M. Delwar Hussain, "Poloxamer 407/TPGS mixed micelles for delivery of gambogic acid to breast and multidrug-resistant cancer," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 7, pp. 713–721, 2012.
- [148] L. Mu and S.S. Feng, "Vitamin E TPGS used as emulsifier in the solvent evaporation extraction technique for fabrication of polymeric nanospheres for controlled release of paclitaxel (Taxol)," *Journal of Controlled Release*, vol. 80, no. 1-3, pp. 129–144, 2002.
- [149] K. L. Mittal and Dinesh O. Shah, Eds., *Adsorption and Aggregation of Surfactants in Solution*, 1st ed. New York, U.S.A: Marcel Dekker, Inc., 2002.
- [150] Vivien Gibbs, David Cole, and Antonio Sassano, *Ultrasound Physics and Technology: How, Why and When*, 1st ed.: Elsevier Health Sciences, 2009.
- [151] Thomas Hielscher, *Ultrasonic Production of Nano-Size Dispersions and Emulsions*. Paris, France: TIMA Editions, 2005.
- [152] Vânia Emerich Bucco de Campos, Cesar Augusto Antunes Teixeira, Venicio Feo da Veiga, Eduardo Ricci Júnior, and Carla Holandino, "l-Tyrosine-loaded nanoparticles increase the antitumoral activity of direct electric current in a metastatic melanoma cell model," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 5, pp. 961–971, 2010.
- [153] Dongmei Cun, Camilla Foged, Mingshi Yang, Sven Frøkjær, and Hanne Mørck Nielsen, "Preparation and characterization of poly(dl-lactide-co-glycolide) nanoparticles for siRNA delivery," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 390, no. 1, pp. 70–75, 2010.
- [154] Dongmei Cun et al., "High loading efficiency and sustained release of siRNA encapsulated in PLGA nanoparticles: Quality by design optimization and characterization," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 77, no. 1, pp. 26–35, 2011.
- [155] Ana Ferreira Ribeiro, Ricardo Leite de Oliveira Rezende, Lúcio Mendes Cabral, and Valéria Pereira de Sousa, "Poly ϵ -caprolactone nanoparticles loaded with *Uncaria tomentosa* extract: preparation, characterization, and optimization using the Box–Behnken design," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 8, pp.

431–442, 2013.

- [156] Xudong Shi et al., "Periadventitial Application of Rapamycin-Loaded Nanoparticles Produces Sustained Inhibition of Vascular Restenosis," *PLoS ONE*, vol. 9, no. 2, pp. 1-12, 2014.
- [157] Sampath Malathi, Perumal Nandhakumar, Velayudham Pandiyan, Thomas J. Webster, and Sengottuvelan Balasubramanian, "Novel PLGA-based nanoparticles for the oral delivery of insulin," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 10, pp. 2207–2218, 2015.
- [158] Yu-Chao Wang, Yi-Ting Wu, Hsin-Ying Huang, and Chung-Shi Yang, "Surfactant-free Formulation of Poly(Lactic/Glycolic) Acid Nanoparticles Encapsulating Functional Polypeptide: A Technical Note," *AAPS PharmSciTech*, vol. 10, no. 4, pp. 1263-1267, 2009.
- [159] Bindu Nair, "Final report on the safety assessment of polyvinyl alcohol," *International Journal of Toxicology*, vol. 17, pp. 67-92, 1998.
- [160] C. C. DeMerlis and D. R. Schoneker, "Review of the oral toxicity of polyvinyl alcohol (PVA)," *Food and Chemical Toxicology*, vol. 41, no. 3, pp. 319–326, 2003.
- [161] M. Roussaki et al., "Encapsulation of the natural antioxidant aureusidin in biodegradable PLA nanoparticles," *Polymer Degradation and Stability*, vol. 108, pp. 182–187, 2014.
- [162] Kay Ohlendieck, "Centrifugation," in *Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*, 7th ed., Keith Wilson and John Walker, Eds. Cambridge, U.K: Cambridge University Press, 2010, ch. 3, pp. 73-99.
- [163] Rebecca L. McCall and Rachael W. Sirianni, "PLGA Nanoparticles Formed by Single- or Double-emulsion with Vitamin E-TPGS," *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, vol. 82, no. 51015, 2013.
- [164] Wassim Abdelwahed, Ghania Degobert, Serge Stainmesse, and Hatem Fessi, "Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 58, no. 15, pp. 1688–1713, 2006.
- [165] Fanny De Jaeghere et al., "Formulation and Lyoprotection of Poly(Lactic Acid-Co-Ethylene Oxide) Nanoparticles: Influence on Physical Stability and In Vitro Cell Uptake," *Pharmaceutical Research*, vol. 16, no. 6, pp. 859–866, 1999.
- [166] Wassim Abdelwahed, Ghania Degobert, and Hatem Fessi, "Freeze-drying of

- nanocapsules: Impact of annealing on the drying process," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 324, no. 1, pp. 74–82, 2006.
- [167] M. Sameti et al., "Stabilisation by freeze-drying of cationically modified silica nanoparticles for gene delivery," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 266, no. 1-2, pp. 51–60, 2003.
- [168] J. Panyam, D. Williams, A. Dash, D. Leslie-Pelecky, and V. Labhasetwar, "Solid-State Solubility Influences Encapsulation and Release of Hydrophobic Drugs from PLGA/PLA Nanoparticles," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 93, no. 7, pp. 1804-1814, 2004.
- [169] J. Shaikh, D.D. Ankola, V. Beniwal, D. Singh, and M.N.V. Ravi Kumar, "Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer," *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 37, no. 3-4, pp. 223–230, 2009.
- [170] Amit K. Jain, Nitin K. Swarnakar, Chandraiah Godugu, Raman P. Singh, and Sanyog Jain, "The effect of the oral administration of polymeric nanoparticles on the efficacy and toxicity of tamoxifen," *Biomaterials*, vol. 32, no. 2, pp. 503-515, 2011.
- [171] Satinder K. Brar and M. Verma, "Measurement of nanoparticles by light-scattering techniques," *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 30, no. 1, pp. 4-17, 2011.
- [172] Renliang Xu, "Electrophoretic Light Scattering," in *Particle Characterization: Light Scattering Methods*, Brian Scarlett, Ed.: Kluwer Academic Publishers, 2002, vol. 13, ch. 6, pp. 289-343.
- [173] A. V. Delgado, F. Gonzalez-Caballero, R. J. Hunter, L. K. Koopal, and J. Lyklema, "Measurement and Interpretation of Electrokinetic Phenomena," *Pure Appl. Chem.*, vol. 77, no. 10, pp. 1753–1805, 2005.
- [174] B. R. Ware, "Electrophoretic light scattering," *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 4, pp. 1-44, 1974.
- [175] Μαρία Όξενκιουν - Πετροπούλου, *Φασματομετρικές μέθοδοι*, 3rd ed. Αθήνα: Εκδόσεις Συμμετρία, 2012.
- [176] Tony Owen, *Fundamentals of Modern UV-visible Spectroscopy: Primer.*: Agilent Technologies, 2000.
- [177] James W. Robinson, Eileen Skelly Frame, and George M. Frame II,

- Undergraduate Instrumental Analysis*, 7th ed. Boca Raton, FL, U.S.A: CRC Press, 2014.
- [178] Μ. Κουή and Θ. Λυμπεροπούλου, "Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης με φασματόμετρο ενεργειακής διασποράς ακτίνων-Χ," in *Φυσικές Μέθοδοι Ανάλυσης - Εργαστηριακές Ασκήσεις*, Μ. Όξενκιουν-Πετροπούλου and Α. Παππά, Eds. Αθήνα, Ελλάδα: Εσωτερικές Εκδόσεις Ε.Μ.Π, 2009, ch. 16, pp. 189-208.
- [179] David E. Henton, Patrick Gruber, Jim Lunt, and Jed Randall, "Polylactic Acid Technology," in *Natural Fibers, Biopolymers, and Biocomposites*, Amar K. Mohanty, Manjusri Misra, and Lawrence T. Drzal, Eds. Boca Raton, FL, U.S.A: CRC Press, 2005, ch. 16.
- [180] Ichirō Sakurada, *Polyvinyl Alcohol Fibers*.: CRC Press, 1985.
- [181] David R. Lide, *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, Internet Version ed. Boca Raton, FL., U.S.A.: CRC Press, 2005.
- [182] Yichao Wang, Puwang Li, and Lingxue Kong, "Chitosan-Modified PLGA Nanoparticles with Versatile Surface for Improved Drug Delivery," *AAPS PharmSciTech*, vol. 14, no. 2, pp. 585–592, 2013.
- [183] Ruxandra Gref, Yoshiharu Minamitake, Maria Teresa Peracchia, and Robert Langer, "Poly(Ethylene Glycol)-Coated Biodegradable Nanospheres for Intravenous Drug Administration," in *Microparticulate Systems for the Delivery of Proteins and Vaccines (Drugs and the Pharmaceutical Sciences)*, Smadar Cohen and Howard Bernstein, Eds.: CRC Press, 1996, ch. 9, pp. 279-306.
- [184] Hideo Okamura, Naomasa Kobayashi, Masamitsu Miyanaga, and Yusaku Nogami, "Toxicity reduction of metal pyrithiones by near ultraviolet irradiation," *Environmental Toxicology*, vol. 21, no. 4, pp. 305–309, 2006.
- [185] Urszula Domańska and Mohammed Halayqa, "Promazine Hydrochloride/PLGA Biodegradable Nanoparticles Formulation and Release," *Journal of Physical Chemistry & Biophysics*, vol. 4, no. 2, 2014.
- [186] Paul Gabbott, *Principles and Applications of Thermal Analysis*.: Blackwell Publishing Ltd, 2008.
- [187] Lih-Min Her and Steven L. Nail, "Measurement of Glass Transition Temperatures of Freeze-Concentrated Solutes by Differential Scanning Calorimetry," *Pharmaceutical Research*, vol. 11, no. 1, pp. 54-59, 1994.
- [188] Daniel Łowicki, Sebastian Baś, and Jacek Młynarski, "Chiral zinc catalysts for

- asymmetric synthesis," *Tetrahedron*, vol. 71, no. 9, pp. 1339–1394, 2015.
- [189] Stephan Enthaler and Xiao-Feng Wu, *Zinc Catalysis: Applications in Organic Synthesis*.: John Wiley & Sons, 2015.
- [190] Christin P. Hollis and Tonglei Li, "Nanocrystals Production, Characterization, and Application for Cancer Therapy," in *Nanoparticulate Drug Delivery Systems: Strategies, Technologies, and Applications*, Yoon Yeo, Ed.: John Wiley & Sons, 2013, ch. 8.
- [191] Subodh Kumar, "Spectroscopy of Organic Compounds," Dept. of Chemistry, Guru Nanak Dev University, Amritsar, 2006.
- [192] Günter Gauglitz and Tuan Vo-Dinh, *Handbook of Spectroscopy*. Germany, Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006.
- [193] S. M. Olsen, L. T. Pedersen, M. H. Hermann, S. Kiil, and K. Dam-Johansen, "Enzyme-based solutions for marine antifouling coatings," in *Advances in marine antifouling coatings and technologies*, Claire Hellio and Diego Yebra, Eds. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd, 2009, ch. 23, pp. 623-643.
- [194] Jungbae Kim, Ray Delio, and Jonathan S. Dordick, "Protease-Containing Silicates as Active Antifouling Materials," *Biotechnol. Prog.*, vol. 18, no. 3, pp. 551-555, 2002.
- [195] D. Rittschof, "Trends in marine biofouling research," in *Advances in marine antifouling coatings and technologies*, Claire Hellio and Diego Yebra, Eds. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd, 2009, ch. 28, pp. 725-748.
- [196] Xiaowei Pei and Qian Ye, "Development of Marine Antifouling Coatings," in *Antifouling Surfaces and Materials: From Land to Marine Environment*, Feng Zhou, Ed.: Springer, 2015, ch. 6, pp. 135-149.
- [197] Andrew J. Scardino and Rocky de Nys, "Mini review: Biomimetic models and bioinspired surfaces for fouling control," *Biofouling*, vol. 27, no. 1, pp. 73–86, 2011.