

ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ



Μελέτη Ιδιοτήτων Υδάτωσης
Μειγμάτων Ζελατίνης & Υαλουρονικού
Οξέος με Τεχνικές Διαφορικής
Θερμιδομετρίας Σάρωσης &
Ρόφησης-Διάχυσης Νερού

της

Ευδοκίας Στεφανοπούλου

Διπλωματική εργασία,
με επιβλέποντα τον Αν. Καθηγητή Απόστολο Κυρίτη,
που υποβλήθηκε

στο

ΤΜΗΜΑ ΦΥΣΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

στις

10 Οκτωβρίου 2018



NATIONAL TECHNICAL UNIVERSITY OF ATHENS
SCHOOL OF APPLIED MATHEMATICS AND PHYSICS
DEPARTMENT OF PHYSICS

Abstract

A study of the properties of Gelatin & Hyalouronic Acid mixtures using Dielectric Scanning Calorimetry and Water Sorption and Diffusion Techniques

by **Evdokia Stefanopoulou**

This thesis discusses how water (H_2O) interacts and moves through long polymer chains of biocompatible materials. Specifically, the examined materials are Hyaluronic Acid (HA), which is a hydrophilic polysaccharide with many bio-applications, Gelatin, which is a protein with great mechanical strength and thermal stability, as well as the combination of the two, which includes all their desired properties. The aim is to determine which mixture ratio (30/70 , 50/50 or 70/30 HA/Gel) is the best for future tissue engineering trials.

One way of characterising the aforementioned materials physicochemically is the Equilibrium Sorption-Desorption Isotherms (ESI) experiment, where each sample is subjected to relative humidity changes at a specific rate. Through this process, one can calculate the diffusion coefficient of the samples.

The second material characterisation technique is the Differential Scanning Calorimetry (DSC), where the sample is subjected to temperature changes with predefined cooling and heating procedures. Thus, one can pinpoint the special temperatures at which a phase transition is occurring in the material.

Περίληψη

Σε αυτή την εργασία μελετάται ο τρόπος με τον οποίο το νερό αλληλεπιδρά και κινείται ανάμεσα σε μεγάλες πολυμερικές αλυσίδες βιοσυμβατών υλικών. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν: το Υαλουρονικό Οξύ (HA), που είναι ένας υδρόφιλος πολυσακχαρίτης με πολλές βιοεφαρμογές, η Ζελατίνη (Gel), που είναι μια πρωτεΐνη με μεγάλη μηχανική αντοχή και θερμική σταθερότητα, καθώς και μείγματα των δύο, έτσι ώστε το σύνθετο υλικό που θα δημιουργηθεί να συνδυάζει όλες τις καλές τους ιδιότητες. Σε αυτή τη μελέτη εξετάστηκαν τα μείγματα με σύσταση 30/70 , 50/50 και 70/30 HA/Gel. Ο στόχος είναι να προσδιοριστεί ποια υδρογέλη θα ήταν η καταλληλότερη για μελλοντικές εφαρμογές στην ιστοτεχνολογία.

Ένας τρόπος φυσικοχημικού χαρακτηρισμού των δειγμάτων είναι οι Ισόθερμες Ροφήσεις κι Εκροφήσεις Ύδατος (ESI), όπου αλλάζει η σχετική υγρασία στο χώρο όπου εκτίθεται το δείγμα. Από αυτή τη διαδικασία, παίρνουμε πληροφορίες για την υδροφιλικότητα κάθε δείγματος και για το συντελεστή διάχυσής του.

Η δεύτερη μέθοδος χαρακτηρισμού είναι η Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC), όπου το κάθε δείγμα υπόκειται αλλαγές στη θερμοκρασία του βάσει προκαθορισμένων πρωτοκόλλων ψύξης και θέρμανσης. Έτσι, είναι δυνατός ο προσδιορισμός των χαρακτηριστικών θερμοκρασιών στις οποίες πραγματοποιούνται αλλαγές φάσης στο υλικό, καθώς κι άλλων θερμοδυναμικών παραμέτρων.

Ευχαριστίες

Η συγκεκριμένη εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Διηλεκτρικών Υλικών του Τομέα Φυσικής της Σχολής Εφαρμοσμένων Μαθηματικών & Φυσικών Επιστημών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, κατά το ακαδημαϊκό έτος 2017-2018 και υπό την επίβλεψη του Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Απόστολου Κυρίτη.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω πρώτα τον κο. Κυρίτη για την ανάθεση του θέματος και τη συνεχή καθοδήγηση σε όλα τα στάδια εκπόνησης της παρούσας εργασίας.

Ευχαριστώ τη μεταδιδακτορική ερευνήτρια κι επιβλέπουσά μου κα. Κρυπτού για την ανεκτίμητη βοήθειά της, το χρόνο που διέθεσε προκειμένου να εξοικειωθώ με τον πειραματικό εξοπλισμό και την ανάλυση αποτελεσμάτων και για την άψογη συνεργασία.

Από την ομάδα των διηλεκτρικών υλικών οφείλω να ευχαριστήσω και το μεταδιδακτορικό ερευνητή κο. Κλώνο, η συμβολή του οποίου ήταν καθοριστική στη διεκπεραίωση των πειραμάτων της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης.

Επιπλέον, ευχαριστώ την οικογένειά μου για την ηθική και οικονομική στήριξη που παρείχε καθόλη τη διάρκεια της πενταετούς φοίτησής μου στο ΕΜΠ.

Τέλος, από τις ευχαριστίες δεν μπορούν να λείπουν οι φίλοι μου, οι οποίοι συνεχώς ενθάρρυναν τις προσπάθειές μου και βοηθούσαν να ξεπεράσω τα διάφορα εμπόδια τόσο σε ακαδημαϊκό όσο και προσωπικό επίπεδο.

Περιεχόμενα

Abstract	i
Περίληψη	ii
Ευχαριστίες	iii
Κατάλογος Σχημάτων	vi
Κατάλογος Πινάκων	xii
Συντομογραφίες	xiii
Σύμβολα	xiv
1 Βιοσυμβατά Υλικά & Ιστοτεχνολογία	1
1.1 Βιοσυμβατά Υλικά	1
1.2 Μια εφαρμογή: Η Ιστοτεχνολογία	2
1.3 Στόχος της παρούσας εργασίας	3
2 Τα υλικά που μελετήθηκαν	4
2.1 Υδρογέλες με Σταυροδεσμούς	4
2.2 Υαλουρονικό Οξύ	6
2.3 Ζελατίνη	7
2.4 Μείγματα HA/GEL	9
3 Ο ρόλος του νερού: Ρόφηση & Διάχυση στις Υδρογέλες	10
3.1 Οι καταστάσεις του νερού	10
3.2 Ρόφηση & Εκρόφηση Νερού	11
3.2.1 Ταξινόμηση κατά Brunauer	13
3.2.2 Θεωρία Langmuir	14
3.2.3 Εξίσωση BET	15
3.2.4 Εξίσωση GAB	15
3.3 Το φαινόμενο της Διάχυσης	17
3.3.1 Ο Συντελεστής Διάχυσης	17
3.3.2 Οι Νόμοι του Fick	18
3.3.3 Γραμμική Προσαρμογή Καμπύλης προς Υπολογισμό του D	19
3.3.4 Προσαρμογή Ολόκληρης της Καμπύλης προς Υπολογισμό του D	19

4 Η Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης & Η Θερμοδυναμική των Μεταβάσεων Φάσης	21
4.1 Μεταβάσεις Φάσης Πρώτης Τάξης	22
4.2 Μετάβαση Φάσης Δεύτερης Τάξης	23
4.3 Βαθμός Κρυσταλλικότητας	24
4.4 Υπολογισμοί Μεταβολής Ενθαλπίας ΔH & Ειδικής Θερμοχωρητικότητας ΔC_p	25
5 Μετρήσεις Ρόφησης-Εκρόφησης Νερού	27
5.1 Γενικά	27
5.2 Ο εργαστηριακός εξοπλισμός	28
5.3 Προετοιμασία Δειγμάτων	29
5.4 Αποτελέσματα Μετρήσεων	31
5.4.1 Τα πρώτα αποτελέσματα του ESI	31
5.4.2 Ισόθερμες Καμπύλες Υδάτωσης	34
5.4.3 Συντελεστές Διάχυσης	42
5.5 Σύνδεση των δύο μελετών	45
6 Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης	48
6.1 Γενικά	48
6.2 Ο εργαστηριακός εξοπλισμός	49
6.3 Προετοιμασία Δειγμάτων	51
6.4 Αποτελέσματα Μετρήσεων	53
6.4.1 Τα πρώτα αποτελέσματα ανά δοκίμιο	53
6.4.2 Η Υαλώδης Μετάβαση	68
6.4.3 Η Μετάβαση Γέλης-Διαλύματος	71
6.4.4 Φαινόμενα Τήξης & Κρυστάλλωσης	73
6.5 Πειράματα Εξάτμισης	74
7 Βασικά Συμπεράσματα & Επίλογος	81
7.1 Βασικά Συμπεράσματα	81
7.2 Επίλογος	84
A' Επιπλέον Αποτελέσματα από το Πείραμα ESI	85
B' Επιπλέον Αποτελέσματα από το Πείραμα DSC	92
Βιβλιογραφία	98

Κατάλογος Σχημάτων

1.1	Ο κύκλος των κυττάρων από τον άνθρωπο στο εργαστήριο.[1]	2
2.1	Διαδικασία Σταυροδεσίματος παρουσία HRP Peroxidase και H_2O_2 . [2]	5
2.2	Συντακτικός Τύπος Τυραμίνης.[3]	6
2.3	Συντακτικός Τύπος Υαλουρονικού Οξέος.[4]	6
2.4	Συντακτικός Τύπος Ζελατίνης.[5]	7
2.5	Σχηματική Αναπαράσταση της Μετάβασης GEL-SOL.[6]	8
2.6	Εικόνες Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Σάρωσης (Scanning Electron Microscopy) για τις 5 Υδρογέλες: (d) GEL 100%, (e) HA/GEL 30/70, (f) 50/50, (g) 70/30, (h) HA 100%. [7]	9
3.1	Ταξινόμηση κατά Brunauer.[8]	13
4.1	Διάγραμμα Υπολογισμού Ενθαλπίας Τήξης & Κρυστάλλωσης στη DSC.	25
4.2	Διάγραμμα Υπολογισμού Θερμοκρασίας και Ειδικής Θερμοχωρητικότητας στην Υαλώδη Μετάβαση στη DSC.	26
5.1	Δείγμα Υαλουρονικού Οξέος μες στο ζυγό της πειραματικής διάταξης.	28
5.2	Αποθήκευση Υδρογελών	29
5.3	Δοκίμιο HA. Διάγραμμα μάζας-χρόνου για τους κύκλους ρόφησης-εκρόφησης στις διάφορες RH του πρωτοκόλλου μετρήσεων.	31
5.4	Διάγραμμα μάζας συναρτήσει χρόνου στους κύκλους ρόφησης-εκρόφησης. Δοκίμιο Ζελατίνης.	32
5.5	Διάγραμμα μάζας συναρτήσει χρόνου στους κύκλους ρόφησης-εκρόφησης. Δοκίμιο HA.	32
5.6	Διάγραμμα μάζας συναρτήσει χρόνου στους κύκλους ρόφησης-εκρόφησης. Δοκίμιο 30/70 HA/GEL.	32
5.7	Διάγραμμα μάζας συναρτήσει χρόνου στους κύκλους ρόφησης-εκρόφησης. Δοκίμιο 70/30 HA/GEL.	32
5.8	Διάγραμμα μάζας συναρτήσει χρόνου στους κύκλους ρόφησης-εκρόφησης. Δοκίμιο 50/50 HA/GEL.	32
5.9	Διάγραμμα μάζας συναρτήσει χρόνου στους κύκλους ρόφησης-εκρόφησης. Δοκίμιο Υαλουρονικού Οξέος, πεισμένο.	33
5.10	Διάγραμμα μάζας συναρτήσει χρόνου στους κύκλους ρόφησης-εκρόφησης. Δοκίμιο Υαλουρονικού οξέος, ασυμπέστο.	33
5.11	Καμπύλες Ισόθερμης Υδάτωσης για τα δοκίμια: HA 100% (μπλε), Ζελατίνη 100% (κόκκινο), 30/70 HA/GEL (κίτρινο), 50/50 HA/GEL (πράσινο), 70/30 HA/GEL (γαλάζιο).	34
5.12	GAB fitting - Ζελατίνη.	36

5.13	GAB fitting - HA. Ασυμπίεστο δοκίμιο.	36
5.14	GAB fitting - 30/70 HA/GEL.	36
5.15	GAB fitting - 50/50 HA/GEL.	36
5.16	GAB fitting - 70/30 HA/GEL.	36
5.17	Προσθετικός Κανόνας. Μείγμα 30/70 HA/GEL. HA 100% (μαύρη διακεκομμένη), GEL 100% (μπλε διακεκομμένη), πειραματικά σημεία μείγματος 30/70 (κόκκινα), θεωρητική καμπύλη μείγματος 30/70 (κόκκινη).	37
5.18	Προσθετικός Κανόνας. Μείγμα 50/50 HA/GEL. HA 100% (μαύρη διακεκομμένη), GEL 100% (μπλε διακεκομμένη), πειραματικά σημεία μείγματος 50/50 (κόκκινα), θεωρητική καμπύλη μείγματος 50/50 (κόκκινη).	38
5.19	Προσθετικός Κανόνας. Μείγμα 70/30 HA/GEL. HA 100% (μαύρη διακεκομμένη), GEL 100% (μπλε διακεκομμένη), πειραματικά σημεία μείγματος 70/30 (κόκκινα), θεωρητική καμπύλη μείγματος 70/30 (κόκκινη).	38
5.20	Ρόφηση-Εκρόφηση στη Ζελατίνη.	40
5.21	Ρόφηση-Εκρόφηση στο HA.	40
5.22	Ρόφηση-Εκρόφηση στην υδρογέλη 30/70 HA/GEL.	40
5.23	Ρόφηση-Εκρόφηση στην υδρογέλη 50/50 HA/GEL.	40
5.24	Ρόφηση-Εκρόφηση στην υδρογέλη 70/30 HA/GEL.	40
5.25	Δοκίμιο HA/GEL 70/30. 1 ^{ος} κύκλος ρόφησης (μαύρα τετράγωνα), 2 ^{ος} κύκλος εκρόφησης (κόκκινοι κύκλοι), 3 ^{ος} κύκλος ρόφησης (λευκά τρίγωνα).	41
5.26	Fitting σε όλη την καμπύλη για εύρεση του D της Ζελατίνης. $RH = 20\%$	42
5.27	Fitting σε όλη την καμπύλη για εύρεση του D του ασυμπίεστου HA. $RH = 30\%$	42
5.28	Fitting σε όλη την καμπύλη για εύρεση του D της υδρογέλης 30/70 HA/GEL. $RH = 80\%$	42
5.29	Fitting σε όλη την καμπύλη για εύρεση του D της υδρογέλης 70/30 HA/GEL. $RH = 95\%$	42
5.30	Οι συντελεστές διάχυσης που υπολογίστηκαν από τους κύκλους ρόφησης σε όλες τις RH και για όλα τα δοκίμια: HA 100% (κόκκινο), 70/30 HA/GEL (μπλε), 50/50 HA/GEL (πορτοκαλί), 30/70 HA/GEL (χίτρινο), GEL 100% (μαύρο).	43
5.31	Πίνακας με τους Συντελεστές Διάχυσης που υπολογίστηκαν.	44
5.32	Συγκριτικό διάγραμμα συντελεστών διάχυσης (μαύρο) - καμπύλης ισόθερμης υδάτωσης (μπλε) συναρτήσει σχετικών υγρασιών. Ζελατίνη.	45
5.33	Συγκριτικό διάγραμμα συντελεστών διάχυσης (μαύρο) - καμπύλης ισόθερμης υδάτωσης (μπλε) συναρτήσει σχετικών υγρασιών. Μείγμα 30/70 HA/GEL.	45
5.34	Συγκριτικό διάγραμμα συντελεστών διάχυσης (μαύρο) - καμπύλης ισόθερμης υδάτωσης (μπλε) συναρτήσει σχετικών υγρασιών. Μείγμα 50/50 HA/GEL.	46
5.35	Συγκριτικό διάγραμμα συντελεστών διάχυσης (μαύρο) - καμπύλης ισόθερμης υδάτωσης (μπλε) συναρτήσει σχετικών υγρασιών. Μείγμα 70/30 HA/GEL.	46
5.36	Συγκριτικό διάγραμμα συντελεστών διάχυσης (μαύρο) - καμπύλης ισόθερμης υδάτωσης (μπλε) συναρτήσει σχετικών υγρασιών. Υαλουρονικό Οξύ.	47
6.1	Η κυψελίδα του θερμιδόμετρου. Επικοινωνεί με το σύστημα ψύξης μέσω του μαύρου παχύ σωλήνα.	49
6.2	Τοποθέτηση δειγμάτων στην κυψελίδα. Πάνω το δείγμα αναφοράς και κάτω το δείγμα με το υλικό.	49

6.3	Το σύστημα ψύξης LNCS.[9]	50
6.4	Γυάλα αποθήκευσης των υδρογελών για την επίτευξη χαρακτηριστικής σχε- τικής υγρασίας.[5]	52
6.5	Ζελατίνη με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 17\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).	54
6.6	Ζελατίνη με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 17\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).	54
6.7	Ζελατίνη με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 19\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).	54
6.8	Ζελατίνη με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 19\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).	54
6.9	Ζελατίνη με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 46\%$. 2 ^{ος} Κύκλος Ψύξης.	54
6.10	Ζελατίνη με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 46\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης.	54
6.11	Γαλουρονικό Οξύ με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 21\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).	57
6.12	Γαλουρονικό Οξύ με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 21\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).	57
6.13	Γαλουρονικό Οξύ με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 43\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).	57
6.14	Γαλουρονικό Οξύ με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 43\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).	57
6.15	Γαλουρονικό Οξύ με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 68\%$. 2 ^{ος} Κύκλος Ψύξης.	57
6.16	Γαλουρονικό Οξύ με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 68\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης.	57
6.17	HA/GEL 30/70 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 18\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).	59
6.18	2 ^{οι} Κύκλοι Θέρμανσης-Ψύξης για HA/GEL 30/70 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 18\%$ (μπλε). Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 17\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 21\%$).	59
6.19	HA/GEL 30/70 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 25\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).	59
6.20	2 ^{οι} Κύκλοι Θέρμανσης-Ψύξης για HA/GEL 30/70 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 25\%$ (μπλε). Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 19\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 43\%$).	59
6.21	HA/GEL 30/70 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 51\%$ (μπλε). 1 ^{ος} Κύκλος Ψύξης. Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 46\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 68\%$).	59
6.22	HA/GEL 30/70 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 51\%$ (μπλε). 1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης. Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 46\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 68\%$).	59
6.23	HA/GEL 50/50 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 16\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).	62
6.24	2 ^{οι} Κύκλοι Θέρμανσης-Ψύξης για HA/GEL 50/50 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 16\%$ (μωβ). Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 17\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 21\%$).	62
6.25	HA/GEL 50/50 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 26\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).	62

6.26	2 ^ο Κύκλοι Θέρμανσης-Ψύξης για HA/GEL 50/50 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 26\%$ (μωβ). Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 19\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 43\%$).	62
6.27	HA/GEL 50/50 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 53\%$ (μωβ). 1 ^{ος} Κύκλος Ψύξης. Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 46\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 68\%$).	62
6.28	HA/GEL 50/50 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 53\%$ (μωβ). 1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης. Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 46\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 68\%$).	62
6.29	HA/GEL 70/30 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 19\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).	65
6.30	2 ^ο Κύκλοι Θέρμανσης-Ψύξης για HA/GEL 70/30 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 19\%$ (πράσινο). Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 17\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 21\%$).	65
6.31	HA/GEL 70/30 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 33\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).	65
6.32	2 ^ο Κύκλοι Θέρμανσης-Ψύξης για HA/GEL 70/30 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 33\%$ (πράσινο). Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 19\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 43\%$).	65
6.33	HA/GEL 70/30 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 56\%$ (πράσινο). 1 ^{ος} Κύκλος Ψύξης. Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 46\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 68\%$).	65
6.34	HA/GEL 70/30 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 56\%$ (πράσινο). 1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης. Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 46\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 68\%$).	65
6.35	Συγκεντρωτικό διάγραμμα με τις θερμοκρασίες της Υαλώδους Μετάβασης για όλα τα δοκίμια (οριζόντιος άξονας) στις τρεις σχετικές υγρασίες.	68
6.36	Συγκεντρωτικό διάγραμμα με τις ειδικές θερμοχωρητικότητες της Υαλώδους Μετάβασης για όλα τα δοκίμια (οριζόντιος άξονας) στις δύο χαμηλότερες σχετικές υγρασίες.	68
6.37	Συγκεντρωτικό διάγραμμα με τις θερμοκρασίες Υαλώδους Μετάβασης συναρτήσει των ποσοστών υδάτωσης για όλα τα δοκίμια. Ζελατίνη (μαύρο), Υαλουρονικό Οξύ (κόκκινο), Μείγμα 30/70 (πράσινο), Μείγμα 50/50 (γαλάζιο) και Μείγμα 70/30 (μωβ).	69
6.38	Συγκεντρωτικό διάγραμμα με τις θερμοκρασίες κι ενθαλπίες της Μετάβασης Γέλης-Διαλύματος. Όλα τα δοκίμια (οριζόντιος άξονας) στις τρεις διαφορετικές σχετικές υγρασίες.	71
6.39	Συγκεντρωτικό διάγραμμα με τις θερμοκρασίες κι ενθαλπίες Κρυστάλλωσης(μπλε)-Ψυχρής Κρυστάλλωσης(πράσινο)-Τήξης(κόκκινο) για όλα τα δοκίμια. Σχετική Υγρασία $RH = 98\%$	73
6.40	Εξάτμιση στο HA. Ποσοστά Υδάτωσης 21% (πράσινο) και 43% (μπλε). 1 ^{ος} Κύκλος Ξήρανσης.	74
6.41	Εξάτμιση στη Ζελατίνη. Ποσοστά Υδάτωσης 17% (πράσινο) και 19% (μπλε). 1 ^{ος} Κύκλος Ξήρανσης.	75
6.42	Εξάτμιση στο Μείγμα HA/GEL 50/50. Ποσοστά Υδάτωσης 16% (πράσινο) και 26% (μπλε). 1 ^{ος} Κύκλος Ξήρανσης.	75
6.43	Καμπύλες Εξατμίσεων από $RH = 85\%$. 1 ^{ος} Κύκλος θέρμανσης για όλα τα δοκίμια: Ζελατίνη (κόκκινο), HA (μαύρο), HA/GEL 30/70 (πράσινο), 50/50 (μπλε) και 70/30 (μωβ).	76

6.44	Πειράματα Εξάτμισης στη Ζελατίνη ($h_w = 46\%$). Τρεις διαδοχικοί κύκλοι θέρμανσης: έως τους $50^\circ C$ (μαύρο), έως τους $70^\circ C$ (μπλε), έως τους $190^\circ C$ (ροζ).	78
6.45	Πειράματα Εξάτμισης στο Μείγμα HA/GEL 30/70 ($h_w = 51\%$). Τρεις διαδοχικοί κύκλοι θέρμανσης: έως τους $30^\circ C$ (μαύρο), έως τους $50^\circ C$ (μπλε), έως τους $190^\circ C$ (ροζ).	78
6.46	Πειράματα Εξάτμισης στο Μείγμα HA/GEL 50/50 ($h_w = 53\%$). Τρεις διαδοχικοί κύκλοι θέρμανσης: έως τους $50^\circ C$ (μαύρο), έως τους $70^\circ C$ (μπλε), έως τους $190^\circ C$ (ροζ).	78
6.47	Πειράματα Εξάτμισης στο Μείγμα HA/GEL 70/30 ($h_w = 56\%$). Τρεις διαδοχικοί κύκλοι θέρμανσης: έως τους $50^\circ C$ (μαύρο), έως τους $70^\circ C$ (μπλε), έως τους $190^\circ C$ (ροζ).	78
6.48	Πειράματα Εξάτμισης στο Υαλουρονικό Οξύ ($h_w = 68\%$). Τρεις διαδοχικοί κύκλοι θέρμανσης: έως τους $50^\circ C$ (μαύρο), έως τους $85^\circ C$ (μπλε), έως τους $150^\circ C$ (ροζ).	78
A'1	Καμπύλη Ισόθερμης Υδάτωσης και GAB fitting για το συμπιεσμένο δοκίμιο Υαλουρονικού Οξέος.	85
A'2	Καμπύλη Ισόθερμης Υδάτωσης και GAB fitting για το ασυμπιεσμένο δοκίμιο Υαλουρονικού Οξέος.	85
A'3	Γραμμική Προσαρμογή Καμπύλης για εύρεση D . Δοκίμιο: Ζελατίνη σε $RH = 10\%$.	86
A'4	Γραμμική Προσαρμογή Καμπύλης για εύρεση D . Δοκίμιο: Μείγμα HA/GEL 30/70 σε $RH = 50\%$.	86
A'5	Γραμμική Προσαρμογή Καμπύλης για εύρεση D . Δοκίμιο: Μείγμα HA/GEL 50/50 σε $RH = 60\%$.	86
A'6	Γραμμική Προσαρμογή Καμπύλης για εύρεση D . Δοκίμιο: Μείγμα HA/GEL 70/30 σε $RH = 70\%$.	86
A'7	Γραμμική Προσαρμογή Καμπύλης για εύρεση D . Δοκίμιο: Υαλουρονικό Οξύ σε $RH = 40\%$.	87
A'8	Σύγκριση Συντελεστών Διάχυσης με τους δύο τρόπους υπολογισμούς για το Υαλουρονικό Οξύ. Γραμμική Προσαρμογή (μαύρο) και Προσαρμογή Όλης της Καμπύλης (κόκκινο).	87
A'9	Σύγκριση Συντελεστών Διάχυσης με τους δύο τρόπους υπολογισμούς για το Μείγμα HA/GEL 30/70. Γραμμική Προσαρμογή (μαύρο) και Προσαρμογή Όλης της Καμπύλης (κόκκινο).	87
A'10	Οι Συντελεστές Διάχυσης που προέκυψαν από τους Κύκλους Εχρόφησης. Ζελατίνη (μαύρο), Υαλουρονικό οξύ (κόκκινο), HA/GEL 30/70 (χίτρινο), 50/50 (πορτοκαλί), 70/30 (μωβ).	88
A'11	Καμπύλη μάζας-χρόνου για το συμπιεσμένο δοκίμιο υαλουρονικού οξέος. 1 ^{ος} Κύκλος Ρόφησης-Εχρόφησης ($RH = 0...95...5\%$).	89
A'12	Καμπύλη μάζας-χρόνου για το συμπιεσμένο δοκίμιο υαλουρονικού οξέος. Κύκλος Επαναρρόφησης ($RH = 0...70\%$).	89
A'13	Κύκλος Ρόφησης (μαύρο) κι Επαναρρόφησης (κόκκινο). Δοκίμιο: HA σε $RH = 20\%$.	90
A'14	Κύκλος Ρόφησης (μαύρο) κι Επαναρρόφησης (κόκκινο). Δοκίμιο: HA σε $RH = 60\%$.	90
A'15	Κύκλος Ρόφησης (μαύρο) κι Επαναρρόφησης (κόκκινο). Δοκίμιο: Μείγμα HA/GEL 30/70 σε $RH = 20\%$.	90

A'.16	Κύκλος Ρόφησης (μαύρο) κι Επαναρρόφησης (κόκκινο). Δοκίμιο: Μείγμα HA/GEL 30/70 σε $RH = 60\%$	90
A'.17	Κύκλος Ρόφησης (μαύρο) κι Επαναρρόφησης (κόκκινο). Δοκίμιο: Μείγμα HA/GEL 70/30 σε $RH = 20\%$	90
A'.18	Υαλουρονικό Οξύ: Κύκλος Ρόφησης (μαύρα τετράγωνα) - Εκρόφησης (κόκκινοι κύκλοι) - Επαναρρόφησης (λευκά τρίγωνα).	91
A'.19	Μείγμα HA/GEL 30/70: Κύκλος Ρόφησης (μαύρα τετράγωνα) - Εκρόφησης (κόκκινοι κύκλοι) - Επαναρρόφησης (λευκά τρίγωνα).	91
B'.1	HA/GEL 30/70 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 18\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).	93
B'.2	HA/GEL 30/70 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 25\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).	93
B'.3	HA/GEL 50/50 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 16\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).	93
B'.4	HA/GEL 50/50 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 26\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).	93
B'.5	HA/GEL 70/30 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 19\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).	93
B'.6	HA/GEL 70/30 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 33\%$. 1 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2 ^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).	93
B'.7	Εξάτμιση στο Μείγμα HA/GEL 30/70. Ποσοστά Υδάτωσης 18% (πράσινο) και 25% (μπλε). 1 ^{ος} Κύκλος Ξήρανσης.	94
B'.8	Εξάτμιση στο Μείγμα HA/GEL 70/30. Ποσοστά Υδάτωσης 19% (πράσινο) και 33% (μπλε). 1 ^{ος} Κύκλος Ξήρανσης.	94
B'.9	Καμπύλες Εξατμίσεων από $RH = 65\%$. 1 ^{ος} Κύκλος θέρμανσης για όλα τα δοκίμια: Ζελατίνη (κόκκινο), HA (μαύρο), HA/GEL 30/70 (πράσινο), 50/50 (γαλάζιο) και 70/30 (μωβ).	94
B'.10	2 ^{ος} κύκλος ψύξης-θέρμανσης μετά την εξάτμιση. Ζελατίνη με αρχικό ποσοστό υδάτωσης $h_w = 17\%$ (μαύρο) και $h_w = 19\%$ (μπλε).	95
B'.11	2 ^{ος} κύκλος ψύξης-θέρμανσης μετά την εξάτμιση. Μείγμα HA/GEL 30/70 με αρχικό ποσοστό υδάτωσης $h_w = 18\%$ (μαύρο) και $h_w = 25\%$ (μπλε).	95
B'.12	2 ^{ος} κύκλος ψύξης-θέρμανσης μετά την εξάτμιση. Μείγμα HA/GEL 50/50 με αρχικό ποσοστό υδάτωσης $h_w = 16\%$ (μαύρο) και $h_w = 26\%$ (μπλε).	95
B'.13	2 ^{ος} κύκλος ψύξης-θέρμανσης μετά την εξάτμιση. Μείγμα HA/GEL 70/30 με αρχικό ποσοστό υδάτωσης $h_w = 19\%$	95
B'.14	2 ^{ος} κύκλος ψύξης-θέρμανσης μετά την εξάτμιση. Υαλουρονικό Οξύ με αρχικό ποσοστό υδάτωσης $h_w = 21\%$ (μαύρο) και $h_w = 43\%$ (μπλε).	95
B'.15	Αρχικός κύκλος ψύξης-θέρμανσης (μαύρο) κι επανάληψη κύκλου ένα μήνα μετά (κόκκινο). Ζελατίνη, $h_w = 46\%$	96
B'.16	Αρχικός κύκλος ψύξης-θέρμανσης (μαύρο) κι επανάληψη κύκλου τρεις εβδομάδες μετά (κόκκινο). Μείγμα HA/GEL 30/70, $h_w = 51\%$	96
B'.17	Αρχικός κύκλος ψύξης-θέρμανσης (μαύρο) κι επανάληψη κύκλου τρεις εβδομάδες μετά (κόκκινο). Μείγμα HA/GEL 50/50, $h_w = 53\%$	96
B'.18	Αρχικός κύκλος ψύξης-θέρμανσης (μαύρο) κι επανάληψη κύκλου δύο εβδομάδες μετά (κόκκινο). Μείγμα HA/GEL 70/30, $h_w = 56\%$	96
B'.19	Αρχικός κύκλος ψύξης-θέρμανσης (μαύρο) κι επανάληψη κύκλου ένα μήνα μετά (κόκκινο). Υαλουρονικό Οξύ, $h_w = 68\%$	96

Κατάλογος Πινάκων

5.1	Οι ευρεθείσες παράμετροι της GAB.	35
6.1	Τα υπό εξέταση δοκίμια και τα ποσοστά υδάτωσής τους h_w	51
6.2	Αποτελέσματα DSC για τη Ζελατίνη.	56
6.3	Αποτελέσματα DSC για το Υαλουρονικό Οξύ.	58
6.4	Αποτελέσματα DSC για το Μείγμα HA/GEL 30/70.	61
6.5	Αποτελέσματα DSC για το Μείγμα HA/GEL 50/50.	64
6.6	Αποτελέσματα DSC για το Μείγμα HA/GEL 70/30.	67
6.7	Αποτελέσματα πειραμάτων εξατμίσεων για τα δοκίμια χαμηλών ποσοστών υδάτωσης.	77
B'.1	Τα ποσοστά υδάτωσης h_d των δοκιμίων, υπολογισμένα από τη DSC & το ESI.	92

Συντομογραφίες

HA	Hyaluronic Acid - Υαλουρονικό Οξύ
Gel	Gelatin - Ζελατίνη
Tyr	Tyramin - Τυραμίνη
HG	Hydro Gels - Υδρογέλες
DSC	Differential Scanning Calorimetry - Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης
ESI	Equilibrium Sorption Isotherms - Ισόθερμες Ροφήσεις Νερού
EWC	Equilibrium Water Constant - Ποσοστό Υδάτωσης σε Ισορροπία
RH	Relative Humidity - Σχετική Υγρασία
ECM	Extra Cellular Matrix - Εξωκυτταρική Μήτρα
BET	Εξίσωση Brunauer Emmet Teller
GAB	Εξίσωση Guggenheim Anderson de Boer
LNCS	Liquid Nitrogen Cooling System - Σύστημα Ψύξης Υγρού Αζώτου

Σύμβολα

T_m	Θερμοκρασία Τήξης	K
T_c	Θερμοκρασία Κρυστάλλωσης	K
T_{cc}	Θερμοκρασία Ψυχρής Κρυστάλλωσης	K
T_g	Θερμοκρασία Υαλώδους Μετάβασης	K
T_{gs}	Θερμοκρασία GEL-SOL Μετάβασης	K
T_{sg}	Θερμοκρασία SOL-GEL Μετάβασης	K
T_{ev}	Θερμοκρασία Εξάτμισης	K
ΔH_m	Ενθαλπία Τήξης	Jgr^{-1}
ΔH_c	Ενθαλπία Κρυστάλλωσης	Jgr^{-1}
ΔH_{cc}	Ενθαλπία Ψυχρής Κρυστάλλωσης	Jgr^{-1}
ΔH_{gs}	Ενθαλπία GEL-SOL Μετάβασης	Jgr^{-1}
ΔH_{sg}	Ενθαλπία SOL-GEL Μετάβασης	Jgr^{-1}
ΔH_{ev}	Ενθαλπία Εξάτμισης	Jgr^{-1}
ΔC_p	Ειδική Θερμότητα υπό σταθερή πίεση	$Jgr^{-1} \circ C^{-1}$
m_w	Υδατωμένη Μάζα	mg
m_d	Ξηρή Μάζα	mg
D	Συντελεστής Διάχυσης	m^2s^{-1}
h_d	Ποσοστό Υδάτωσης (επί της ξηρής μάζας)	(%)
h_w	Ποσοστό Υδάτωσης (επί της υδατωμένης μάζας)	(%)
h_{wp}	Μερικό Ποσοστό Υδάτωσης (επί της υδατωμένης μάζας στις εξατμίσεις)	(%)
RH	Ποσοστό Σχετικής Υγρασίας	(%)
a_w	Ενεργότητα Νερού	-
X_c	Ποσοστό Κρυσταλλωμένου Νερού	(%)

Κεφάλαιο 1

Βιοσυμβατά Υλικά & Ιστοτεχνολογία

1.1 Βιοσυμβατά Υλικά

Τα βιοσυμβατά υλικά ή βιοϋλικά χρησιμοποιούνται για να αντικαταστήσουν τμήματα ζωντανών ιστών και να επιτελέσουν διάφορες ζωτικές λειτουργίες σε συνεργασία με τον ήδη υπάρχοντα φυσικό ιστό. Αυτά διακρίνονται σε φυσικά και σε τεχνητά.

Τα φυσικά βιοϋλικά υπάρχουν στους ιστούς των έμβιων οργανισμών. Αποσπώνται και μελετούνται τόσο σε επίπεδο σύστασης όσο και σε λειτουργικό επίπεδο.

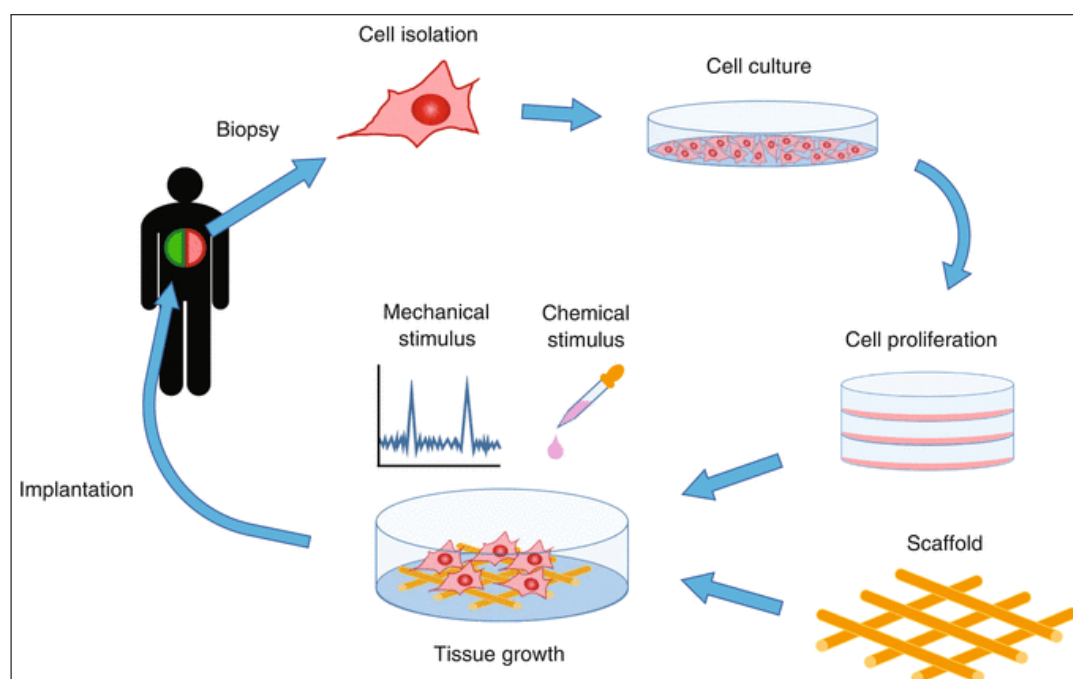
Τα τεχνητά βιοϋλικά, με τα οποία θα ασχοληθούμε και στην παρούσα εργασία, ανήκουν κυρίως στο κομμάτι της έρευνας και κατασκευάζονται στα εργαστήρια. Η κατασκευή τους στοχεύει στην απομίμηση των φυσικών ιστών κι έτσι, από βίο-αδρανή, έχουν σταδιακά μετατραπεί σε βίο-μιμητικά, ακόμα και βίο-ενεργά υλικά.

Δυστυχώς, δεν έχουν ακόμη άμεσες εφαρμογές σε έμβιους οργανισμούς και γι' αυτό η έρευνα γύρω από το αντικείμενο είναι ιδιαίτερα έντονη. Οι μελλοντικές εφαρμογές τους θα ποικίλλουν από ικρίωματα ιστών μέχρι τεχνητούς γοφούς ή άλλα μοσχεύματα, βιοσυμβατούς βηματοδότες ή καθετήρες και συστήματα μεταφοράς κι απελευθέρωσης φαρμάκων (Drug Delivery Systems).

1.2 Μια εφαρμογή: Η Ιστοτεχνολογία

Η Ιστοτεχνολογία είναι ένα διεπιστημονικό πεδίο έρευνας που ασχολείται με την ανάπτυξη τεχνητών εξωκυτταρικών μητρών (ECMs) και συνδυάζει τις επιστήμες της Βιολογίας, της Ιατρικής, της Χημείας & της Φυσικής. Τα πρώτα βήματά της έγιναν περί το 1970-1980, ενώ οι έρευνες συνεχίζονται έως τις μέρες μας και αφορούν κυρίως απλά ομογενή συστήματα ιστών[10], λ.χ. χόνδρους αρθρώσεων, καθώς η περιπλοκότητα αυξάνεται εκθετικά στις προσπάθειες για τεχνητή κατασκευή οργάνων ή συστημάτων οργάνων.

Ο ρόλος των ECMs είναι ιδιαίτερα σημαντικός. Στις ECMs προσκολλούνται τα κύτταρα, στηρίζονται και πολλαπλασιάζονται. Επιπλέον, μέσω αυτών μετακινούνται τόσο τα ίδια τα κύτταρα όσο και διάφορες θρεπτικές ουσίες -λ.χ. το νερό- κι άλλα προϊόντα του μεταβολισμού του οργανισμού.[5]



ΣΧΗΜΑ 1.1: Ο κύκλος των κυττάρων από τον άνθρωπο στο εργαστήριο.[1]

Για την κατασκευή ικριωμάτων ανάπτυξης κυττάρων, λοιπόν, υπάρχουν τρεις τεχνικές.[10] Η πρώτη αφορά τεχνητές βιοσυμβατές ECMs, οι οποίες θα αποικούνται από κύτταρα του έμβριου οργανισμού και θα συντίθενται είτε σε εργαστήρια χημείας είτε μέσω τριδιάστατων εκτυπωτών. Στη δεύτερη τεχνική χρησιμοποιούνται φυσικές ECMs από όργανα δωρητών και στην τρίτη πραγματοποιείται φυσική αποκατάσταση από βλαστοκύτταρα του ίδιου του οργανισμού, όπως συμβαίνει στα έμβρυα.

Τα προβλήματα στις παραπάνω μεθόδους είναι ακόμα αρκετά, ειδικά στο πεδίο των τεχνητών μητρών. Για παράδειγμα, στα «εκτυπώσιμα» κύτταρα ασκούνται πολλές φορές μεγάλες τάσεις ή δεν είναι ανθεκτικά σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες, με αποτέλεσμα να ταλαντώνονται τα μόρια των κυττάρων και να καθίστανται ασταθή τα κύτταρα. Άλλο ένα παράδειγμα είναι τα συστήματα ζωικών ιστών, όπου οι ρυθμοί αναπαραγωγής είναι αργοί και δε μεταδίδονται πάντοτε επιτυχώς τα σήματα μεταξύ των φυσικών και τεχνητών κυττάρων.[10]

Ο μελλοντικός στόχος είναι να μπορούν οι τεχνητοί ιστοί να εκτελούν τις λειτουργίες των εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων, δηλαδή να μπορούν να διαφοροποιούνται τα κύτταρα και να παίρνουν διαφορετικές μορφές ανάλογα με τη λειτουργία τους. Έτσι, η έρευνα θα προχωρήσει ένα βήμα πιο κοντά στη δημιουργία οργάνων ή συστημάτων οργάνων.

1.3 Στόχος της παρούσας εργασίας

Αυτή η εργασία εστιάζει στη μελέτη και το φυσικό χαρακτηρισμό δύο βιοσυμβατών υλικών, του Υαλουρονικού Οξέος και της Ζελατίνης, με απώτερο σκοπό αυτά να συνδυαστούν κατάλληλα και το σύνθετο υλικό που θα προκύψει να χρησιμοποιηθεί για τη δημιουργία ικριωμάτων ανάπτυξης κυττάρων.

Τα ικριώματα είναι πορρώδη πολυμερικά υλικά που προσπαθούν να μιμηθούν τις ECMs, ώστε να καθίσταται δυνατή η αναπαραγωγή κυττάρων. Συνήθως περιλαμβάνουν και βιοενεργούς παράγοντες ανάπτυξης (πολυπεπτίδια) που βοηθούν τις διαδικασίες αναπαραγωγής και διαφοροποίησης κυττάρων κι άρα επιταχύνουν την ανακατασκευή του ιστού.[11–13] Επιπλέον, σημειώνεται πως αυτά τα υλικά είναι ιδιαίτερα υδρόφιλα, καθώς το νερό αποτελεί το πλέον σημαντικό συστατικό στην ανάπτυξη των κυττάρων και γενικότερα της ζωής.

Για να έχει, λοιπόν, κανείς μια πιο πλήρη εικόνα για τα πολυμερή που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν στην Ιστοτεχνολογία, είναι σημαντικό να μελετήσει το **νερό**. Αυτό -αν και φαινομενικά κάτι το τετριμμένο- δίνει πληροφορίες για: τη μορφολογία των υλικών, την αναμειξιμότητά τους, τους δεσμούς που σχηματίζουν με το νερό ή τον πάγο, τη διάχυση ουσιών μέσα από αυτά κ.ά.

Κεφάλαιο 2

Τα υλικά που μελετήθηκαν

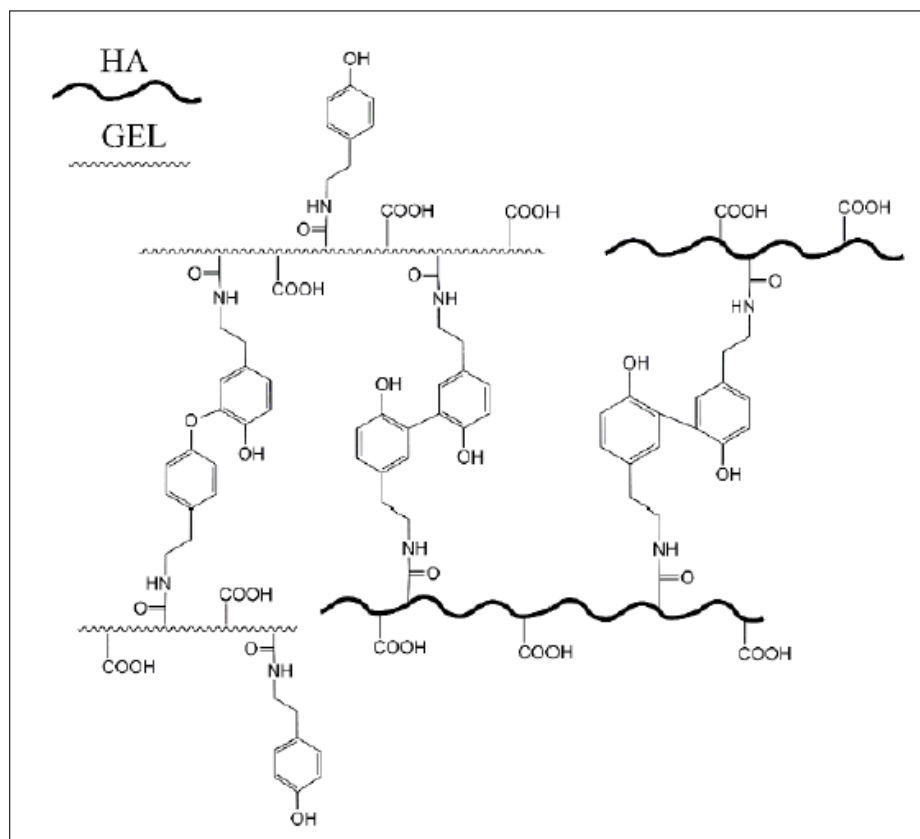
2.1 Υδρογέλες με Σταυροδεσμούς

Οι υδρογέλες είναι υδρόφιλα πολυμερή με φυσικούς και χημικούς σταυροδεσμούς, έτσι ώστε να μη διαλύονται στο νερό. Στα πλαίσια αυτής της εργασίας, επιλέχθηκαν να μελετηθούν υδρογέλες Υαλουρονικού Οξέος, Ζελατίνης και μείγματα αυτών.

Γενικά, οι υδρογέλες έχουν τη δυνατότητα να συγκρατούν το νερό στις δομές τους και να αλληλεπιδρούν με αυτό. Είναι διαπερατές σε θρεπτικές βιοχημικές ουσίες, βιοσυμβατές & βιοαποικοδομήσιμες. Μπορούν να πάρουν ενέσιμη μορφή, έχουν υψηλή μηχανική αντοχή και, κυρίως, επιτρέπουν τη συγκράτηση κι ανάπτυξη νέων κυττάρων στο πλέγμα τους.[2, 5] Επομένως, είναι τα πλέον κατάλληλα υλικά για εφαρμογή στον τομέα της Ιστοτεχνολογίας.

Το Σταυροδέσιμο

Κατά τη σύνθεση των υδρογελών είναι απαραίτητο το ενζυματικό **σταυροδέσιμο** (cross-linking), ώστε να αποφευχθεί η διάλυσή τους με τις θερμοκρασίες που επικρατούν στο ανθρώπινο σώμα ή τις αλλαγές στο PH.[2] Οι σταυροδεσμοί μπορούν να δημιουργηθούν με χημικό τρόπο ή μέσω ακτινοβόλησης, αλλά το υλικό που προκύπτει από λ.χ. τη μέθοδο της ακτινοβόλησης δεν είναι ομογενές, επειδή η διαπερατότητα του φωτός δεν είναι σε όλες τις περιοχές του δείγματος ίδια.[2] Γι' αυτό το λόγο, προτιμάται η μεσολάβηση κάποιου **ενζύμου**. Εδώ χρησιμοποιείται η **HRP Peroxidase**. [5]



ΣΧΗΜΑ 2.1: Διαδικασία Σταυροδεσίματος παρουσία HRP Peroxidase και H₂O₂. [2]

Το ενζυματικό σταυροδέσιμο είναι πιο ελεγχόμενο και γρήγορο και καθιστά τελικά τις υδρογέλες μηχανικά σταθερές κι εύπλαστες, ούτως ώστε να μπορούν να προσαρμόζονται σχηματικά μες στους ανθρώπινους ιστούς.

Η πυκνότητα των σταυροδεσμών υπολογίζεται από την **Εξίσωση Flory-Rehner** [2, 14, 15] ως εξής:

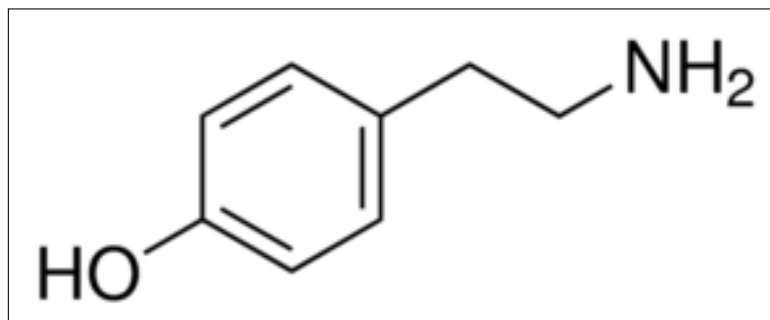
$$\rho_x = -\frac{\ln(\phi_w) + (1 - \phi_w) + x(1 - \phi_w)^2}{V_w[(1 - \phi_w)^{1/3} - (\frac{1}{2} - \frac{\phi_w}{2})]} \quad (2.1)$$

όπου x = παράμετρος αλληλεπίδρασης νερού-πολυμερούς,

ϕ_w = ποσοστό νερού στη διογκωμένη κατάσταση του υλικού &

v_w = όγκος μορίων νερού.

Τέλος, βασικό ρόλο στο σταυροδέσιμο των υπό μελέτη δειγμάτων παίζει η **Τυραμίνη**. Όταν αυτή συνδυάζεται με το HA ή τη Ζελατίνη, δημιουργεί ενεργές φαινολικές ομάδες στην κύρια πολυμερική αλυσίδα, οι οποίες αντιδρούν και διαμορφώνουν τις **στερεές** υδρογέλες [5, 16, 17].

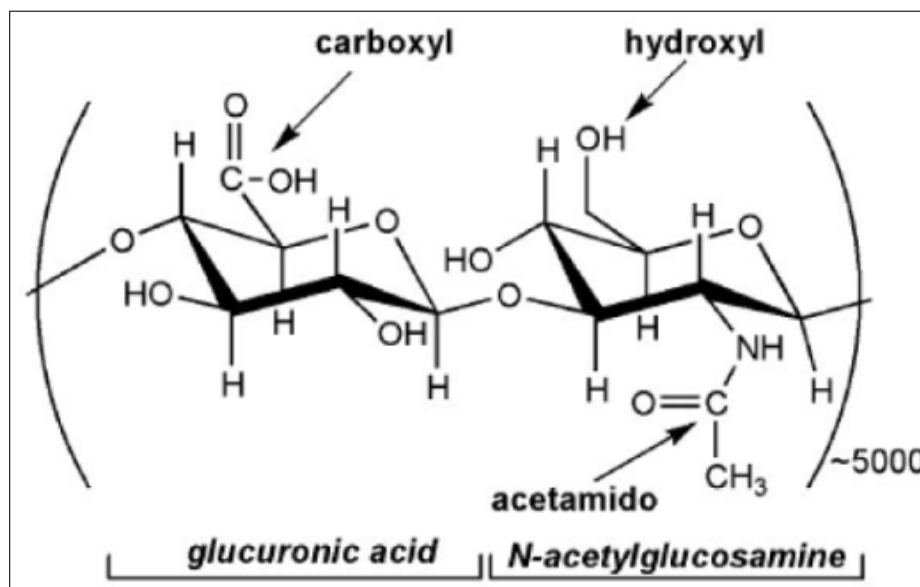


ΣΧΗΜΑ 2.2: Συντακτικός Τύπος Τυραμίνης.[3]

Στα δείγματα που μελετήθηκαν σε αυτή τη διπλωματική εργασία, το σταυροδέσιμο έγινε με αναλογία Ζελατίνης-Τυραμίνης (1:2) και Υαλουρονικού Οξέος-Τυραμίνης (1:2)¹.

2.2 Υαλουρονικό Οξύ

Το Υαλουρονικό Οξύ είναι ένας γραμμικός πολυσακχαρίτης, αρνητικά φορτισμένος και με μοριακό βάρος $10^5 - 10^8 \text{ g/mol}$. Οι χημικά ενεργές ομάδες του είναι καρβοξυλικές και αλκοολικές.[5] Πρόκειται για ένα ημιδιαφανές, ελαστικό, φωτοευαίσθητο[5] και ιδίως υδρόφιλο υλικό.



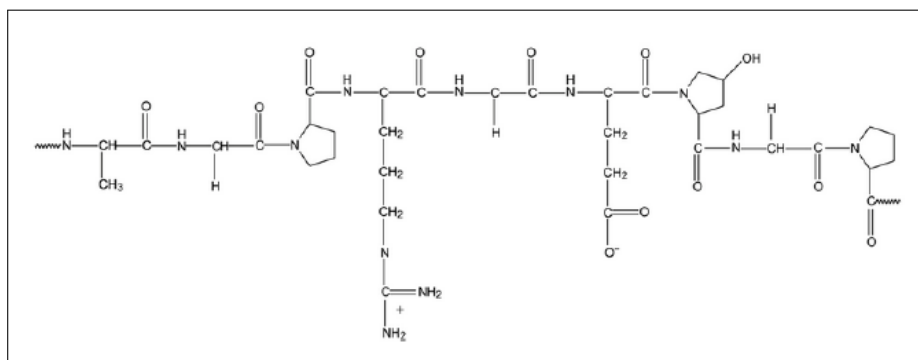
ΣΧΗΜΑ 2.3: Συντακτικός Τύπος Υαλουρονικού Οξέος.[4]

¹Εδώ εντοπίζεται η διαφορά με προηγούμενα πειράματα που διεξάχθηκαν για τη μελέτη υδρογελών με αναλογία Υαλουρονικού Οξέος-Τυραμίνης 1:1.

Το HA έχει ήδη μελετηθεί ερευνητικά. Επιλέχθηκε για την ανακατασκευή ιστών, επειδή ευνοεί τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, συμβάλλει στην ομαλή επικοινωνία των κυττάρων μεταξύ τους, καθώς και στην ομοιοστάση και στην επούλωση τραυμάτων.[11] Επίσης έχει τις επιθυμητές μηχανικές ιδιότητες. Το HA είναι τόσο συμβατό με το ανθρώπινο σώμα, διότι υπάρχει εγγενώς σε αυτό: στο υγρό των αρθρώσεων και των οφθαλμών, στους πνεύμονες, στα νεφρά, στον εγκέφαλο, σε μύες και, βέβαια, στο δέρμα.[11] Τέλος, σημειώνεται πως το HA συναντιέται ήδη και στο εμπόριο, ως συστατικό φαρμακευτικών προϊόντων ή προϊόντων περιποίησης.

2.3 Ζελατίνη

Η **Ζελατίνη** είναι μία φυσική πρωτεΐνη, τα βασικά συστατικά της οποίας είναι 50.5% άνθρακας, 25.2% οξυγόνο, 17% άζωτο και 6.8% υδρογόνο. Προέρχεται από το κολλαγόνο[11, 18] και οι χημικά ενεργές ομάδες της είναι οι αμινομάδες και οι καρβοξυλομάδες.[5] Το μοριακό της βάρος κυμαίνεται μεταξύ 15.000 – 400.000g/mol[5] και η θεμελιώδης κυψελίδα της είναι εδροκεντρωμένη κυβική (FCC). Η ζελατίνη είναι άοσμη, άγευστη και κιτρινωπή σε χρώμα. Όσο περισσότεροι είναι οι σταυροδεσμοί στη δομή της, τόσο μεγαλύτερη είναι η μηχανική της αντοχή και τόσο πιο αδιάλυτη (insoluble) γίνεται.

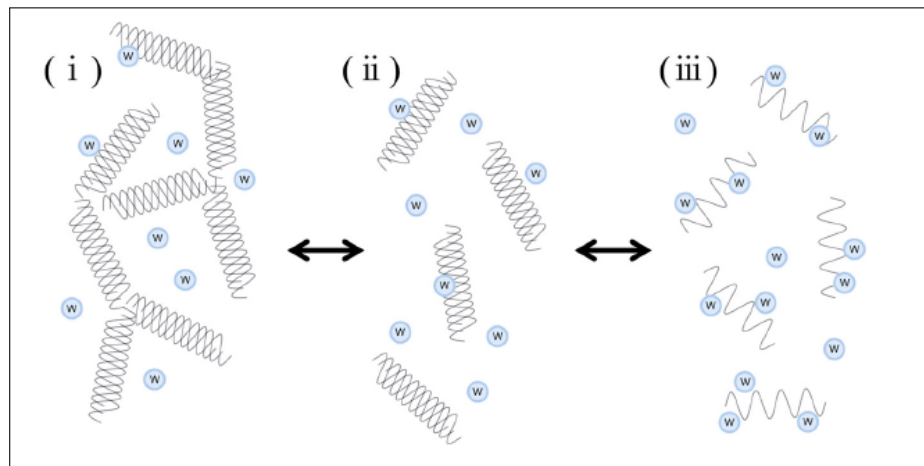


ΣΧΗΜΑ 2.4: Συντακτικός Τύπος Ζελατίνης.[5]

Η Ζελατίνη έχει το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό να πραγματοποιεί μία μετάβαση από διάλυμα σε γέλη («**SOL-GEL Transition**»), κατά την ψύξη και για μεγάλα ποσοστά υδάτωσης². Στη διαδικασία ζελατινοποίησης, σχηματίζονται έλικες όπως αυτές στη δομή του κολλαγόνου (collagen folds)[5, 19, 20] κι έπειτα πραγματοποιείται σταυροδέσιμο με ισχυρούς υδροφοβικούς και ηλεκτροστατικούς δεσμούς υδρογόνου. Ανεξαρτήτως ποσοστού υδάτωσης, η

²Σε μικρά ποσοστά υδάτωσης αυτή δεν πραγματοποιείται. Βλ. Κεφάλαιο 6.

διαδικασία που πραγματοποιείται οπωσδήποτε στη Ζελατίνη κατά τη θέρμανση στους 20°C είναι το αντίθετο φαινόμενο: η μετάβαση **GEL-SOL**.



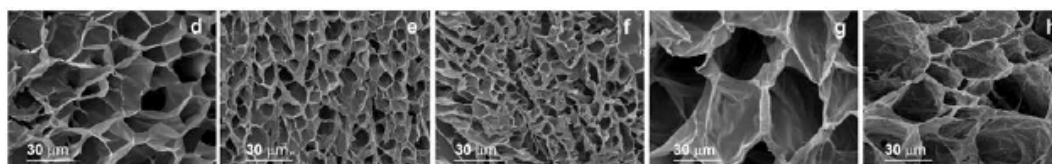
ΣΧΗΜΑ 2.5: Σχηματική Αναπαράσταση της Μετάβασης GEL-SOL.[6]

Αυτή τη χαρακτηριστική μετάβαση εκμεταλλεύεται η Ιστοτεχνολογία κι έτσι η μορφή του ικριώματος καθίσταται ενέσιμη (διάλυμα). Από την εικόνα 2.5 μπορεί κανείς να πάρει μία ιδέα για τη διαδικασία μετατροπής της γέλης σε διάλυμα. Ουσιαστικά, απεικονίζεται η αποδόμηση των αρχικά (Περίπτωση i) πυκνών ελικοειδών δομών και η μετατροπή τους σε απλούστερες κι αραιότερες αλυσίδες, οι οποίες καθίστανται διαλυτές στο νερό (Περίπτωση iii).

2.4 Μείγματα HA/GEL

Συνδυάζοντας τα παραπάνω υλικά με τις κατάλληλες αναλογίες, παίρνει κανείς σύνθετα διφασικά υλικά. Αυτά συνδυάζουν τις ιδιότητες που παρουσιάζει το κάθε «καθαρό» συστατικό μεμονωμένα, οπότε θα μπορούσαν να βελτιώσουν συνολικά τα τεχνητά ικρίωματα ανάπτυξης κυττάρων. Στη σύνθεση των μειγμάτων απαιτείται και πάλι η διαδικασία σταυροδεσίματος. Εφαρμόζεται, λοιπόν, η εξίσωση 2.1 δύο φορές: για $x(GEL) = 0.49$ και $x(HA) = 0.473$.

Όσο αυξάνεται το ποσοστό του HA στο μείγμα, τόσο περισσότερος χρόνος απαιτείται για να σταθεροποιηθεί το σύστημα κατά την παρασκευή του. Επιπλέον, αυξάνονται οι πόροι της υδρογέλης σε μέγεθος και σε πλήθος με περισσότερο HA. Το αποτέλεσμα είναι το υλικό να μπορεί να προσλαμβάνει περισσότερο νερό, άρα να γίνεται πιο υδρόφιλο.[2] Η τελική μορφή των υδρογελών μοιάζει με αυτή του Σχήματος 2.6, όπου διακρίνονται οι πόροι κάθε δοκιμίου.



ΣΧΗΜΑ 2.6: Εικόνες Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Σάρωσης (Scanning Electron Microscopy) για τις 5 Υδρογέλες: (d) GEL 100%, (e) HA/GEL 30/70, (f) 50/50, (g) 70/30, (h) HA 100%.[7]

Κεφάλαιο 3

Ο ρόλος του νερού: Ρόφηση & Διάχυση στις Υδρογέλες

3.1 Οι καταστάσεις του νερού

Το νερό, καθώς αλληλεπιδρά και εισχωρεί στο πολυμερικό υλικό, είτε δεσμεύεται και δημιουργεί δεσμούς με την πολυμερική αλυσίδα είτε κινείται πιο ελεύθερα. Μιά προσέγγιση για τη θεωρητική μελέτη της οργάνωσης του απορροφημένου νερού είναι η ταξινόμησή τους σε διάφορες καταστάσεις, οι οποίες παρατίθενται παρακάτω:[21–26]

- ΠΡΩΤΟ ΣΤΡΩΜΑ ΔΕΣΜΕΥΜΕΝΟΥ ΝΕΡΟΥ

Είναι το στρώμα νερού που δημιουργείται αρχικά όταν το δείγμα παύει είναι ξηρό ($RH \neq 0$). Τότε ξεκινά το φαινόμενο της **Πλαστικοποίησης**, όπου τα μόρια του νερού προσκολλούνται στις πολυμερικές αλυσίδες σχηματίζοντας δεσμούς υδρογόνου με τις υδρόφιλες ομάδες και προκαλούν την κίνηση των αλυσίδων. Αυτό το νερό δεν έχει περιθώρια κρυστάλλωσης, καθώς είναι δεσμευμένο από το υλικό ή περιορισμένο χωρικά.

- ΑΝΩΤΕΡΑ ΣΤΡΩΜΑΤΑ ΔΕΣΜΕΥΜΕΝΟΥ ΝΕΡΟΥ

Σχηματίζονται δεσμοί υδρογόνου πλέον και μεταξύ των μορίων του νερού. Το υλικό έχει διογκωθεί και το νερό εισχωρεί πιο βαθιά στις δομές του πολυμερούς. Οι ανώτερες στοιβάδες νερού, όμως, συνδέονται με την πολυμερική αλυσίδα με αρκετά ασθενέστερους δεσμούς συγκριτικά με την πρώτη στοιβάδα.

- ΣΥΣΣΩΜΑΤΩΜΑΤΑ ΝΕΡΟΥ

Πρόκειται για το νερό που δεν αλληλεπιδρά με τις πολυμερικές αλυσίδες του πολυμερικού υλικού. Επομένως, μπορεί να κρυσταλλώνεται, αλλά σε χαμηλότερη θερμοκρασία από το ελεύθερο (bulk) νερό (για $T < 0^{\circ}\text{C}$) και με μικρότερη ενθαλπία αλλαγής φάσης.

- ΜΑΚΡΟΣΚΟΠΙΚΑ ΕΛΕΥΘΕΡΟ ΝΕΡΟ

Σε αυτή την κατάσταση το νερό κινείται απεριόριστα ($a_w = 1$). Αυτό απορροφάται λόγω ωσμωτικών πιέσεων που αναπτύσσονται κι αποθηκεύεται στις κοιλότητες του υλικού. Είναι το πρώτο που θα αποχωρήσει κατά την εκρόφηση ή την εξάτμιση.

Τα δείγματα εκτίθενται σε διάφορες σχετικές υγρασίες και παρατηρώντας κανείς τα αποτελέσματα μπορεί να εκτιμήσει σε ποια από τις παραπάνω καταστάσεις βρίσκεται το νερό. Από τη σάρωση σε διάφορες σχετικές υγρασίες, εξάγονται επίσης συμπεράσματα για την υδροφιλικότητα των δειγμάτων, για την ευκολία του νερού να εισχωρήσει και να κινηθεί μες στο πολυμερικό πλέγμα ή για τυχόν φαινόμενα αποθήκευσης-παρεμπόδισης του νερού κατά τη διαδικασία ξήρανσης του υλικού.

3.2 Ρόφηση & Εκρόφηση Νερού

Με τον όρο «**Ρόφηση**» εννοούμε τη φυσικοχημική διαδικασία κατά την οποία μία ουσία εισχωρεί μέσα σε μια άλλη. Συγκεκριμένα, εδώ, το νερό εισχωρεί μέσα στο κάθε δείγμα κι αλληλεπιδρά με τις πολυμερικές αλυσίδες λόγω του χημικού δυναμικού του. Ο όρος «**Εκρόφηση**», αντίθετα, αναφέρεται στη διαδικασία απομάκρυνσης της μίας ουσίας από την άλλη (εδώ: του νερού από την υδρογέλη). Στο πρώτο πείραμα που διεξήχθη σε τούτη την εργασία γίνεται ουσιαστικά αυτό ακριβώς: αυξάνεται (ρόφηση) ή μειώνεται (εκρόφηση) η σχετική υγρασία βηματικά (step function) και παρακολουθείται η μάζα του δείγματος, συναρτήσει του χρόνου και υπό σταθερή θερμοκρασία. Έτσι δημιουργείται μια πλήρης εικόνα για την κίνηση του νερού μέσα στο δείγμα.

Υπάρχουν δύο τρόποι κίνησης του νερού κατά τη ρόφηση-εκρόφηση στο πολυμερικό υλικό. Ο πρώτος είναι ο ομαλός Fickian τρόπος, όπου η κινητικότητα της εισερχόμενης ουσίας είναι ασθενέστερη από αυτή της πολυμερικής αλυσίδας, ενώ ο ρυθμός απόκτησης μάζας του πολυμερούς (dm/dt) είναι ανάλογος της τετραγωνικής ρίζας του χρόνου (\sqrt{t})¹. Η δεύτερη

¹Βλ. Υποενότητα 3.3.3

συμπεριφορά είναι πιο ανώμαλη κι ονομάζεται non Fickian. Σε αυτή την περίπτωση, η κινητικότητα του νερού είναι το ίδιο έντονη με την κινητικότητα των αλυσίδων του υλικού, το πολυμερές διογκώνεται (φαινόμενο swelling) κι ο ρυθμός απόκτησης μάζας (dm/dt) είναι ανάλογος του χρόνου (t).[27]

Ένα εξίσου συχνό φαινόμενο είναι αυτό της **Υστέρησης**, όπου το απορροφημένο νερό συγκρατείται από το πολυμερικό πλέγμα και δεν μπορεί να εξέλθει. Ο λόγος είναι πως οι δεσμοί υδρογόνου που δημιουργούνται μεταξύ του νερού και των υδρόφιλων πολυμερικών ομάδων είναι αρκετά ισχυροί και ο χρόνος ανάκτησης της πολυμερικής μορφολογίας είναι μεγαλύτερος από την κλίμακα χρόνου διεξαγωγής των πειραμάτων. Έτσι, το νερό εγκλωβίζεται στις κοιλότητες που σχηματίζονται και δεν μπορεί να εξέλθει κατά την εκρόφηση.[28]

Το Φαινόμενο της Υστέρησης είναι παρατηρήσιμο ως βρόγχος σε διαγράμματα επί τοις εκατό ποσοστού υδάτωσης $h_d(\%)$ συναρτήσε επί τοις εκατό ποσοστού σχετικής υγρασίας $RH(\%)$. Αυτά τα διαγράμματα ονομάζονται **Καμπύλες Ισόθερμης Υδάτωσης** και ο βρόγχος παρατηρείται όταν τα πειραματικά σημεία που αντιστοιχούν στην εκρόφηση **δεν** ανήκουν στην καμπύλη ρόφησης.

Το ποσοστό υδάτωσης επί της **ξηρής** μάζας του δοκιμίου $h_d(\%)$ υπολογίζεται από τη σχέση:

$$h_d(\%) = \frac{m_{wet} - m_{dry}}{m_{dry}} \times 100 \quad (3.1)$$

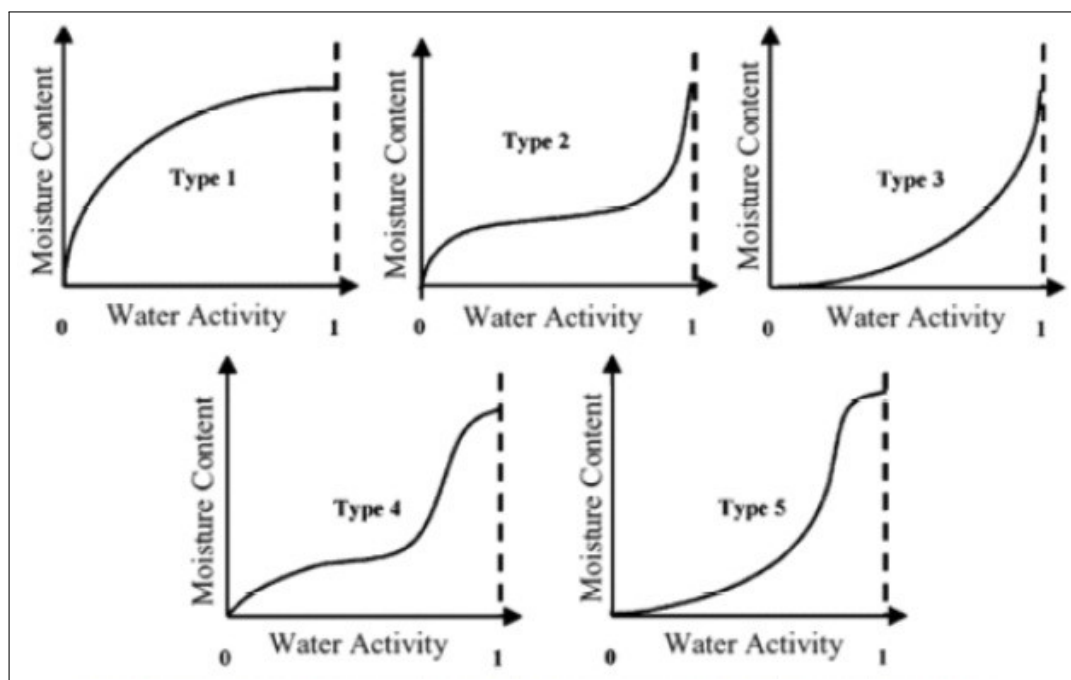
Το ποσοστό σχετικής υγρασίας $RH(\%)$ υπολογίζεται από την πίεση των υδρατμών που περιβάλλουν το δείγμα.[29]

Άλλο ένα χρήσιμο ποσοστό υδάτωσης δίνεται σε σχέση με την **υδατωμένη** μάζα του δοκιμίου $h_w(\%)$ και είναι αυτό που εμπεριέχει την πληροφορία του ποσού του νερού που έχει απορροφηθεί από το υλικό. Αυτό το ποσοστό χρησιμοποιείται κυρίως στο πείραμα της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης.

$$h_w(\%) = \frac{m_{wet} - m_{dry}}{m_{wet}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.2.1 Ταξινόμηση κατά Brunauer

Υπάρχουν πέντε καμπύλες που προσομοιώνουν τις καμπύλες ισόθερμης υδάτωσης.[11, 30–32] Αυτές παρατίθενται παρακάτω:



ΣΧΗΜΑ 3.1: Ταξινόμηση κατά Brunauer.[8]

- 1^ο διάγραμμα: Ισχύει η **Θεωρία Langmuir** (βλ. παρακάτω). Αφορά μικροπορώδη υλικά και η αλληλεπίδραση απορροφώμενου νερού-υποστρώματος είναι ισχυρή. Το απορροφώμενο νερό αυξάνεται με την αύξηση της RH , καταλήγοντας σε πλατώ, αφού δημιουργείται ένα μόνο στρώμα νερού.
- 2^ο διάγραμμα: Η **γενικότερη** περίπτωση. Δημιουργούνται πολλαπλά στρώματα προσρόφησης νερού. Το πλατώ συμβολίζει την περιοχή όπου δημιουργείται το πρώτο στρώμα νερού. Έπειτα αναπτύσσονται συσσωματώματα νερού.
- 3^ο διάγραμμα: Δημιουργούνται πολλαπλά στρώματα νερού. Δεν υπάρχει η περιοχή του πλατώ. Η αλληλεπίδραση απορροφώμενου νερού-υποστρώματος είναι ασθενής.
- 4^ο διάγραμμα: Μονοστρωματική προσρόφηση νερού και τριχοειδής συμπίκνωση. Τριχοειδή φαινόμενα συμβαίνουν όταν ένα σώμα σε υγρή κατάσταση έρχεται σε επαφή με ένα στερεό. Οι δυνάμεις που αναπτύσσονται τότε μεταξύ νερού και στερεού (εδώ, του πολυμερούς) υπερνικούν τις δυνάμεις μεταξύ των μορίων νερού.

- 5^ο διάγραμμα: Πολυστρωματική προσρόφηση νερού και τριχοειδής συμπύκνωση.

Γενικότερα, μία καμπύλη ισόθερμης υδάτωσης μπορεί να χωριστεί σε τρεις επιμέρους περιοχές. Η πρώτη αφορά στο νερό που συνδέεται με το υλικό με ισχυρούς δεσμούς (1^ο στρώμα υδάτωσης, 1^ο πλατώ). Αυτό το νερό δεν παγώνει, ούτε μπορεί να αντιδράσει χημικά. Στη δεύτερη περιοχή, το νερό δε σχηματίζει τόσο ισχυρούς δεσμούς με το υλικό (ανώτερα στρώματα υδάτωσης). Αυτό το νερό χρησιμεύει ως διαλύτης και συμμετέχει σε ορισμένες βιοχημικές αντιδράσεις. Στην τρίτη περιοχή, το νερό βρίσκεται στη φάση ελεύθερου ρευστού (μεγάλες RH), λειτουργεί και πάλι ως διαλύτης και υποβοηθά την κίνηση των διαφόρων ουσιών μέσα σε αυτό.

3.2.2 Θεωρία Langmuir

Η εν λόγω θεωρία[11, 31] συσχετίζει την απορρόφηση μορίων νερού από το πολυμερές με την πίεση των υδρατμών που υπάρχουν πάνω ή γύρω από αυτό, δηλ. με την RH , υπό σταθερή θερμοκρασία. Η σταθερή θερμοκρασία διασφαλίζει πως δεν αλλάζει η ενέργεια ενεργοποίησης των μηχανισμών των δομών του πολυμερούς. Στη θεωρία Langmuir, όλα τα σημεία προσρόφησης νερού είναι ισοδύναμα.[22]

Η εξίσωση Langmuir δίνεται παρακάτω[31, 33]:

$$h = h^* \frac{KP}{1 + KP} \quad (3.3)$$

όπου h =συγκέντρωση απορροφημένων υδρατμών μες στο στερεό,

h^* =συγκέντρωση απορροφημένων υδρατμών μες στο στερεό στην κατάσταση κορεσμού,

K =σταθερά Langmuir &

P =πίεση υδρατμών.

✓ Βασική προϋπόθεση αυτής της θεωρίας είναι να μην αλληλεπιδρούν μεταξύ τους τα προσροφώμενα μόρια νερού.

3.2.3 Εξίσωση BET

Ένα μαθηματικό μοντέλο για την περιγραφή της ισόθερμης υδάτωσης είναι η Εξίσωση Brunauer-Emmett-Teller (BET) & είναι η ακόλουθη[34]:

$$\frac{a_w}{(1 - a_w)m_t} = \frac{1}{h_m C} + \frac{(C - 1)a_w}{h_m C} \quad (3.4)$$

όπου a_w =ενεργότητα νερού≡ $RH(\%)$,

m_t =μάζα δοκιμίου τη χρονική στιγμή t ,

h_m =περιεκτικότητα σε νερό της πρώτης στοιβάδας &

C =ο λόγος της σταθερότητας του δεσμού του νερού στο πρώτο στρώμα προς αυτή των ανώτερων στρωμάτων.

ΟΙ ΠΡΟΫΠΟΘΕΣΕΙΣ ΤΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ[11, 34]

1. Οι θέσεις προσρόφησης ενός μορίου νερού στο πολυμερές είναι ενεργειακά ισοδύναμες.
2. Τα προσροφώμενα μόρια στην πρώτη στοιβάδα νερού γίνονται νέες θέσεις για το σχηματισμό της επόμενης στοιβάδας κ.ο.κ.
3. Οι συνθήκες εξάτμισης και συμπύκνωσης είναι ίδιες.

3.2.4 Εξίσωση GAB

Ένα άλλο γνωστό μαθηματικό μοντέλο που προσομοιώνει τις καμπύλες ισόθερμης ρόφησης νερού ανέπτυξαν οι Guggenheim - Anderson - de Boer, από τα αρχικά των οποίων πήρε το μοντέλο το όνομά του. Αυτό ισχύει και για υψηλότερες ενεργότητες νερού (BET για $a_w \leq 0.5$, ενώ GAB για $a_w \leq 0.9$) και κάνει πολύ καλύτερες προβλέψεις από την BET, ειδικά στις χαμηλές RH , δηλ. για τα πρώτα στρώματα υδάτωσης[22]. Ενδιαφέρει πολύ, βέβαια, να είναι αξιόπιστα τα προβλεπόμενα από το μοντέλο αποτελέσματα και για μεγαλύτερες RH , αφού σε αυτές λαμβάνουν χώρα οι περισσότερες βιοχημικές αντιδράσεις.

Η εξίσωση GAB χρησιμοποιεί **3** -αντί για 2- παραμέτρους και είναι αυτή που εφαρμόζεται σε αυτή την εργασία για την προσαρμογή των πειραματικών σημείων του διαγράμματος $h_d - RH^2$ στο πείραμα ESI.

Η GAB περιγράφεται από τη σχέση:

$$h_d = \frac{CKa_w h_m}{(1 - Ka_w)(1 - Ka_w + CKa_w)} \quad (3.5)$$

όπου $a_w = \frac{RH(\%)}{100}$,

h_d =ποσοστό υδάτωσης (επί της ξηρής μάζας) &

C, K, h_m =οι τρεις παράμετροι που προσδιορίζονται για κάθε καμπύλη.[35]

Η φυσική ερμηνεία των παραμέτρων της GAB[28]

- h_m : Είναι το ποσοστό υδάτωσης του δοκιμίου όταν σχηματίζεται η πρώτη στοιβάδα νερού (πρώτο πλατώ).
- C : Είναι ο λόγος της σταθερότητας του δεσμού του νερού στο πρώτο στρώμα προς αυτή των ανώτερων στρωμάτων. Όσο πιο μεγάλο το C , τόσο πιο ισχυροί είναι οι δεσμοί που αναπτύσσονται μεταξύ νερού-πολυμερικού υλικού. Η σταθερά C είναι θετική.
- K : Είναι ο λόγος του χημικού δυναμικού του νερού στα διάφορα στρώματα νερού προς αυτό του ελεύθερου (bulk) νερού, για τις ίδιες συνθήκες θερμοκρασίας και πίεσης. Σύμφωνα με τη Θερμοδυναμική, το K είναι μικρότερο ή ίσο της μονάδας, καθώς το δέσιμο νερό είναι γενικά σταθερότερο από το ελεύθερο. Οι πολύ μικρές τιμές του K φανερώνουν υδρόφοβο υλικό, ενώ οι τιμές κοντά στη μονάδα δείχνουν πως πρόκειται για ένα υδρόφιλο υλικό. Για $K=1$ το μοντέλο GAB δίνει τα ίδια αποτελέσματα με το μοντέλο BET.

²Αυστηρά η εξίσωση προσαρμογής αφορά δεδομένα $h_d - a_w$, αλλά $RH = a_w \times 100$.

3.3 Το φαινόμενο της Διάχυσης

Η **Διάχυση** είναι η γενική τάση των μορίων ή ατόμων να κινούνται από περιοχές υψηλής σε περιοχές χαμηλής συγκέντρωσης. Το φαινόμενο αυτό είναι εντροπικό, διότι βασίζεται κυρίως στην τυχαία κίνηση των ατόμων και μορίων της διαχεόμενης ουσίας (εδώ: του νερού). Επιπλέον, επηρεάζεται από το μοριακό βάρος και τη φυσική κατάσταση του διαλύτη (αέρια ή υγρή).[27]

Σύμφωνα με τη «Μοριακή Θεωρία Ελεύθερου Όγκου», η κίνηση των διαχεόμενων μορίων εξαρτάται από τη μορφολογία και το διαθέσιμο ελεύθερο χώρο του πολυμερούς, ενώ η διαδικασία της διάχυσης διευκολύνεται όταν τα διαχεόμενα μόρια καταφέρνουν να υπερνικήσουν τις ελκτικές δυνάμεις αλληλεπίδρασης μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων. Στις υδρογέλες συγκεκριμένα, παίζει ρόλο η πυκνότητα των σταυροδεσμών, καθώς όσο περισσότεροι υπάρχουν τόσο περισσότερες είναι οι υδροξυλικές ομάδες (-OH) και τόσο περισσότερα μόρια νερού έλκονται από αυτές, σχηματίζοντας ισχυρούς δεσμούς υδρογόνου που δυσχεραίνουν τη διαδικασία της διάχυσης.

Υπάρχουν τρία μοντέλα διάχυσης. Στο πρώτο (Hole Vacancy Theorem), το πολυμερές δημιουργεί κατάλληλη κοιλότητα μέσα στην οποία διαχέονται μόρια νερού. Στο δεύτερο (Activated Complex Theorem), τα διαχεόμενα μόρια νερού κινούνται με μεγαλύτερη ενέργεια από το ενεργειακό φράγμα της πολυμερικής μήτρας. Στο τελευταίο (Fluctuation Theorem), οι θερμικές διακυμάνσεις που λαμβάνουν χώρα στο πολυμερικό πλέγμα δημιουργούν το «διάδρομο» για να μετακινηθούν τα μόρια νερού.[27, 36]

3.3.1 Ο Συντελεστής Διάχυσης

Πρόκειται για μια σταθερά αναλογίας μεταξύ της ροής μορίων και της βαθμίδας συγκέντρωσης μιας ουσίας. Ο Συντελεστής Διάχυσης συμβολίζεται με το γράμμα D , τα αποτελέσματα δίνονται σε $[m^2s^{-1}]$ (S.I.) & προκύπτει άμεσα από το 2^ο Νόμο του Fick, όπως θα φανεί παρακάτω. Όσο μεγαλύτερος είναι ο συντελεστής διάχυσης, τόσο γοργότερα διαχέεται η ουσία (εδώ: το νερό) στο υλικό (εδώ: στις υδρογέλες) κι αντίστροφα. Έμμεσα λαμβάνεται και η πρόσθετη πληροφορία πως το δοκίμιο είναι αραιά δομημένο, όταν ο D είναι μεγάλος, και πυκνά δομημένο, όταν ο D είναι μικρός.

Ο συντελεστής διάχυσης είναι αρχικά μικρός, αφού το δείγμα ξεκινά στο πείραμα ESI από την ξηρή κατάσταση. Κατά τη σταδιακή αύξηση της RH και καθώς αρχίζουν να σχηματίζονται συμπλέγματα νερού, ο συντελεστής D αυξάνεται. Οι D είναι συνήθως μεγαλύτεροι στην εκρόφηση σε σχέση με τη ρόφηση. Αυτό υποδεικνύει πως τα εμπόδια στην κίνηση και διάχυση του νερού είναι περισσότερα και οι «υδάτινοι δρόμοι» είναι λιγότεροι κατά τη ρόφηση παρά στην εκρόφηση.

Σύμφωνα με τον **Arrhenius**, ο συντελεστής διάχυσης έχει εξάρτηση κι από τη θερμοκρασία:

$$D = D_0 \exp\left(\frac{E_D}{RT}\right) \quad (3.6)$$

όπου E_D = η ενέργεια ενεργοποίησης της διάχυσης.[27, 37]

Γι' αυτό το λόγο, η σειρά πειραμάτων ESI διεξάχθηκε ισόθερμα.

Τέλος, ο συντελεστής D συνδέεται αντιστρόφως ανάλογα με το χρόνο $t_{1/2}$ που είναι ο χρόνος στον οποίο το δοκίμιο φτάνει στη μισή μάζα από τη μάζα ισορροπίας κατά τη ρόφηση ή εκρόφηση. Συγκεκριμένα, ισχύει πως:

$$D = \frac{0.049L^2}{t_{1/2}} \quad (3.7)$$

όπου L = το πάχος του δοκιμίου.[27, 38]

3.3.2 Οι Νόμοι του Fick

1^{ος} Νόμος: [27]

Ο ρυθμός μεταφοράς μιας ουσίας είναι ανάλογος της συγκέντρωσης του διαλύτη στην περιοχή της διάχυσης.

$$q = -D \frac{\partial C}{\partial x} \quad (3.8)$$

όπου q = ρυθμός μεταφοράς της διαχεόμενης ουσίας ανά μονάδα επιφάνειας,

C = συγκέντρωση του διαλύτη &

x = η κατεύθυνση της διάχυσης.

2^{ος} Νόμος:[27]

Δίνεται, στη γενικότερή του μορφή, στις τρεις διαστάσεις.

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \right) \quad (3.9)$$

Απλουστεύοντας τον παραπάνω τύπο στη μία διάσταση (έστω x) και με την επιπλέον υπόθεση πως το πάχος του δοκιμίου ΔEN αλλάζει κατά τη ρόφηση και εκρόφηση νερού,[31] μπορεί κανείς να υπολογίσει άμεσα το συντελεστή D .

3.3.3 Γραμμική Προσαρμογή Καμπύλης προς Υπολογισμό του D

Για κάθε σχετική υγρασία και από το γραμμικό κομμάτι (χαμηλές RH) του διαγράμματος της κανονικοποιημένης μάζας $m_n = \frac{m_t - m_0}{m_{equil} - m_0}$ συναρτήσει της τετραγωνικής ρίζας της διαφοράς χρόνου $\sqrt{t - t_0}$ υπολογίζεται η κλίση, έστω λ_D . Έπειτα, με χρήση της εξίσωσης[31, 39]:

$$\frac{\Delta m_{t_0}}{\Delta m_{t_{inf}}} = 4 \sqrt{\frac{D}{\pi L^2}} \times \sqrt{t_0} \quad (3.10)$$

ο συντελεστής διάχυσης ταυτίζεται με:

$$D \equiv \frac{\pi \lambda_D L^2}{16} \quad (3.11)$$

3.3.4 Προσαρμογή Ολόκληρης της Καμπύλης προς Υπολογισμό του D

Στην περίπτωση που ο δεύτερος Νόμος του Fick αποτύχει να περιγράψει σωστά το φαινόμενο της διάχυσης, υπάρχει ένας δεύτερος τρόπος υπολογισμού του D που πραγματοποιείται βάσει ενός πιο εμπειρικού μοντέλου. Αυτό προτάθηκε από τους Μαγγανά και Πίσση[28] και χρησιμοποιεί ολόκληρη την καμπύλη $m_t(t)$, όχι μόνο το γραμμικό της κομμάτι.

Η καμπύλη $m_t(t)$ προσομοιώνεται από την εξίσωση:

$$m_t = m_0 + \Delta m \left[1 - \exp \left(-7.3 \times \frac{Dt^{0.75}}{L^2} \right) \right] \quad (3.12)$$

όπου $m_0 \equiv m(t = 0)$, $\Delta m = m_{equil} - m_0$ και $D=0$ συντελεστής διάχυσης είναι οι **τρεις παράμετροι υπολογισμού** του μοντέλου.[28]

Έτσι, εκτός του ζητούμενου D υπολογίζεται και η μάζα ισορροπίας του δοκιμίου (m_{equil}),

αφού -όπως θα φανεί στο Κεφάλαιο 5- δεν προφταίνει να ισορροπήσει το υπό μελέτη δείγμα σε όλες τις σχετικές υγρασίες. Χωρίς αυτή τη μέθοδο ανάλυσης των πειραματικών αποτελεσμάτων, η μάζα ισορροπίας θα χρειαζόταν να δοθεί προσεγγιστικά.

Κεφάλαιο 4

Η Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης & Η Θερμοδυναμική των Μεταβάσεων Φάσης

Οι μεταβάσεις φάσεων των υδρογελών σε διάφορα ποσοστά υδάτωσης μελετήθηκαν με τη μέθοδο Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης (DSC). Σε αυτό το πείραμα μετριέται η διαφορά θερμότητας μεταξύ ενός αδρανούς υλικού αναφοράς και του εκάστοτε δείγματος συναρτήσει της θερμοκρασίας. Το μηχάνημα αυξάνει ή μειώνει την παρεχόμενη ισχύ θερμότητας, με σκοπό οι θερμοκρασίες των δύο κυψελίδων να είναι ίσες καθ' όλη τη διάρκεια των μετρήσεων. Από τα πειραματικά αποτελέσματα προκύπτει το θερμόγραμμα, τα σημεία του οποίου δείχνουν τη ροή θερμότητας συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας.[40]

4.1 Μεταβάσεις Φάσης Πρώτης Τάξης

Η Θερμοδυναμική ορίζει πως όταν πραγματοποιούνται μεταβάσεις φάσης Α΄ τάξης, η **πρώτη** παράγωγος της ελεύθερης ενέργειας Gibbs παρουσιάζει ασυνέχεια. Σε αυτές τις μεταβάσεις ανήκουν οι διαδικασίες Κρυστάλλωσης, Ψυχρής Κρυστάλλωσης και Τήξης.

Τα φαινόμενα αυτά μπορούν να παρατηρηθούν πειραματικά μέσω της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης, είτε αν ψυχθεί/θερμανθεί το δοκίμιο με κάποιο ρυθμό είτε αν αφεθεί στην κρίσιμη θερμοκρασία ισόθερμα για κάποιο χρονικό διάστημα. Ο ρυθμός ψύξης ή θέρμανσης και η μάζα του δοκιμίου επηρεάζουν την κρίσιμη θερμοκρασία στην οποία θα γίνει κρυστάλλωση ή τήξη.

Στην **Κρυστάλλωση** το υλικό ψύχεται και τα μόρια νερού τακτοποιούνται όπως σε κρυσταλλικές δομές. Η διαδικασία είναι εξώθερμη, δηλ. εκλύεται ενέργεια προς το περιβάλλον. Το φαινόμενο της κρυστάλλωσης πραγματοποιείται σε δύο στάδια. Στο πρώτο σχηματίζονται πυρήνες κρυστάλλων ικανού μεγέθους και στο δεύτερο αναπτύσσονται περαιτέρω οι κρύσταλλοι με βάση τους υπάρχοντες πυρήνες.[40] Στα διαγράμματα του δεύτερου πειράματος (DSC) αυτής της εργασίας η κρυστάλλωση θα εμφανίζεται ως εξώθερμη κορυφή προς τα κάτω, καθώς συμβατικά οι ενδόθερμες διαδικασίες έχουν οριστεί προς τα επάνω.

Η **Ψυχρή Κρυστάλλωση** συμβαίνει όταν το νερό κρυσταλλοποιείται κατά τη θέρμανση. Πρόκειται για ένα ιδιαίτερο φαινόμενο, το οποίο συναντάται όταν -μετά τη θερμοκρασία υαλώδους μετάβασης- υπάρχει αρκετή κινητικότητα και χώρος στις πολυμερικές αλυσίδες, ώστε να είναι εφικτός ο σχηματισμός κρυστάλλων πάγου με βάση πυρήνες που είχαν δημιουργηθεί κατά την ψύξη αλλά δεν έγινε εφικτή η ανάπτυξή τους σε κρυστάλλους. Κατά τη ψυχρή κρυστάλλωση εκλύεται πάλι θερμότητα από το δοκίμιο στο περιβάλλον και η ροή θερμότητας που παρέχεται από το μηχάνημα στην κυψελίδα του δοκιμίου είναι μικρότερη από τη ροή θερμότητας που παρέχεται προς την κυψελίδα αναφοράς.[40]

Κατά την **Τήξη** οι δεσμοί που δημιουργήθηκαν στα δύο είδη κρυστάλλωσης καταρρέουν. Η τήξη πραγματοποιείται εξ ολοκλήρου σε ένα στάδιο. Πρόκειται για μια ενδόθερμη διαδικασία, αφού απαιτείται προσφορά ενέργειας στο δοκίμιο για να συμβεί. Στα διαγράμματα της DSC, η τήξη είναι μία ενδόθερμη κορυφή προς τα επάνω.[11, 40, 41]

Μεγάλη σημασία έχει η θερμική προϊστορία του δοκιμίου (ανόπτηση, γήρανση κλπ.) όταν υπολογίζεται η θερμοκρασία τήξης (T_m). Για να σβήσει κανείς τη θερμική προϊστορία ενός δοκιμίου ακολουθεί την εξής διαδικασία[40]:

- Αύξηση της θερμοκρασίας μέχρι 30 βαθμούς πάνω από την T_m με ρυθμό $10K/min$
- Διατήρηση της θερμοκρασίας εκεί για 10 λεπτά
- Μείωση της θερμοκρασίας μέχρι 50 βαθμούς κάτω από την T_{cr}

Μετά από αυτή τη διαδικασία, ο ακόλουθος κύκλος μετρήσεων στη DSC δίνει αποτελέσματα ανεξάρτητα της προϊστορίας του δοκιμίου. Τέλος, σημειώνεται πως όσο το ποσοστό νερού στο δείγμα αυξάνεται, τόσο τα φαινόμενα κρυστάλλωσης και τήξης γίνονται πιο έντονα.

4.2 Μετάβαση Φάσης Δεύτερης Τάξης

Στις μεταβάσεις Β' τάξης παρουσιάζει ασυνέχεια η **δεύτερη** παράγωγος της ελεύθερης ενέργειας Gibbs. Η αλλαγή φάσης Β' τάξης που μελετήθηκε σε αυτή την εργασία είναι η **Υαλώδης Μετάβαση** στις υδρογέλες.

Πρόκειται για μία διαδικασία χαρακτηριστική των άμορφων υλικών, όπως είναι τα πολυμερή. Από τη χαρακτηριστική θερμοκρασία (T_g) που συμβαίνει αυτή η μετάβαση και κάτω, τα μόρια του πολυμερούς δεν έχουν επαρκή ενέργεια για να κινηθούν και το υλικό υαλοποιείται. Η υαλώδης μετάβαση έχει κινητικό χαρακτήρα, οπότε η υαλώδης κατάσταση δε συμπεριλαμβάνεται στις καταστάσεις θερμοδυναμικής ισορροπίας.[40] Επίσης, στην υαλώδη κατάσταση η ενθαλπία μειώνεται με το χρόνο, φαινόμενο που ονομάζεται «Φυσική Γήρανση» ενός υλικού.[40]

Η T_g εμφανίζεται ως αλλαγή στην κλίση ή βήμα στα θερμογράμματα, εξαρτάται από το ρυθμό ψύξης ή θέρμανσης που εφαρμόζεται και προτιμάται να υπολογίζεται κατά τη θέρμανση που υπάρχει μεγαλύτερη ευκίνησια στο πολυμερές. Βήμα στη ροή θερμότητας σημαίνει πρακτικά πως αυξάνεται η παρεχόμενη ισχύς από τη διάταξη προς την κυψελίδα με το δείγμα, έτσι ώστε να παραμένουν ίδιες οι θερμοκρασίες στις κυψελίδες δείγματος κι αναφοράς. Στη Θερμοδυναμική το βήμα στη ροή θερμότητας ισοδυναμεί με αλλαγή στην ειδική θερμοχωρητικότητα C_p που συμβαίνει επειδή αλλάζουν οι βαθμοί ελευθερίας του υλικού όταν πραγματοποιείται η υαλώδης μετάβαση.

Όπως θα δούμε στο κεφάλαιο 6, στα μείγματα παρατηρούνται δύο ξεχωριστές T_g . Αυτό σηματοδοτεί πως τα συστατικά υλικά δεν είναι πλήρως αναμειγμένα και το καθένα κάνει τη δική του υαλώδη μετάβαση. Επιπλέον, ακόμα και λίγο νερό στην υδρογέλη αρκεί για να την πλαστικοποιήσει και να πραγματοποιηθεί υαλώδης μετάβαση.

4.3 Βαθμός Κρυσταλλικότητας

Ο βαθμός κρυσταλλικότητας είναι ένα άλλο χαρακτηριστικό των υλικών που υπολογίζεται εύκολα μέσω του πειράματος της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης. Κάνοντας την υπόθεση πως υπάρχουν δύο ξεχωριστές καταστάσεις στο υλικό, μία άμορφη και μία κρυσταλλική, υπολογίζεται ο βαθμός κρυσταλλικότητας ως ποσοστό επί τοις εκατό από τη σχέση:

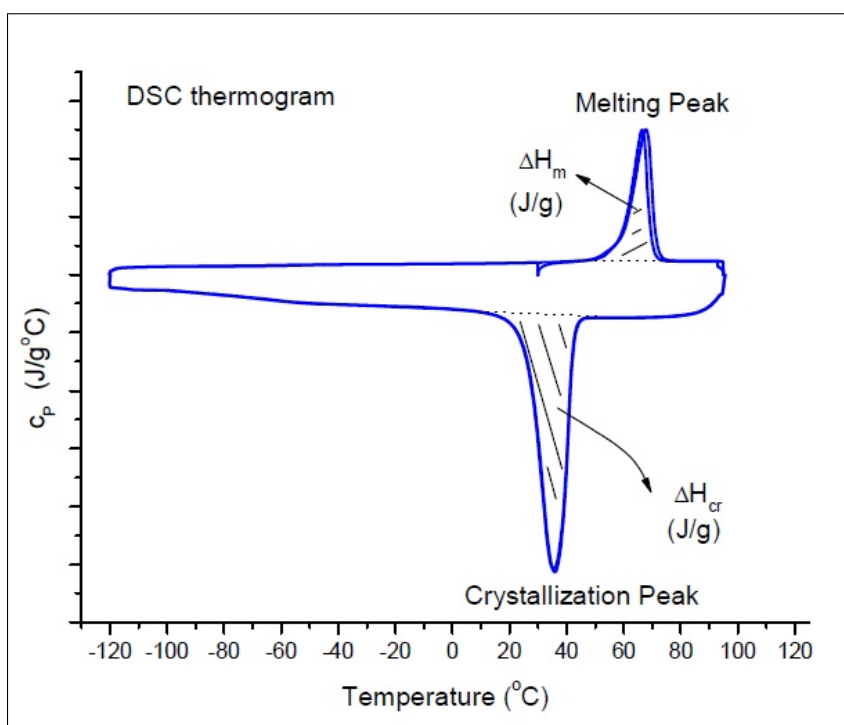
$$X_{cr}(\%) = \frac{\Delta H}{\Delta H_{100}} \times 100 \quad (4.1)$$

όπου ΔH = η ενθαλπία τήξης ή κρυστάλλωσης που υπολογίζεται άμεσα από το πείραμα & ΔH_{100} = η ενθαλπία του αντίστοιχου 100% κρυσταλλικού δοκιμίου.[40]

Σημειώνεται πως στους πίνακες που παρατίθενται στο κεφάλαιο 6, υπάρχει ένα ποσοστό κρυστάλλωσης που υπολογίζεται από την ενθαλπία **κρυστάλλωσης** και υποδεικνύει τί ποσοστό του νερού κρυσταλλώνεται μες στην υδρογέλη και δε συμμετέχει στην υαλώδη μετάβαση που συνήθως ακολουθεί κατά την ακόλουθη θέρμανση. Υπολογίζεται όμως κι ένα ποσοστό κρυστάλλωσης μέσω της ενθαλπίας **τήξεως**, ώστε να υπάρχει μία πλήρης εικόνα του ποσοστού νερού που παραμένει ή όχι κρυσταλλωμένο και κατά τη θέρμανση.

4.4 Υπολογισμοί Μεταβολής Ενθαλπίας ΔH & Ειδικής Θερμοχωρητικότητας ΔC_p

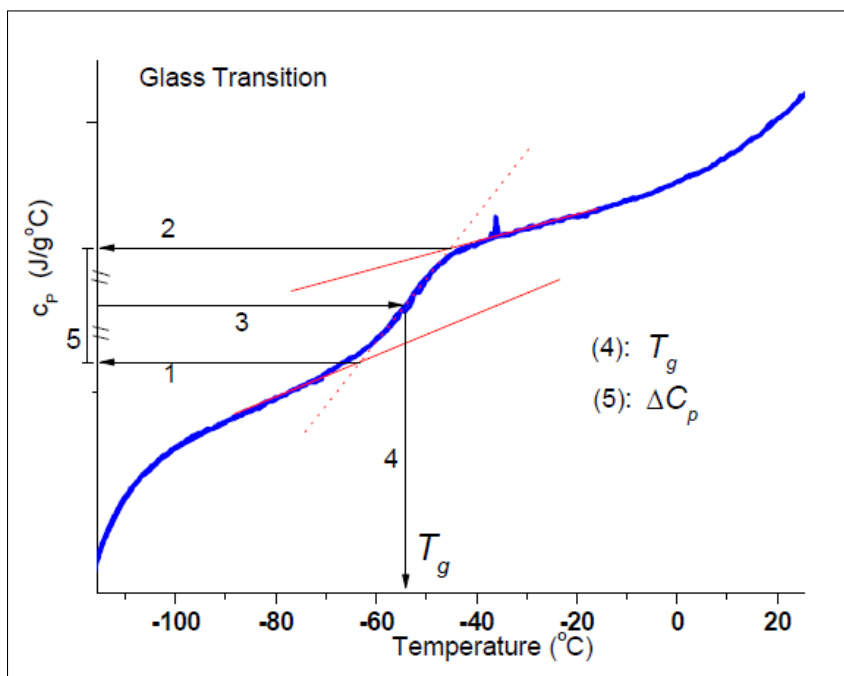
Από το πείραμα της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης αντλούνται οι τιμές της μεταβολής της ενθαλπίας στα φαινόμενα τήξης-κρυστάλλωσης-εξάτμισης ΔH_m , ΔH_{cr} , ΔH_{cc} και ΔH_{evap} , καθώς και οι ειδικές θερμοχωρητικότητες υπό σταθερή πίεση ΔC_p στις υαλώδεις μεταβάσεις. Σε αυτό το σημείο κρίνεται σκόπιμο να μελετηθεί ο τρόπος με τον οποίο υπολογίζονται τα παραπάνω θερμοδυναμικά μεγέθη¹. Στα διαγράμματα 4.1 και 4.2 παρατίθενται ενδεικτικές καμπύλες-θερμογράμματα, ώστε να περιγραφούν οι μέθοδοι ανάλυσης για κάθε μετάβαση φάσης ξεχωριστά.



ΣΧΗΜΑ 4.1: Διάγραμμα Υπολογισμού Ενθαλπίας Τήξης & Κρυστάλλωσης στη DSC.

Όλες οι μεταβάσεις φάσης πραγματοποιούνται σε ένα θερμοκρασιακό εύρος. Ωστόσο, ορίζεται η θερμοκρασία τήξης/κρυστάλλωσης να είναι συμβατικά η μέγιστη/ελάχιστη τιμή της ενδόθερμης/εξώθερμης κορυφής, αντίστοιχα. Η μεταβολή στην ενθαλπία -όπως φαίνεται από τις γραμμοσκιασμένες περιοχές του Σχήματος 4.1- υπολογίζεται από την περιοχή (εμβαδόν) που περικλύει η κάθε κορυφή.

¹Συγκεκριμένα, οι υπολογισμοί στο Κεφάλαιο 6 έγιναν με τη βοήθεια του λογισμικού της Thermal Analysis: **T.A. Universal Analysis**.



ΣΧΗΜΑ 4.2: Διάγραμμα Υπολογισμού Θερμοκρασίας και Ειδικής Θερμοχωρητικότητας στην Υαλώδη Μετάβαση στη DSC.

Υπάρχουν αρκετοί μέθοδοι υπολογισμού της T_g και της αντίστοιχης ΔC_p . Οι περισσότερες τιμές του Κεφαλαίου 6 προέκυψαν από τη μέθοδο που θα περιγραφεί σε αυτή την παράγραφο². Αυτή ορίζει τη θερμοκρασία υαλώδους μετάβασης εκεί όπου η μεταβολή στην ειδική θερμοχωρητικότητα είναι η μισή από τη συνολική.

Πιο συγκεκριμένα, ακολουθώντας τα βελάκια του Σχήματος 4.2: Πρώτα φέρνει κανείς τις κόκκινες ευθείες (baselines) πριν και μετά το βήμα υαλώδους μετάβασης, έπειτα την ευθεία του ίδιου του βήματος και τέλος οριζόντιες ευθείες από τα σημεία τομής των τριών παραπάνω ευθειών μέχρι τον άξονα C_p (βελάκια 1 και 2). Από το μισό της απόστασης των δύο σημείων τομής με τον άξονα C_p φέρνει κανείς παράλληλη μέχρι την μπλε καμπύλη και με προβολή στον άξονα των θερμοκρασιών βρίσκει το σημείο υπολογισμού της T_g (βελάκια 3 και 4). Τέλος, το σχήμα δείχνει πως η απόσταση (5) στον άξονα των θερμοχωρητικοτήτων ορίζει τη συνολική μεταβολή ΔC_p του βήματος υαλώδους μετάβασης.[42]

²Μία εναλλακτική μέθοδος υπολογισμού για βήματα χωρίς εμφανείς baselines χρησιμοποιεί το σημείο καμπής (inflection point) ως σημείο υπολογισμού της T_g .

Κεφάλαιο 5

Μετρήσεις Ρόφησης-Εκρόφησης Νερού

5.1 Γενικά

Μία πρώτη μελέτη των φυσικών ιδιοτήτων των υδρογελών έγινε όσον αφορά στην απόκρισή τους με το νερό. Δεδομένου πως τα υλικά αυτά προορίζονται -όπως προαναφέρθηκε- για βιολογικούς ιστούς, οι οποίοι αποτελούνται κατά κύριο λόγο από νερό, ήταν πολύ σημαντικό να εξεταστεί η υδροφιλικότητά τους και η συμβατότητά τους με το υδάτινο περιβάλλον που θα επικρατεί στους βιολογικούς ιστούς. Αυτό επιτεύχθηκε μέσω των πειραμάτων ισόθερμης ρόφησης-εκρόφησης νερού σε ισορροπία.

Πιο συγκεκριμένα, εξετάστηκαν οι συντελεστές διάχυσης των δοκιμίων, διότι ενδιαφέρει ερευνητικά η ευκολία με την οποία διαχέονται μέσω των ικριωμάτων το νερό, οι θρεπτικές ουσίες και τα βιολογικά απόβλητα. Επίσης, προσδιορίστηκαν οι καμπύλες υδάτωσής τους, δηλαδή τα ποσοστά προσροφούμενου νερού των υδρογελών, καθώς αυξανόταν ή μειωνόταν η σχετική υγρασία στο περιβάλλον τους.

5.2 Ο εργαστηριακός εξοπλισμός

Το μηχάνημα που χρησιμοποιήθηκε για τα πειράματα των Ισόθερων Ροφήσεων-Εκροφήσεων νερού είναι το VTI-SA+ Vapor Sorption Analyser της εταιρίας Thermal Analysis (T.A. Instruments).

ΕΞΑΡΤΗΜΑΤΑ:

1. Μονωμένος Θάλαμος με ζυγό δύο (2) βάσεων
2. Αποσπώμενος Υγροποιητής (Saturator)
3. Αισθητήρας Σημείου Δρόσου
4. Θερμόμετρο με αντίσταση από πλατίνα
5. Οκτώ (8) Βαλβίδες
6. Σύστημα Εξάτμισης (Exhaust)
7. Σύστημα Καθαρισμού (Purge)
8. Σύστημα Ασφάλειας (Safety)



ΣΧΗΜΑ 5.1: Δείγμα Γαλουρονικού Οξέος μες στο ζυγό της πειραματικής διάταξης.

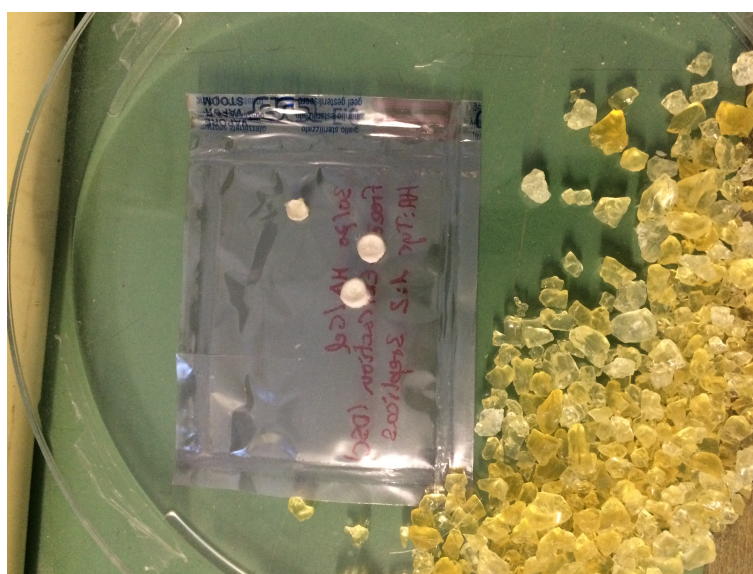
Το όργανο τροφοδοτείται με νερό ή οργανικούς διαλύτες, δημιουργεί υδρατμούς και προκαλεί στο θάλαμο με το ζυγό αυστηρά καθορισμένες συνθήκες θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας. Οι βαλβίδες ελέγχουν αν διοχετεύεται στο θάλαμο υγρό ή ξηρό άζωτο, ενώ η ρύθμιση της σχετικής υγρασίας γίνεται από τον αισθητήρα σημείου δρόσου. Στη συνέχεια, οι υδρατμοί οδηγούνται στο σύστημα εξάτμισης.

Το εκάστοτε δείγμα τοποθετείται στη μία βάση του ζυγού. Για την καταγραφή της μάζας όταν ξεκινήσει το πείραμα, η βάση με το δείγμα συνδέεται με την άδεια βάση αναφοράς μέσω μιας αλυσίδας.

Τέλος, για την ασφάλεια του μηχανήματος, υπάρχει το σύστημα ανίχνευσης καπνού. Αν το σύστημα χρειαστεί να λειτουργήσει με οργανικό διαλύτη και υπάρξει διαρροή εύφλεκτου υγρού, ανάβει η ένδειξη συναγερμού και το κύκλωμα διακόπτει την τροφοδοσία του ρεύματος.[29]

5.3 Προετοιμασία Δειγμάτων

Οι υδρογέλες παράχθηκαν στο Πολυτεχνείο της Βαλένθια (UPV), όπου και ξηράνθηκαν. Στο εργαστήριο αποθηκεύονταν σε σκιαρό και δροσερό περιβάλλον, μέσα σε ερμητικά κλειστές συσκευασίες και παρουσία πυριτίας.



ΣΧΗΜΑ 5.2: Αποθήκευση Υδρογελών

Πριν από το πείραμα όλα τα δείγματα πιέστηκαν με θερμοπρέσσα. Επίσης, οι υδρογέλες ζυγίστηκαν για να υπάρχει μία πρώτη εκτίμηση της ξηρής μάζας τους και μετρήθηκε το πάχος τους που χρειάζεται στους υπολογισμούς των συντελεστών διάχυσης.

Οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν για κάθε δοκίμιο είχαν το εξής πρωτόκολλο:

- Ξήρανση, στους 25 βαθμούς Κελσίου, για 3 ώρες
- Ρόφηση Νερού (sorption), με σχετικές υγρασίες 10,20,...,90 και 95 %
- Εκρόφηση Νερού (desorption), με σχετικές υγρασίες 85,75,55,35,15 και 5 %
- Επαναρρόφηση Νερού¹ (resorption), με σχετικές υγρασίες 10,20,...,60 και 70 %

Το μηχάνημα προγραμματίστηκε έτσι ώστε να παραμένει σε κάθε σχετική υγρασία για 10 ώρες, ούτως ώστε το δοκίμιο να προλάβει να ισορροπήσει σε καθεμία από αυτές.

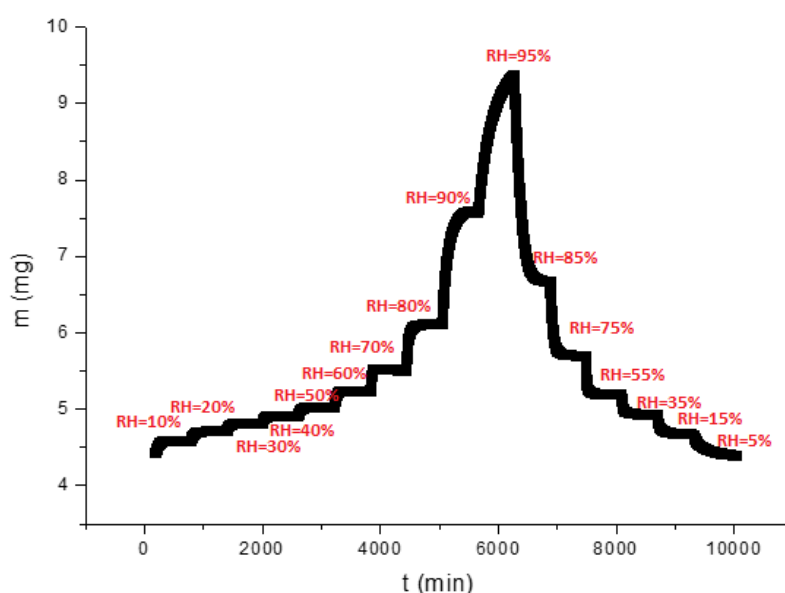
¹Το βήμα αυτό ήταν επιπρόσθετο και πραγματοποιήθηκε σε ορισμένα μόνο δοκίμια.

5.4 Αποτελέσματα Μετρήσεων

Τα αποτελέσματα που λαμβάνουμε από το εν λόγω πείραμα μπορούν να χωριστούν σε δύο διακριτές μελέτες:

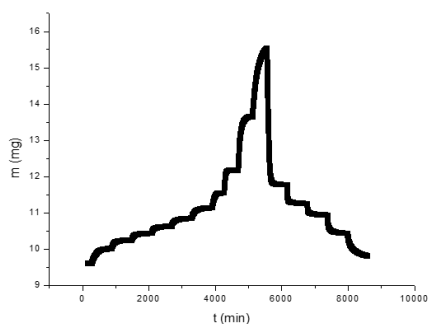
- Ισόθερμες Καμπύλες Υδάτωσης, οι οποίες καταδεικνύουν την ποσότητα νερού που απορροφά το δοκίμιο σε κάθε ποσοστό σχετικής υγρασίας και
- Συντελεστές Διάχυσης, οι οποίοι καταδεικνύουν πόσο εύκολα και γρήγορα μπορεί το νερό να διαχυθεί μέσα στις πολυμερικές δομές.

5.4.1 Τα πρώτα αποτελέσματα του ESI

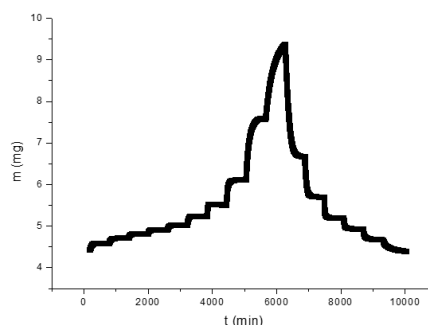


ΣΧΗΜΑ 5.3: Δοκίμιο ΗΑ. Διάγραμμα μάζας-χρόνου για τους κύκλους ρόφησης-εκρόφησης στις διάφορες RH του πρωτοκόλλου μετρήσεων.

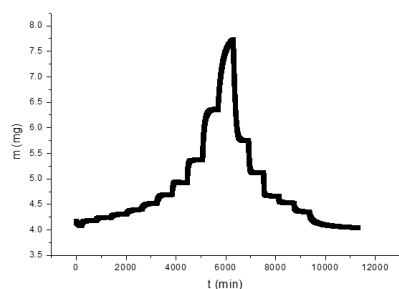
Στα Σχήματα 5.3 καθώς και 5.4 έως 5.8 παρουσιάζονται οι καμπύλες που εμφανίζονται αυτόματα στην οθόνη του συνδεδεμένου με το VTI υπολογιστή, κατά τη διάρκεια του πειράματος. Αυτά είναι τα πρώτα αποτελέσματα που λαμβάνονται από το πείραμα και δείχνουν πόσο αλλάζει η μάζα του κάθε δοκιμίου στον άξονα του χρόνου, δηλαδή πόσο νερό απορροφάται από το δοκίμιο καθώς αυτό παραμένει σε μία σχετική υγρασία. Παρατηρείται πως στις περισσότερες σχετικές υγρασίες τα δοκίμια φτάνουν σε ισορροπία, εκτός από τις πολύ υψηλές, όπου αυξάνει συνεχώς η μάζα και το υλικό δεν καταφέρνει να ισορροπήσει.



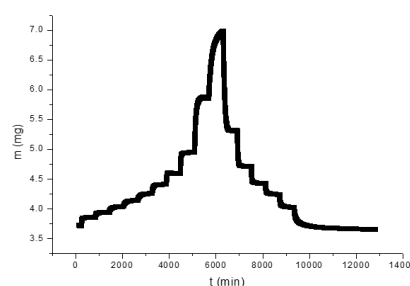
ΣΧΗΜΑ 5.4: Διάγραμμα μάζας συναρτήσει χρόνου στους κύκλους ρόφησης-εκρόφησης. Δοκίμιο Ζελατίνης.



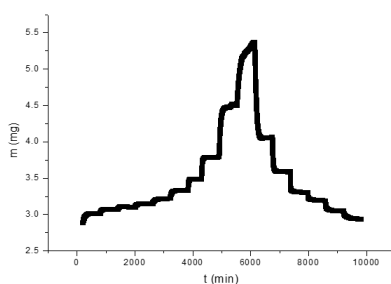
ΣΧΗΜΑ 5.5: Διάγραμμα μάζας συναρτήσει χρόνου στους κύκλους ρόφησης-εκρόφησης. Δοκίμιο ΗΑ.



ΣΧΗΜΑ 5.6: Διάγραμμα μάζας συναρτήσει χρόνου στους κύκλους ρόφησης-εκρόφησης. Δοκίμιο 30/70 ΗΑ/GEL.

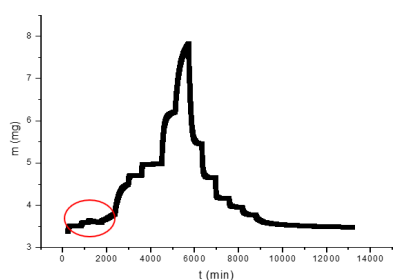


ΣΧΗΜΑ 5.7: Διάγραμμα μάζας συναρτήσει χρόνου στους κύκλους ρόφησης-εκρόφησης. Δοκίμιο 70/30 ΗΑ/GEL.

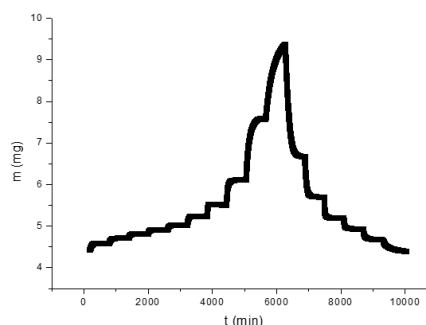


ΣΧΗΜΑ 5.8: Διάγραμμα μάζας συναρτήσει χρόνου στους κύκλους ρόφησης-εκρόφησης. Δοκίμιο 50/50 ΗΑ/GEL.

Από αυτές τις πρωταρχικές καμπύλες και απομονώνοντας κάθε σχετική υγρασία σε ξεχωριστό διάγραμμα, προχωράει κανείς στις επόμενες καμπύλες, $m_t - t$, από τις οποίες υπολογίζονται οι συντελεστές διάχυσης. Επιπλέον, χρησιμοποιούνται οι μάζες ισορροπίας m_{equil} για τον υπολογισμό των ποσοστών υδάτωσης επί της ξηρής μάζας (Σχέση 3.1) και τελικά προκύπτουν τα διαγράμματα $h_d - RH$ που ονομάζονται Ισόθερμες Καμπύλες Υδάτωσης.



ΣΧΗΜΑ 5.9: Διάγραμμα μάζας συναρτήσει χρόνου στους κύκλους ρόφησης-εκρόφησης. Δοκίμιο Υαλουρονικού Οξέος, πιεσμένο.



ΣΧΗΜΑ 5.10: Διάγραμμα μάζας συναρτήσει χρόνου στους κύκλους ρόφησης-εκρόφησης. Δοκίμιο Υαλουρονικού οξέος, ασυμπιεστό.

Στα Σχήματα 5.9 και 5.10 παρουσιάζονται τα διαγράμματα μάζας-χρόνου για τις δύο μορφές στις οποίες εξετάστηκε το Υαλουρονικό Οξύ: πιεσμένο και ασυμπιεστό². Η μέτρηση που πραγματοποιήθηκε στο πιεσμένο δοκίμιο παρουσίασε ασυνήθιστη συμπεριφορά (χρόνοι $\leq 3000min$) και επαναλήφθηκε για το ασυμπιεστό.

Στη συνέχεια του κεφαλαίου 5, πρόκειται να παρουσιαστούν και συζητηθούν διαγράμματα **μόνο** του ασυμπιεστού Υαλουρονικού Οξέος προς σύγκριση με τα υπόλοιπα δοκίμια, μιας και οι μετρήσεις αυτές θεωρούνται πιο αξιόπιστες. Ορισμένα αποτελέσματα για το πιεσμένο δείγμα, καθώς και συγκριτικά αποτελέσματα πιεσμένου-ασυμπιεστού Υαλουρονικού Οξέος παρατίθενται στο Παράρτημα Α' αυτής της εργασίας.

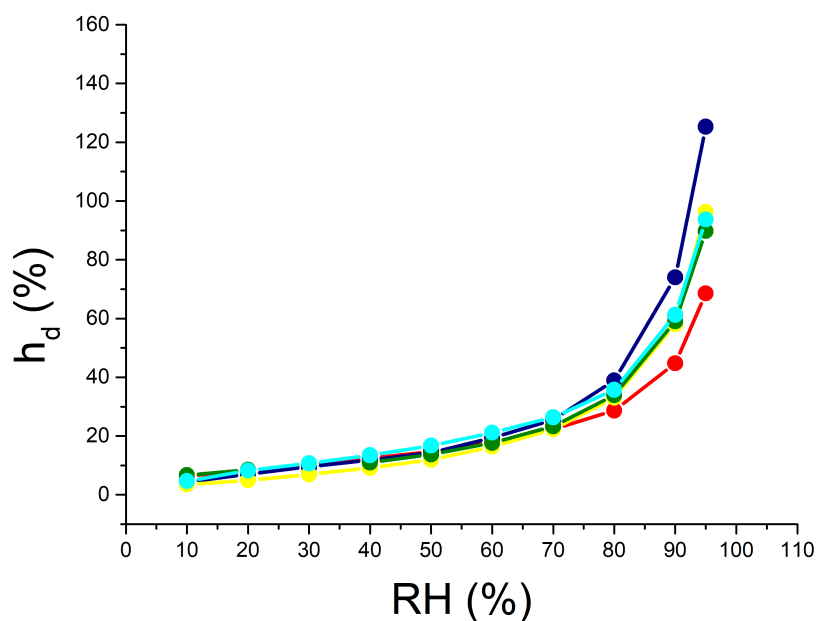
²Δηλ. στη μορφή που λήφθηκε από το εργαστήριο της Βαλέντια.

5.4.2 Ισόθερμες Καμπύλες Υδάτωσης

Οι **Ισόθερμες Καμπύλες Υδάτωσης** είναι τα διαγράμματα που καταγράφουν τα ποσοστά υδάτωσης επί της ξηρής μάζας του δοκιμίου $h_d(\%)$ σε σχέση με τη σχετική υγρασία του γύρω περιβάλλοντος $RH(\%)$. Τα ποσοστά υδάτωσης υπολογίζονται από τη σχέση (3.1), για κάθε ποσοστό σχετικής υγρασίας που καταγράφει αυτόματα το μηχάνημα.

Σημειώνεται επίσης πως σε αυτές τις καμπύλες χρησιμοποιούνται οι μάζες ισορροπίας m_{equil} που προέκυψαν ως αποτελέσματα από την προσαρμογή της Εξίσωσης 3.12. Αυτές φάνηκαν ιδιαίτερα χρήσιμες κυρίως στις υψηλές σχετικές υγρασίες, όπου τα δοκίμια δεν έφταναν σε ισορροπία και δεν υπήρχε παρά μόνο μία προσεγγιστική μάζα ισορροπίας³.

Στο Σχήμα 5.11 παρατίθενται οι ισόθερμες καμπύλες υδάτωσης για όλα τα δοκίμια που μελετήθηκαν σε αυτό το πείραμα.



ΣΧΗΜΑ 5.11: Καμπύλες Ισόθερμης Υδάτωσης για τα δοκίμια: HA 100% (μπλε), Ζελατίνη 100% (κόκκινο), 30/70 HA/GEL (κίτρινο), 50/50 HA/GEL (πράσινο), 70/30 HA/GEL (γαλάζιο).

Παρατηρείται πως τα δύο καθαρά συστατικά παρουσιάζουν ακραίες τιμές, ενώ τα τρία μείγματα εμφανίζουν ενδιάμεσες τιμές, για $RH \geq 70\%$. Στις μικρότερες σχετικές υγρασίες η συμπεριφορά αυτή δε φαίνεται να επαληθεύεται, καθώς καταλήγουν τα μείγματα να έχουν

³Βλ. Παράγραφο 5.4.3

ποσοστά υδάτωσης χαμηλότερα ακόμα κι από την «καθαρή» ζελατίνη. Στην υψηλότερη σχετική υγρασία ($RH = 95\%$) είναι εμφανές πως στο μεγαλύτερο ποσοστό υδάτωσης (125%) φτάνει το HA (μπλε), σε ενδιάμεσες τιμές (90-96%) φτάνουν τα μείγματα, ενώ τη χαμηλότερη τιμή υδάτωσης (69%) την έχει η Ζελατίνη (κόκκινο).

Προσαρμογή Αποτελεσμάτων με την Εξίσωση GAB

Η κάθε καμπύλη του Σχήματος 5.11 προσαρμόστηκε βάσει της εξίσωσης 3.5 (GAB). Από αυτές τις προσαρμογές προέκυψαν οι καμπύλες που παρουσιάζονται στα Σχήματα 5.12 έως 5.16, αλλά και τα αποτελέσματα των παραμέτρων του fitting στον Πίνακα 5.1.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1: Οι ευρεθείσες παράμετροι της GAB.

δείγμα	h_m	C	K	$h_{d,95\%}$
<i>GEL</i>	7.4	63.2	0.94	69 %
<i>HA/GEL : 30/70</i>	6.7	2.8	0.98	96 %
<i>HA/GEL : 50/50</i>	7.9	22.2	0.96	90 %
<i>HA/GEL : 70/30</i>	9.0	12.8	0.95	94 %
HA	8.9	6.6	0.98	125 %

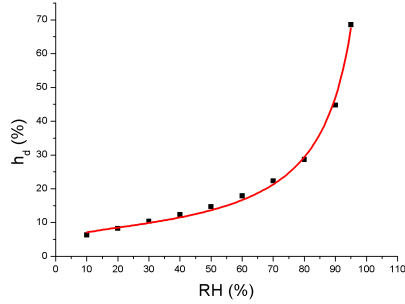
Από τα παραπάνω διαπιστώνεται πως η παράμετρος K παραμένει σχετικά σταθερή και πλησιάζει τη μονάδα, το οποίο σημαίνει ότι τα υλικά είναι υδρόφιλα, όπως ήταν επιθυμητό.

Η σταθερά C παρουσιάζει μεγάλη διαφοροποίηση μεταξύ ζελατίνης και υαλουρονικού οξέος. Μεγαλύτερη τιμή έχει στη ζελατίνη και μικρότερη στο HA, το οποίο υποδεικνύει πως οι χημικοί δεσμοί που αναπτύσσονται μεταξύ του νερού και των αλυσίδων της ζελατίνης είναι ισχυρότεροι σε σχέση με αυτούς του νερού με το HA.

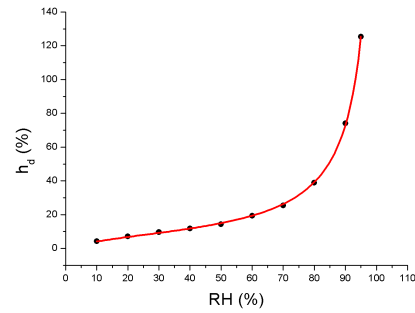
Τα ποσοστά υδάτωσης του πρώτου στρώματος νερού (h_m) είναι μικρότερα για τη ζελατίνη, ενδιάμεσα νούμερα στα μείγματα σύστασης 30/70 και 50/50 και πιο μεγάλα στο υαλουρονικό οξύ και στο μείγμα 70/30, όπου επικρατεί το HA.

Τέλος, τα μέγιστα ποσοστά υδάτωσης ($h_{d,95\%}$) -που δίνονται άμεσα από το ανώτερο πειραματικό σημείο για σχετικές υγρασίες 95%- ξεκινούν από τη μικρότερη τιμή στη Ζελατίνη, τα μείγματα παίρνουν ενδιάμεσες τιμές, ενώ το Υαλουρονικό Οξύ καταλήγει με 125% ποσοστό υδάτωσης επί της ξηρής μάζας.

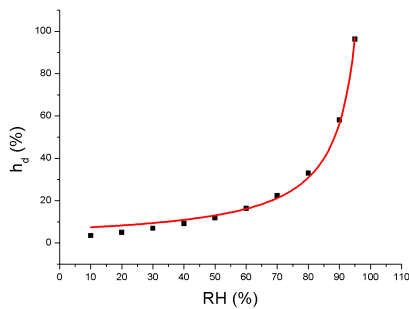
Στα Σχήματα 5.12 έως 5.16 παρατίθενται οι προσαρμογές καμπυλών $h_d(RH)$ από όλα τα πειράματα ESI που πραγματοποιήθηκαν.



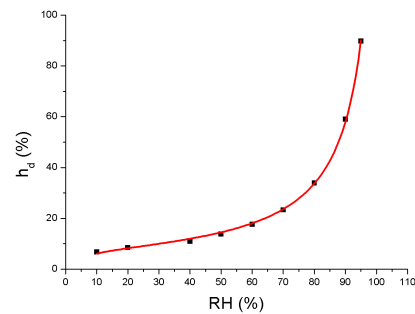
ΣΧΗΜΑ 5.12: GAB fitting - Ζελατίνη.



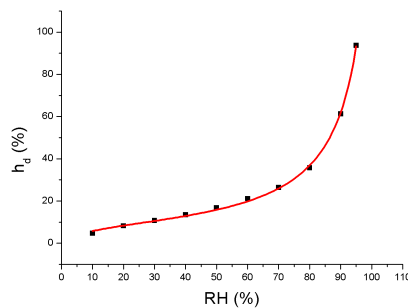
ΣΧΗΜΑ 5.13: GAB fitting - HA. Ασυμπίεστο δοκίμιο.



ΣΧΗΜΑ 5.14: GAB fitting - 30/70 HA-/GEL.



ΣΧΗΜΑ 5.15: GAB fitting - 50/50 HA-/GEL.



ΣΧΗΜΑ 5.16: GAB fitting - 70/30 HA-/GEL.

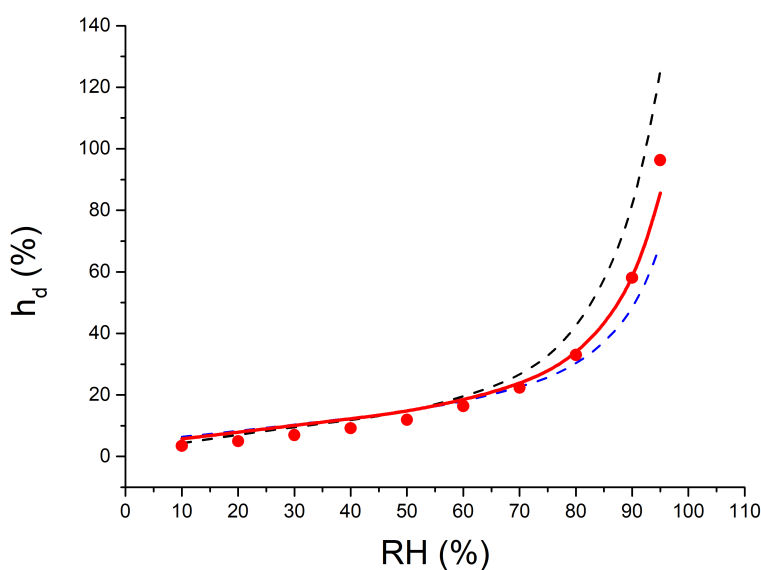
Αν κοιτάξει κανείς προσεκτικά τα πέντε διαγράμματα, θα διαπιστώσει ότι για $h_d \geq 70\%$ το νερό αρχίζει να αυξάνεται απότομα, οπότε μάλλον αρχίζουν να σχηματίζονται συσσωματώματα (clusters) μες στο υλικό.

Έλεγχοι Αναμειξιμότητας στα Μείγματα

Σε αυτή την παράγραφο θα εξεταστεί κατά πόσο τα τρία μείγματα που παρασκευάστηκαν ακολουθούν τον **Προσθετικό Κανόνα**. Ο Προσθετικός Κανόνας ορίζει πως η αναλογία των συστατικών του μείγματος είναι αυτή που θα καθορίσει και το ποσοστό με το οποίο θα συμμετάσχουν τα υλικά στην τιμή h_d . Αν ισχύει λοιπόν ο προσθετικός κανόνας, τότε θα ισχύει και μια σχέση της μορφής:

$$h_{HG} = Ah_{HA} + Bh_{GEL} \quad (5.1)$$

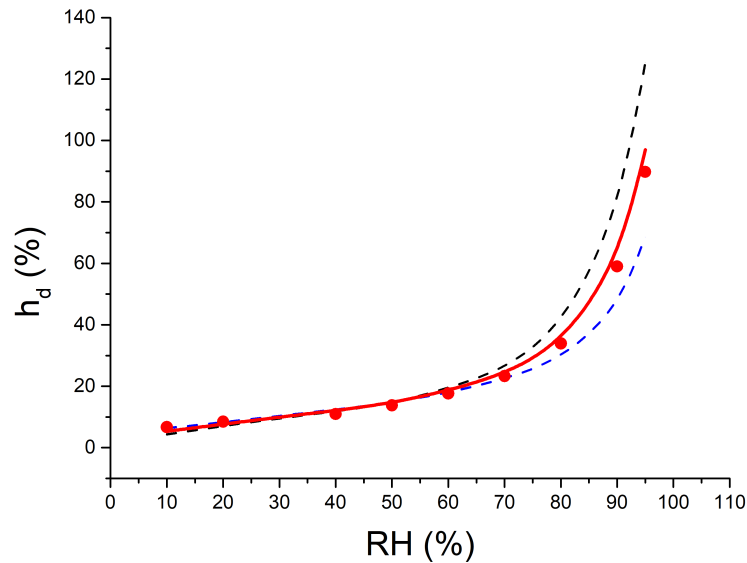
όπου A =η περιεκτικότητα της υδρογέλης σε Υαλουρονικό Οξύ και B =η περιεκτικότητα της υδρογέλης σε Ζελατίνη.



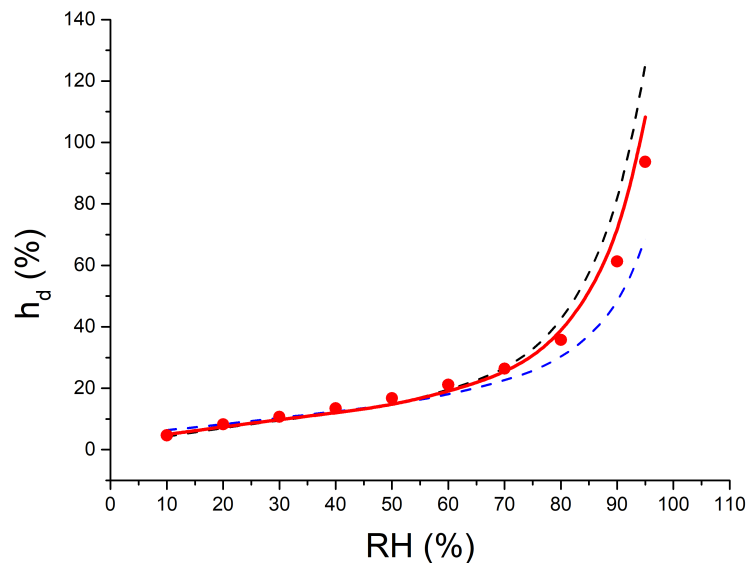
ΣΧΗΜΑ 5.17: Προσθετικός Κανόνας. Μείγμα 30/70 HA/GEL. HA 100% (μαύρη διακεκομμένη), GEL 100% (μπλε διακεκομμένη), πειραματικά σημεία μείγματος 30/70 (κόκκινα), θεωρητική καμπύλη μείγματος 30/70 (κόκκινη).

Στο μείγμα 30/70 (περισσότερη ζελατίνη) του Σχήματος 5.17 φαίνεται να αποκλίνουν από τον προσθετικό κανόνα τα σημεία των χαμηλών σχετικών υγρασιών. Αυτά βρίσκονται πιο κάτω ακόμα κι από την καμπύλη της Ζελατίνης. Αυτό θα μπορούσε να σημαίνει πως, αναμειγνύοντας τα δύο συστατικά, χάνονται κάποιες θέσεις που θα μπορούσαν να συγχρατήσουν μόρια νερού μέσα στο σύνθετο πολυμερικό πλέγμα.

Στο Σχήμα 5.18 παρουσιάζεται η υδρογέλη με ίσα ποσοστά υαλουρονικού οξέος και ζελατίνης (HA/GEL 50/50). Ο προσθετικός κανόνας φαίνεται να επαληθεύεται εκτός από μία-δύο τιμές ενδιάμεσων $RH(\%)$ που βρίσκονται κάτω από τη θεωρητική καμπύλη.



ΣΧΗΜΑ 5.18: Προσθετικός Κανόνας. Μείγμα 50/50 HA/GEL. HA 100% (μαύρη διακεκομμένη), GEL 100% (μπλε διακεκομμένη), πειραματικά σημεία μείγματος 50/50 (κόκκινα), θεωρητική καμπύλη μείγματος 50/50 (κόκκινη).

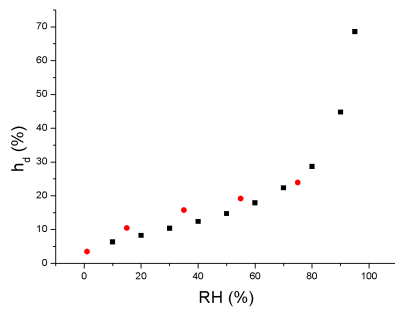


ΣΧΗΜΑ 5.19: Προσθετικός Κανόνας. Μείγμα 70/30 HA/GEL. HA 100% (μαύρη διακεκομμένη), GEL 100% (μπλε διακεκομμένη), πειραματικά σημεία μείγματος 70/30 (κόκκινα), θεωρητική καμπύλη μείγματος 70/30 (κόκκινη).

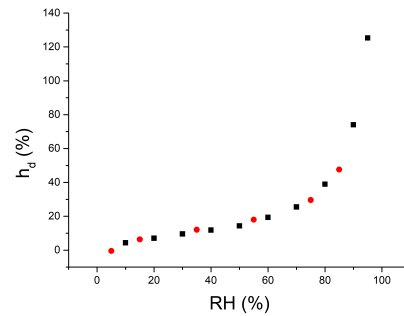
Τέλος, στο μείγμα 70/30 (περισσότερο υαλουρονικό οξύ) του Σχήματος 5.19 αποκλίνουν -με μικρές διαφορές- από την καμπύλη του προσθετικού κανόνα τα τελευταία σημεία σε υψηλές $RH(\%)$ και παρατηρείται πως στις χαμηλές RH τα πειραματικά σημεία βρίσκονται πάνω ακόμα κι από την καμπύλη του ΗΑ. Διαπιστώνεται και πάλι πως το ΗΑ και η ζελατίνη αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και δεσμεύουν θέσεις όπου θα μπορούσε να εισχωρήσει το νερό.

Γενικά, οι χαμηλές RH σημαίνουν υαλώδη περιοχή, όπου το νερό δεν έχει καταφέρει ακόμα να πλαστικοποιήσει τις πολυμερικές αλυσίδες, οπότε η κινητικότητα είναι μικρή. Εξού και η απόκλιση των πειραματικών τιμών από τις θεωρητικές καμπύλες. Στις υψηλές RH οι αποκλίσεις αυτές οφείλονται στη δημιουργία συσσωματωμάτων νερού που και πάλι παρεμποδίζουν την ελεύθερη κίνησή του, καθώς και στην αλληλεπίδραση των δύο συστατικών των μειγμάτων.

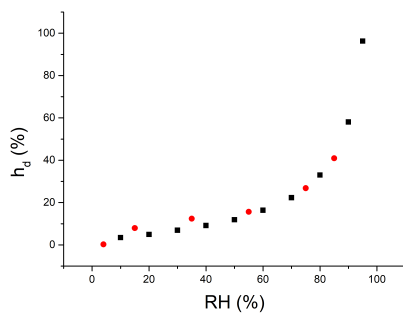
Αναζήτηση Φαινομένων Υστέρησης



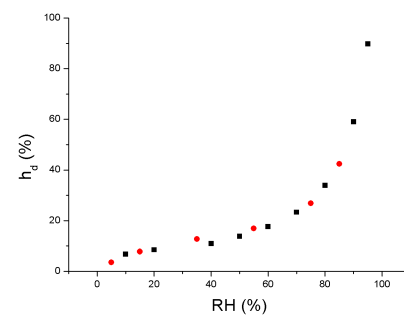
ΣΧΗΜΑ 5.20: Ρόφηση-Εκρόφηση στη Ζελατίνη.



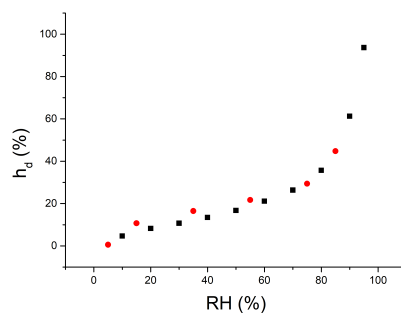
ΣΧΗΜΑ 5.21: Ρόφηση-Εκρόφηση στο HA.



ΣΧΗΜΑ 5.22: Ρόφηση-Εκρόφηση στην υδρογέλη 30/70 HA/GEL.



ΣΧΗΜΑ 5.23: Ρόφηση-Εκρόφηση στην υδρογέλη 50/50 HA/GEL.

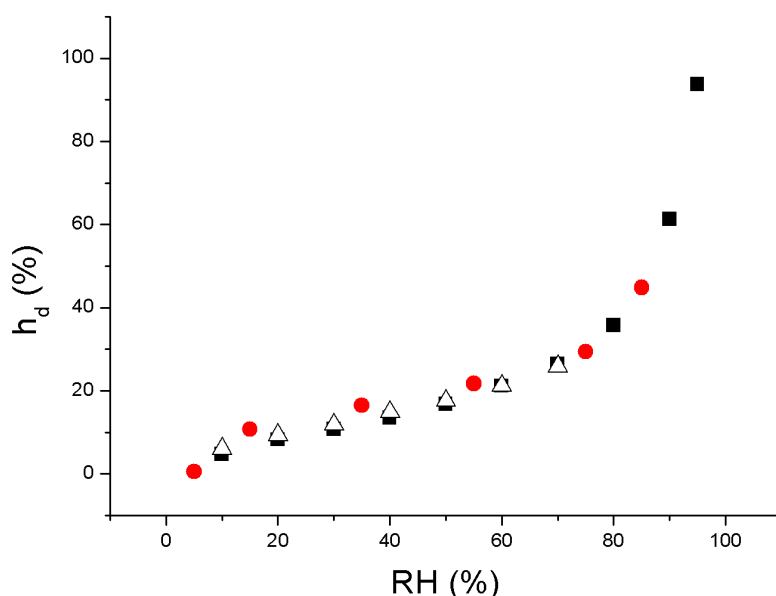


ΣΧΗΜΑ 5.24: Ρόφηση-Εκρόφηση στην υδρογέλη 70/30 HA/GEL.

Πραγματοποιήθηκαν και μετρήσεις εκρόφησης νερού για τον εντοπισμό ή όχι υστέρησης στα δείγματα. Υστέρηση υπενθυμίζεται πως σημαίνει συγκράτηση του νερού από το δείγμα, καθώς το μηχανήμα προσπαθεί να το ξηράνει και μειώνει τη σχετική υγρασία του θαλάμου.

Στα διαγράμματα 5.20 έως 5.24 παρουσιάζονται τα πειραματικά σημεία κάθε δείγματος κατά τις ροφήσεις (μαύρα σημεία) και εκροφήσεις (κόκκινα σημεία). Παρατηρείται ύπαρξη

υστέρησης σε όλα τα δοκίμια εκτός του HA και του μείγματος HA/GEL 50/50. Μεγαλύτερη υστέρηση υπάρχει στη ζελατίνη, η οποία επιβεβαιώνεται πως αναπτύσσει ισχυρούς δεσμούς με το νερό. Υπενθυμίζεται πως το ίδιο πόρισμα βγήκε κι από την τιμή της σταθεράς C στο GAB fitting. Επομένως, το νερό εγκλωβίζεται στις δομές της ζελατίνης και παραμένει σε αυτή παρόλη την πτώση της σχετικής υγρασίας του περιβάλλοντος. Στα δύο μείγματα (30/70 και 70/30) υπάρχουν πιο ασθενείς υστερήσεις, άρα διαπιστώνεται πως αυτή η ιδιότητα της ζελατίνης διατηρείται.



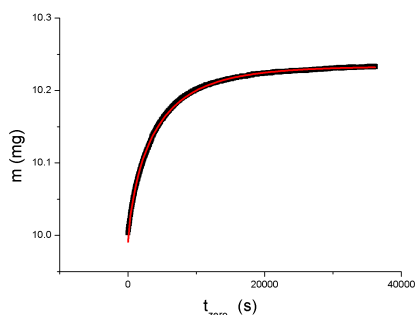
ΣΧΗΜΑ 5.25: Δοκίμιο HA/GEL 70/30. 1^{ος} κύκλος ρόφησης (μαύρα τετράγωνα), 2^{ος} κύκλος εκρόφησης (κόκκινοι κύκλοι), 3^{ος} κύκλος ρόφησης (λευκά τρίγωνα).

Εκτός του βασικού κύκλου ρόφησης και εκρόφησης νερού, για να παρατηρηθεί ή όχι υστέρηση, χρειάστηκε σε κάποιες περιπτώσεις να εκτελεστεί κι ένας **επαναληπτικός** κύκλος ρόφησης⁴. Αυτός έχει ως στόχο τη μελέτη της κατάστασης του υλικού μετά την ολοκλήρωση της πρώτης ρόφησης-εκρόφησης νερού κι όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.25 τα σημεία ρόφησης κι επαναρόφησης δεν παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές.

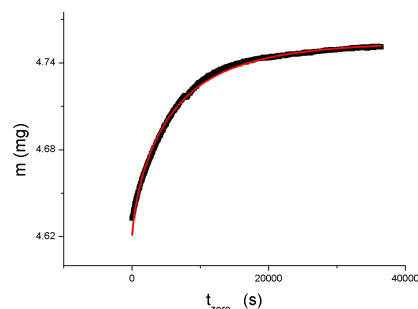
⁴Ο επαναληπτικός κύκλος ρόφησης προστέθηκε στους δύο βασικούς, όταν διαπιστώθηκε η ασυνήθιστη συμπεριφορά του συμπιεσμένου υαλουρονικού οξέος. Βλ. Παράρτημα Α'.

5.4.3 Συντελεστές Διάχυσης

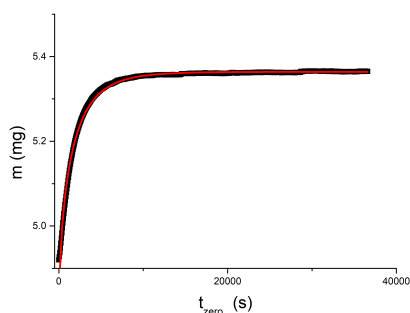
Οι υπολογισμοί για τους συντελεστές διάχυσης έγιναν με προσαρμογή ολόκληρης της καμπύλης $m_i(t)$ βάσει της Εξίσωσης 3.12⁵.



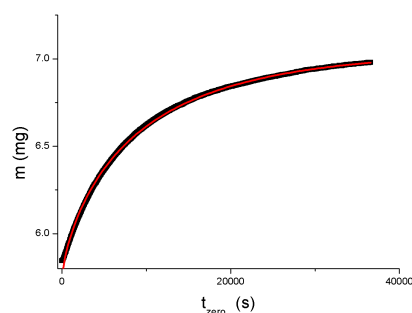
ΣΧΗΜΑ 5.26: Fitting σε όλη την καμπύλη για εύρεση του D της Ζελατίνης. $RH = 20\%$.



ΣΧΗΜΑ 5.27: Fitting σε όλη την καμπύλη για εύρεση του D του ασυμπίεστου HA. $RH = 30\%$.



ΣΧΗΜΑ 5.28: Fitting σε όλη την καμπύλη για εύρεση του D της υδρογέλης 30/70 HA/GEL. $RH = 80\%$.



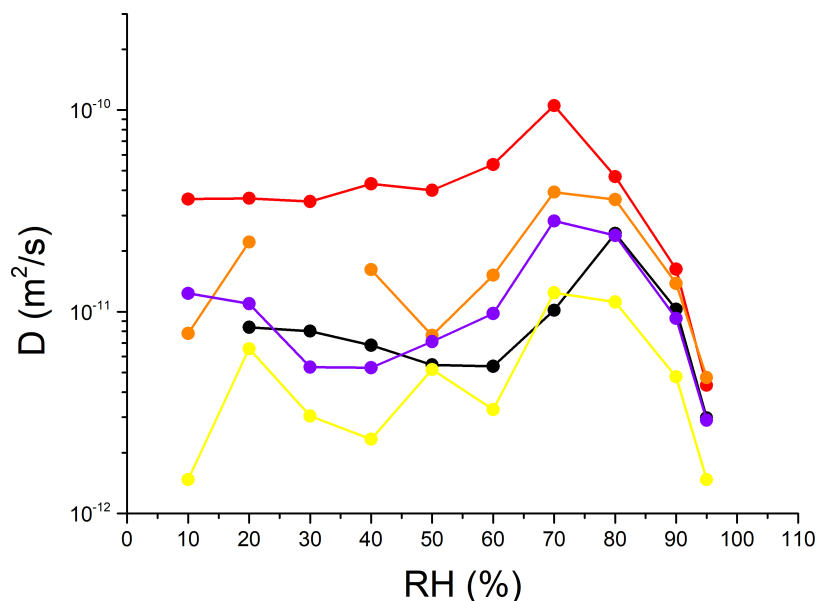
ΣΧΗΜΑ 5.29: Fitting σε όλη την καμπύλη για εύρεση του D της υδρογέλης 70/30 HA/GEL. $RH = 95\%$.

Όλα τα fitting στις καμπύλες που προέκυψαν από τη ρόφηση νερού έγιναν με πολύ καλή ακρίβεια, οπότε μπορεί κανείς να υποθέσει πως τα αποτελέσματα των συντελεστών διάχυσης που δίνονται στον πίνακα 5.31 είναι αξιόπιστα.

Υπενθυμίζεται ξανά πως ένα επιπλέον αποτέλεσμα που δίνουν τα διαγράμματα 5.26 - 5.29 (και τα υπόλοιπα όμοιά τους) είναι οι μάζες ισορροπίας για κάθε σχετική υγρασία και για κάθε δοκίμιο. Όπως φαίνεται από το Σχήμα 5.29, ειδικά στις υψηλές $RH = 95\%$, οι μάζες ισορροπίας δεν μπορούν να υπολογιστούν με εκτίμηση από το διάγραμμα, επειδή το δοκίμιο

⁵Οι γραμμικές προσαρμογές στις περιοχές χαμηλής σχετικής υγρασίας πραγματοποιήθηκαν εξίσου. Ορισμένα διαγράμματα αυτής της ανάλυσης παρατίθενται στο Α' Παράρτημα, όπου και συγκρίνονται τα αποτελέσματά της με αυτά που παρατίθενται εδώ. Οι αποκλίσεις που διαπιστώθηκαν στις τιμές των D ήταν πολύ μικρές.

σε τόσο υψηλή υγρασία δεν καταφέρνει να φτάσει σε ισορροπία. Σε αυτές τις περιπτώσεις, ο συντελεστής διάχυσης γίνεται πολύ μικρός.



ΣΧΗΜΑ 5.30: Οι συντελεστές διάχυσης που υπολογίστηκαν από τους κύκλους ρόφησης σε όλες τις RH και για όλα τα δοκίμια: HA 100% (κόκκινο), 70/30 HA/GEL (μπλε), 50/50 HA/GEL (πορτοκαλί), 30/70 HA/GEL (χίτρινο), GEL 100% (μαύρο).

Στο συγκριτικό Σχήμα 5.30 φαίνεται ότι ο συντελεστής διάχυσης κάνει διάφορες διακυμάνσεις για χαμηλές RH και μάλιστα σε όλα τα δοκίμια. Τότε οι πολυμερικές αλυσίδες βρίσκονται πιθανώς στην υαλώδη κατάσταση.

Όταν το νερό απορροφάται για πρώτη φορά από το δοκίμιο, δημιουργούνται νέες κοιλότητες και «δρόμοι» και το νερό δε διαχέεται σε όλες τις σχετικές υγρασίες το ίδιο αποτελεσματικά. Έτσι δικαιολογούνται οι διακυμάνσεις που παρατηρούνται. Η εκρόφηση⁶, αντίθετα, εξελίσσεται πιο ομαλά, αφού οι «δρόμοι» που θα διασχίσουν τα μόρια του νερού για να απομακρυνθούν από τις πολυμερικές αλυσίδες έχουν ήδη διαμορφωθεί και η κίνηση είναι πιο ομαλή.

Για ποσοστά σχ.υγρασίας μεγαλύτερα από 50-60% ο D αυξάνεται και για μεγαλύτερα από 70% (ή 80% για τη ζελατίνη) μειώνεται πάλι. Η αύξηση του D σε $RH \geq 50\%$ ίσως σηματοδοτεί την μετάβαση του υλικού στην ελαστική κατάσταση. Η μετέπειτα πτώση συνδέεται με τη δημιουργία συσσωματωμάτων νερού. Μάλιστα, μπορεί οι μονάδες που κινούνται να είναι μεγαλύτερες ή τα συσσωματώματα να λειτουργούν ως εμπόδια στη διαδρομή του νερού.[31]

⁶Βλ. Παράρτημα Α'.

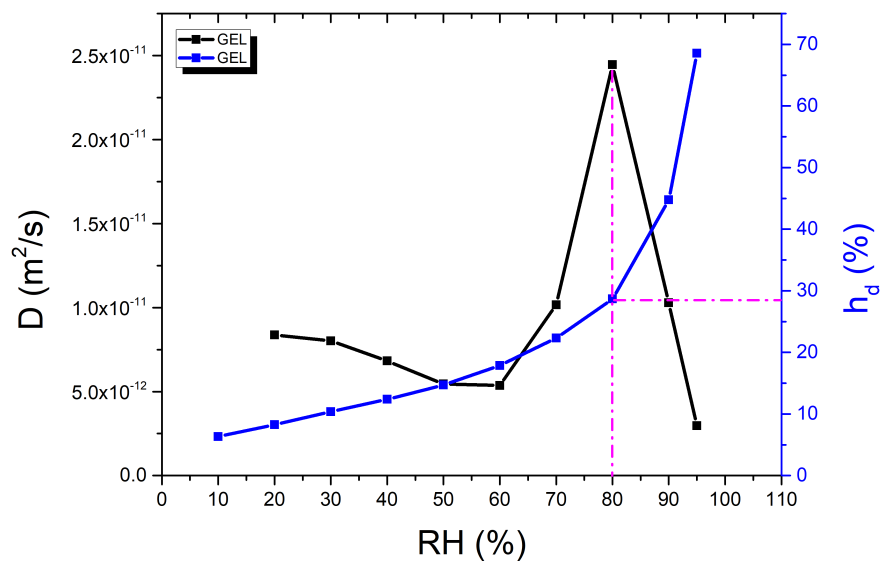
Στον Πίνακα 5.31 παρουσιάζονται οι συντελεστές διάχυσης, D , όπως αυτοί υπολογίστηκαν απευθείας από την Εξίσωση 3.12.

δείγμα	RH	$D(\times 10^{-12} m^2/s)$	δείγμα	RH	$D(\times 10^{-12} m^2/s)$
Ζελατίνη	10	3.55	<i>HA/GEL : 30/70</i>	10	1.47
	20	8.37		20	6.56
	30	8.01		30	3.04
	40	6.82		40	2.34
	50	5.46		50	5.17
	60	5.37		60	3.27
	70	10.2		70	12.4
	80	24.5		80	11.2
	90	10.3		90	4.75
	95	2.98		95	1.47
ΗΑ ασυμπέστο	10	36.2	<i>HA/GEL : 70/30</i>	10	12.3
	20	36.5		20	11.0
	30	35.2		30	5.31
	40	43.1		40	5.28
	50	40.0		50	7.12
	60	53.7		60	9.80
	70	105		70	28.2
	80	46.8		80	23.9
	90	16.3		90	9.27
	95	4.32		95	2.90
<i>HA/GEL : 50/50</i>	10	7.81			
	20	22.2			
	30	-			
	40	16.2			
	50	7.64			
	60	15.2			
	70	39.2			
	80	36.0			
	90	13.8			
	95	4.72			

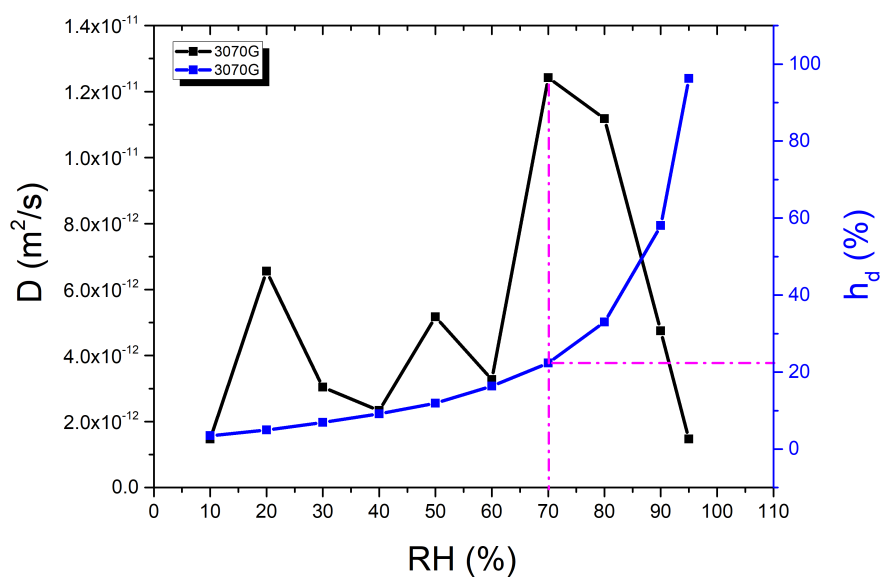
ΣΧΗΜΑ 5.31: Πίνακας με τους Συντελεστές Διάχυσης που υπολογίστηκαν.

5.5 Σύνδεση των δύο μελετών

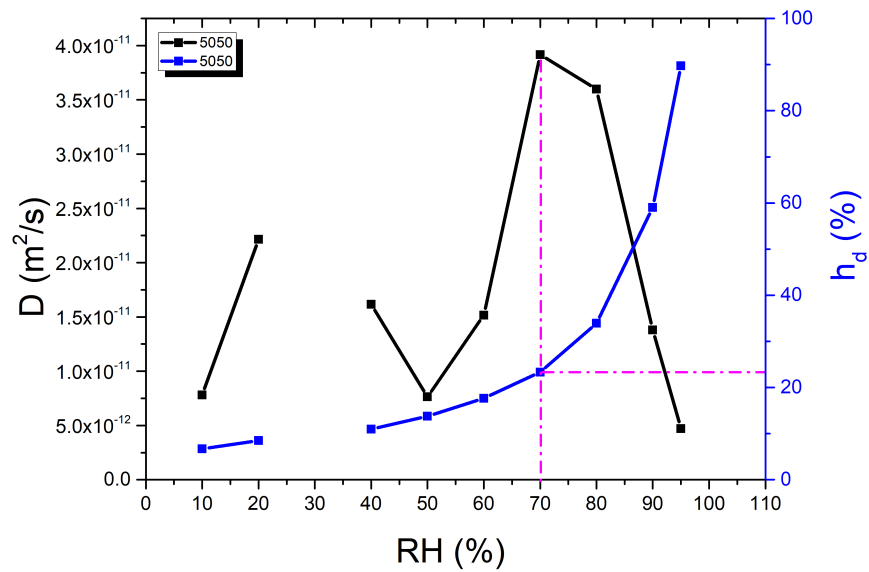
Τα αποτελέσματα συντελεστών διάχυσης και η προσαρμογή των καμπυλών ισόθερμης ρόφησης νερού που έγινε μέσω της εξίσωσης GAB συνδέονται άμεσα. Τα διαγράμματα 5.32 έως 5.36 δείχνουν ακριβώς αυτή τη σύνδεση.



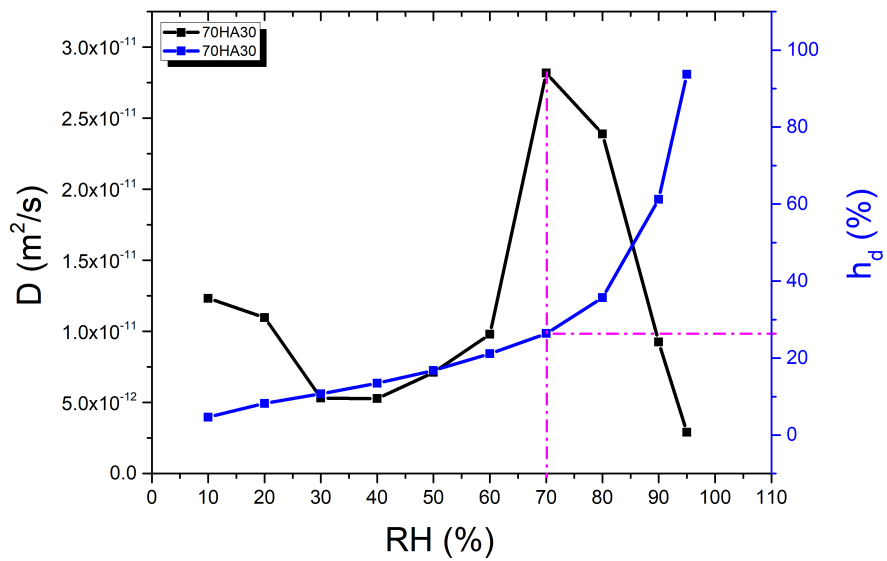
ΣΧΗΜΑ 5.32: Συγκριτικό διάγραμμα συντελεστών διάχυσης (μαύρο) - καμπύλης ισόθερμης υδάτωσης (μπλε) συναρτήσεως σχετικών υγρασιών. Ζελατίνη.



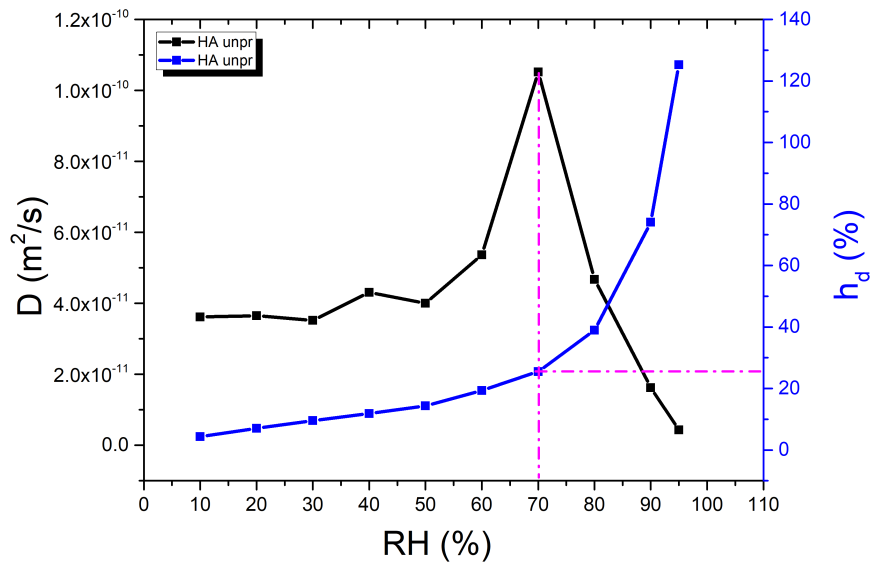
ΣΧΗΜΑ 5.33: Συγκριτικό διάγραμμα συντελεστών διάχυσης (μαύρο) - καμπύλης ισόθερμης υδάτωσης (μπλε) συναρτήσεως σχετικών υγρασιών. Μείγμα 30/70 HA/GEL.



ΣΧΗΜΑ 5.34: Συγκριτικό διάγραμμα συντελεστών διάχυσης (μαύρο) - καμπύλης ισόθερμης υδάτωσης (μπλε) συναρτήσει σχετικών υγρασιών. Μείγμα 50/50 HA/GEL.



ΣΧΗΜΑ 5.35: Συγκριτικό διάγραμμα συντελεστών διάχυσης (μαύρο) - καμπύλης ισόθερμης υδάτωσης (μπλε) συναρτήσει σχετικών υγρασιών. Μείγμα 70/30 HA/GEL.



ΣΧΗΜΑ 5.36: Συγκριτικό διάγραμμα συντελεστών διάχυσης (μαύρο) - καμπύλης ισόθερμης υδάτωσης (μπλε) συναρτήσει σχετικών υγρασιών. Γαλουρονικό Οξύ.

Αυτό που παρατηρείται είναι πως στη σχετική υγρασία όπου ο συντελεστής διάχυσης μεγιστοποιείται ($D = D_{max}$), αρχίζει η απότομη αύξηση και των ποσοστών υδάτωσης h_d (%). Με αυτό τον τρόπο, σηματοδοτείται η έναρξη σχηματισμού των συσσωματωμάτων νερού (clusters) στην υδρογέλη, αφού έχει ήδη ολοκληρωθεί η διαμόρφωση του πρώτου στρώματος νερού.

Στις ακόμα μεγαλύτερες υγρασίες (περιοχή μετά τη μωβ διακεκομμένη γραμμή), οι συντελεστές διάχυσης συνεχώς μειώνονται και το νερό συναντά εμπόδια στην κίνηση/διάχυσή του.

Κεφάλαιο 6

Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης

6.1 Γενικά

Το πείραμα της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης πραγματοποιήθηκε με στόχο να μελετηθούν οι αλλαγές φάσης του νερού στις υδρογέλες. Το υαλουρονικό οξύ, η ζελατίνη και τα μείγματά τους είναι υλικά που δεν παρουσιάζουν τήξη και κρυστάλλωση. Γι' αυτό το λόγο, μελετήθηκαν οι υδατωμένες υδρογέλες, σε σχετικές υγρασίες 65% , 85% και 98%, ώστε να επιτευχθούν διαφορετικά ποσοστά υδάτωσης.

Από το κεφάλαιο 6 θα εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με τη θερμική απόκριση του νερού μες στα πολυμερικά υλικά κατά την ψύξη και τη θέρμανσή του, σε τι θερμοκρασίες αυτό κρυσταλλώνεται ή τήχεται και τότε παρατηρείται υαλώδης μετάβαση στις πολυμερικές αλυσίδες. Καταγράφονται επίσης οι μεταβάσεις γέλης-διαλύματος (GEL-SOL) κι αντίστροφα (SOL-GEL) της ζελατίνης, καθώς κι αποτελέσματα από τις εξατμίσεις των δοκιμίων.

6.2 Ο εργαστηριακός εξοπλισμός

Το θερμιδόμετρο που χρησιμοποιήθηκε ανήκει στην εταιρία Thermal Analysis (T.A. Instruments). Πρόκειται για το μοντέλο Q200 Modulated Scanning Calorimeter, το οποίο αποτελείται από:

- * Το σύστημα ηλεκτρονικών.
- * Την κύρια κυψελίδα μες στην οποία τοποθετούνται το δείγμα αναφοράς και το υπό μελέτη δείγμα και παρακολουθείται η ροή θερμότητας συναρτήσει χρόνου και θερμοκρασίας.
- * Το σύστημα ψύξης.

Η κυψελίδα



ΣΧΗΜΑ 6.1: Η κυψελίδα του θερμιδόμετρου. Επικοινωνεί με το σύστημα ψύξης μέσω του μαύρου παχύ σωλήνα.

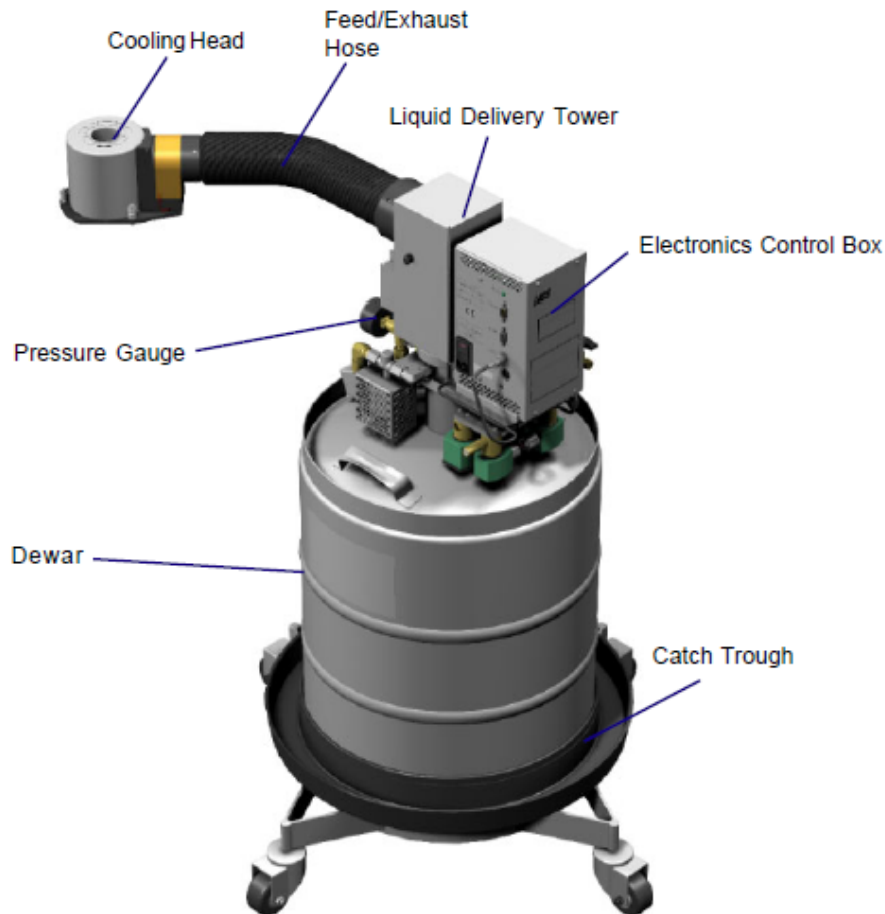


ΣΧΗΜΑ 6.2: Τοποθέτηση δειγμάτων στην κυψελίδα. Πάνω το δείγμα αναφοράς και κάτω το δείγμα με το υλικό.

Τα δύο καψίδια -με και δίχως το υλικό- τοποθετούνται μέσα στην κυψελίδα, πάνω σε δύο διαφορετικές βάσεις. Οι βάσεις συνδέονται μέσω λεπτότοιχων σωλήνων με μία μεγαλύτερη βάση, η οποία ευθύνεται για την ψύξη των καψιδίων (έως -170°C) και γι' αυτό επικοινωνεί με το σύστημα ψύξης της διάταξης. Στο εσωτερικό της συσκευής υπάρχουν επιπλέον δύο θερμοζεύγη: το πρώτο μετράει τη διαφορά θερμοκρασίας των δύο βάσεων όπου τοποθετούνται τα καψίδια και το δεύτερο μετράει τη διαφορά θερμοκρασίας αυτών με τη μεγάλη βάση. Τέλος, η κυψελίδα συνδέεται και με μια αντλία αδρανούς αερίου ηλίου (He), το οποίο διασφαλίζει αδρανή ατμόσφαιρα στο χώρο τοποθέτησης των δειγμάτων. Η ροή He από την αντλία στη διάταξη γίνεται με σταθερό ρυθμό $25\text{mL}/\text{min}$. [43]

Το σύστημα ψύξης LNCS

Ο LNCS είναι η βασική δεξαμενή ψύξης του θερμοδόμετρου. Περιέχει υγρό άζωτο και μπορεί να καλύψει θερμοκρασίες από -180°C έως 550°C . Η δεξαμενή αυτή βρίσκεται υπό πίεση, μεταφέροντας έτσι το υγρό άζωτο στον εναλλάκτη θερμότητας, με αποτέλεσμα να ρυθμίζεται η θερμοκρασία στην κυψελίδα.



ΣΧΗΜΑ 6.3: Το σύστημα ψύξης LNCS.[9]

Ολόκληρο το σύστημα LNCS αποτελείται από τη δεξαμενή (dewar) που έχει χωρητικότητα 50L , τον πύργο ελέγχου της μεταφοράς του αζώτου (liquid delivery tower), ηλεκτρονικό σύστημα ελέγχου (electronics control box) και μία κεφαλή ψύξης (cooling head) που συνδέεται με το υπόλοιπο σύστημα με έναν παχύ μαύρο σωλήνα τροφοδότησης κι εξάτμισης (feed/exhaust hose). Ένας παρόμοιος σωλήνας συνδέει τελικά το σύστημα ψύξης LNCS με την κύρια κυψελίδα του Q200.[9]

6.3 Προετοιμασία Δειγμάτων

Τα δοκίμια που χρησιμοποιήθηκαν στη Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης φαίνονται στον Πίνακα 6.1. Σε αυτόν δίνεται η πρόσθετη πληροφορία των ποσοστών υδάτωσης των δοκιμίων h_w (υπολογισμένα με βάση την υδατωμένη τους μάζα), ανάλογα με τη γυάλα με περιβάλλον συγκεκριμένης σχε.υγρασίας στην οποία τοποθετήθηκαν¹. Στη συνέχεια του κεφαλαίου κάθε δοκίμιο θα μελετάται λαμβάνοντας υπόψη το ποσοστό υδάτωσης του.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.1: Τα υπό εξέταση δοκίμια και τα ποσοστά υδάτωσης τους h_w .

Δείγμα	$RH = 98\%$	$RH = 85\%$	$RH = 65\%$
Ζελατίνη	46%	19%	17%
Υαλουρονικό Οξύ	68%	43%	21%
30/70 HA/GEL	51%	25%	18%
50/50 HA/GEL	53%	26%	16%
70/30 HA/GEL	56%	33%	19%

Για να επιτευχθούν οι επιθυμητές σχετικές υγρασίες, χρησιμοποιούνται οι υδρατμοί υπέρκορων διαλυμάτων από ένα κατάλληλο άλας κι απεσταγμένο νερό: χλωρίδιο του κοβαλτίου για $RH = 65\%$, χλωρίδιο του καλίου για $RH = 85\%$ και θειικό κάλιο για $RH = 98\%$. [5, 44] Όλα τα δοκίμια τοποθετούνται για 4 ημέρες σε αεροστεγώς κλεισμένη γυάλα -όπως αυτή που φαίνεται στο Σχήμα 6.4- με περιβάλλον σχετικής υγρασίας $RH = 98\%$. Έπειτα, αν η επιθυμητή σχετική υγρασία είναι 85% ή 65%, τοποθετούνται για άλλες 3 μέρες σε άλλη γυάλα. Η διαδικασία ρόφησης νερού έως $RH = 98\%$ και η μετέπειτα εκρόφηση έως την επιθυμητή χαμηλότερη RH πραγματοποιήθηκε με αφορμή τα αποτελέσματα του πειράματος ESI, αφού διαπιστώθηκε πως η διαδικασία εκρόφησης συμβαίνει πιο ομαλά και το δοκίμιο καταλήγει να ισορροπήσει στην επιθυμητή RH πιο αποτελεσματικά.

¹ Στο Παράρτημα Β συγκρίνονται τα ποσοστά υδάτωσης h_d που προέκυψαν από το ESI για κάθε δοκίμιο και σχετική υγρασία σε σχέση με τα ποσοστά που υπολογίστηκαν μετά τα πειράματα εξάτμισης της DSC.

Τα δείγματα ζυγίζονται τόσο πριν την τοποθέτησή τους στις γυάλες όσο και μετά, ώστε να υπάρχει μία πρώτη εκτίμηση του ποσοστού νερού που προσλαμβάνουν. Τοποθετούνται σε βάσεις τεχνολογίας **Tzero LowMass** και σφραγίζονται με αλουμινένια κι ερμητικά κλειστά καπάκια (**Aluminum Hermetic**). Το καθαρό βάρος των υλικών ήταν μόλις 1-2 mg, το οποίο δικαιολογεί τη χρήση low-mass pan.



ΣΧΗΜΑ 6.4: Γυάλα αποθήκευσης των υδρογελών για την επίτευξη χαρακτηριστικής σχετικής υγρασίας.[5]

Παρακάτω παρατίθεται ένα ενδεικτικό και γενικό **πρωτόκολλο μετρήσεων** των πειραμάτων DSC.

- Ψύξη από τους 20°C στους -150°C
- Θέρμανση από τους -150°C στους $80/100/120^{\circ}\text{C}$, ανάλογα με το δοκίμιο
- 2^η Ψύξη μέχρι τους -150°C
- 2^η Θέρμανση από τους -150°C στους $80, 100$ ή 120°C , ανάλογα με το πείραμα που χρειαζόταν να γίνει κ.ο.κ.

Ο 2^{ος} Κύκλος Ψύξης-Θέρμανσης ήταν πανομοιότυπος με τον 1^ο. Ο πρώτος γινόταν ώστε να σβηστεί οποιαδήποτε θερμική προϊστορία της υδρογέλης κι ο δεύτερος για λόγους επαλήθευσης².

²Πολύ μικρές μάζες δοκιμίων και μεγάλοι ρυθμοί αλλαγής της θερμοκρασίας αποφεύγονται, διότι προκαλούν μεγάλο θόρυβο στις μετρήσεις της DSC.

6.4 Αποτελέσματα Μετρήσεων

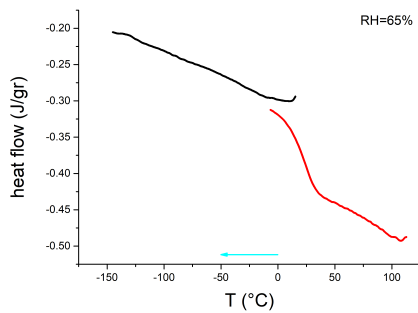
6.4.1 Τα πρώτα αποτελέσματα ανά δοκίμιο

Σε αυτή την ενότητα θα αναλυθούν οι μετρήσεις που αντλήθηκαν από την τεχνική της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης.

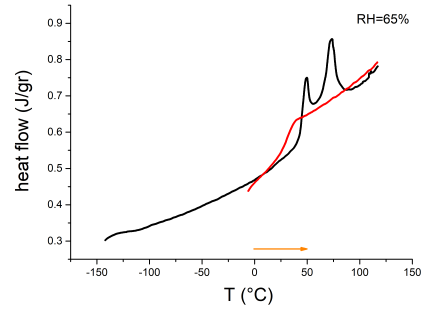
Τα πρώτα διαγράμματα (6.5 έως 6.34) που θα εξεταστούν αφορούν -ανά έξι- το κάθε δοκίμιο μεμονωμένα. Τα πρώτα δύο διαγράμματα αφορούν το μικρότερο ποσοστό υδάτωσης, τα επόμενα δύο αφορούν το ενδιάμεσο και τα τελευταία δύο αφορούν το μέγιστο ποσοστό υδάτωσης που επιτεύχθηκε στο εργαστήριο για κάθε υδρογέλη.

Στα τρία μείγματα υαλουρονικού οξέος-ζελατίνης (Συστάσεις: 30/70, 50/50, 70/30) παρατίθενται και διαγράμματα στα οποία συγκρίνονται άμεσα τα μείγματα με τα «καθαρά» συστατικά. Από τις αλλαγές φάσης που παρατηρούνται μπορεί κανείς να εκτιμήσει ποιο συστατικό του μείγματος επικρατεί.

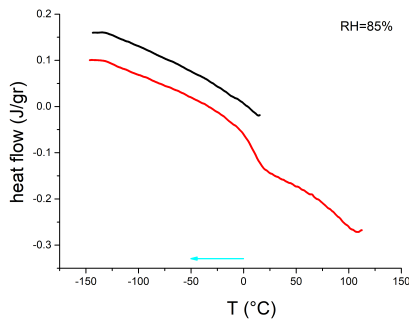
Πρώτα εξετάζεται η περίπτωση της **Ζελατίνης**, στα Σχήματα 6.5 έως και 6.10.



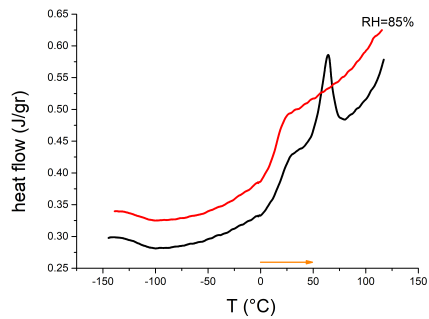
ΣΧΗΜΑ 6.5: Ζελατίνη με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 17\%$. 1^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).



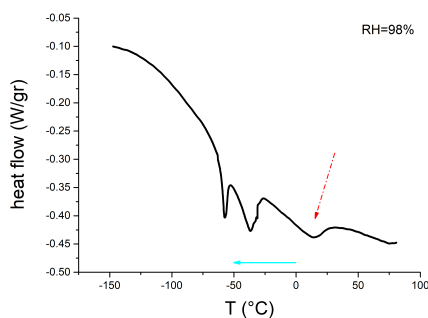
ΣΧΗΜΑ 6.6: Ζελατίνη με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 17\%$. 1^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).



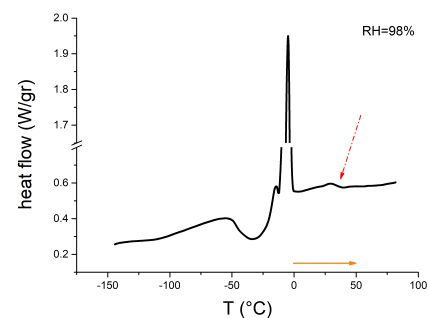
ΣΧΗΜΑ 6.7: Ζελατίνη με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 19\%$. 1^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).



ΣΧΗΜΑ 6.8: Ζελατίνη με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 19\%$. 1^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).



ΣΧΗΜΑ 6.9: Ζελατίνη με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 46\%$. 2^{ος} Κύκλος Ψύξης.



ΣΧΗΜΑ 6.10: Ζελατίνη με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 46\%$. 1^{ος} Κύκλος Θέρμανσης.

Η ζελατίνη και στα δύο χαμηλά ποσοστά υδάτωσης κατά την πρώτη ψύξη (Σχήματα 6.5 και 6.7, μαύρο χρώμα) δεν παρουσιάζει κάποια αλλαγή φάσης, ενώ στο δεύτερο κύκλο (κόκκινο χρώμα) εντοπίζονται βήματα υαλώδους μετάβασης. Επίσης, κατά την πρώτη θέρμανση παρουσιάζεται διπλή (Σχήμα 6.6, $h_w = 17\%$) ή μονή κορυφή (Σχήμα 6.8, $h_w = 19\%$) μετάβασης γέλης-διαλύματος. Στους επαναληπτικούς (κόκκινους) κύκλους θέρμανσης παρατηρούνται μόνο βήματα υαλώδους μετάβασης.

Στο υψηλότερο ποσοστό υδάτωσης ($h_w = 46\%$) πραγματοποιούνται τόσο η Μετάβαση GEL-SOL όσο και η αντίστροφη της SOL-GEL κατά την ψύξη.

Πιο συγκεκριμένα, στο Σχήμα 6.10 με τον πρώτο κύκλο θέρμανσης, παρατηρείται μία εξώθερμη κορυφή ψυχρής κρυστάλλωσης στους -29°C , μία έντονη κορυφή τήξης στους -5°C και μία πολύ μικρότερη κορυφή, η οποία σημειώνεται στο σχήμα με βελάκι, περί τους 24°C . Η τελευταία αντιστοιχεί στη μετάβαση γέλης-διαλύματος.

Στον ακόλουθο κύκλο ψύξης, που φαίνεται στο Σχήμα 6.9, σημειώνεται διπλή εξώθερμη κορυφή κρυστάλλωσης. Με βελάκι σημειώνεται σε αυτό το διάγραμμα μία μικρή εξώθερμη κορυφή που αντιστοιχεί στη μετάβαση διαλύματος-γέλης και παρατηρείται στους 13°C .

Στον Πίνακα 6.2³ παρουσιάζονται οι θερμοκρασίες στις οποίες γίνονται αυτές οι χαρακτηριστικές αλλαγές φάσης στη Ζελατίνη, καθώς και οι αντίστοιχες ενθαλπίες και ειδικές θερμοχωρητικότητες.

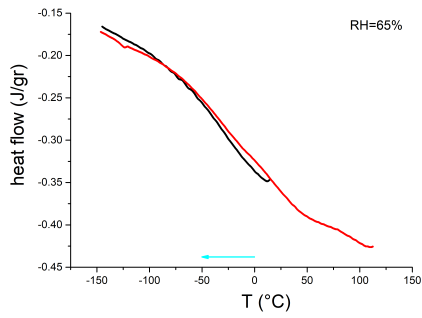
ΠΙΝΑΚΑΣ 6.2: Αποτελέσματα DSC για τη Ζελατίνη.

$h_w(\%)$	Φαινόμενο	$T(^{\circ}C)$	$\Delta H(\frac{J}{gr})$	$X_c(\%)$	$\Delta C_p(\frac{J}{gr^{\circ}C})$
17%	GEL-SOL	49, 72	17	—	—
17%	Υαλώδης Μετάβαση	32	—	—	0.30
19%	GEL-SOL	64	7.6	—	—
19%	Υαλώδης Μετάβαση	14	—	—	0.43
46%	Υαλώδης Μετάβαση	-86.6	—	—	0.45(*)
46%	Κρυστάλλωση	-58, -37	2.1, 5.6	3.3	—
46%	Τήξη	-5	40	12	—
46%	Ψυχρή Κρυστάλλωση	-29	22	—	—
46%	GEL-SOL	24	3.1	—	—
46%	SOL-GEL (Ψύξη)	13	1.4	—	—

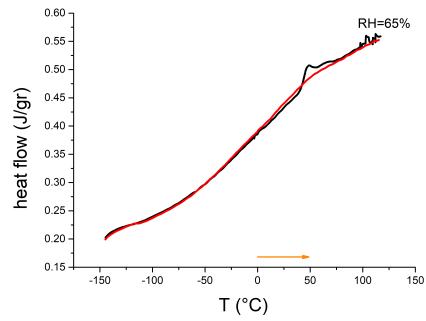
Είναι αξιοσημείωτο το πόσο μικρό ποσοστό νερού (μόλις 3.3%) κρυσταλλώνεται στη ζελατίνη. Αυτό ίσως δικαιολογεί την πολύ χαμηλή θερμοκρασία Υαλώδους Μετάβασης στους $-87^{\circ}C$, διότι το νερό δεν κρυσταλλώνεται άρα συμμετέχει στην πλαστικοποίηση της ζελατίνης. Σημειώνεται επιπλέον πως το ποσοστό κρυσταλλωμένου νερού κατά την τήξη είναι αρκετά μεγαλύτερο (12%), αλλά όχι τόσο μεγάλο όσο στα υπόλοιπα δοκίμια. Αυτό ίσως οφείλεται στην ψυχρή κρυστάλλωση που προηγείται της τήξης στη ζελατίνη.

Στα διαγράμματα 6.11 έως 6.16 της επόμενης σελίδας εμφανίζονται οι κύκλοι ψύξης και θέρμανσης του **Υαλουρονικού Οξέος**, για διάφορα ποσοστά υδάτωσης. Υπενθυμίζεται πως το Υαλουρονικό Οξύ που εξετάστηκε στην παρούσα εργασία σταυροδέθηκε με Τυραμίνη με αναλογία 1:2.

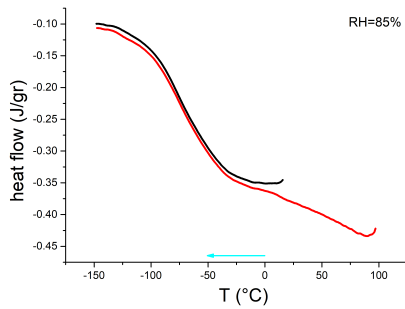
³Στα κελιά με τη σήμανση (*), σε αυτόν και τους επόμενους τέσσερις πίνακες, δίνεται μία ενδεικτική τιμή της ειδικής θερμοχωρητικότητας. Αυτή υπολογίστηκε με εύρεση του σημείου καμπής στο βήμα της υαλώδους μετάβασης. Αυτή η μέθοδος σε σχέση με την κύρια μέθοδο υπολογισμού του ΔC_p δίνει σφάλμα στη θερμοκρασία υαλώδους μετάβασης μέχρι $10^{\circ}C$.



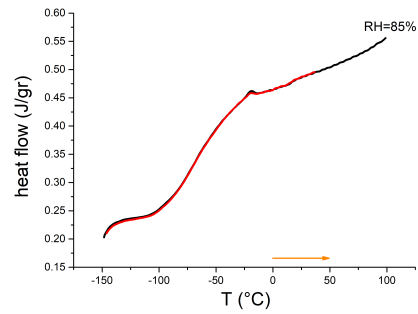
ΣΧΗΜΑ 6.11: Γαλουρονικό Οξύ με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 21\%$. 1^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).



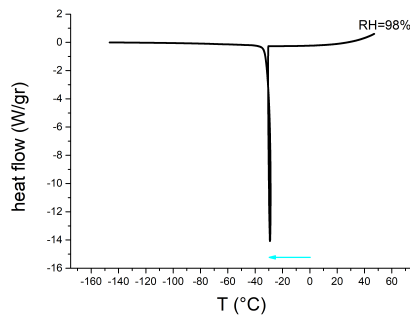
ΣΧΗΜΑ 6.12: Γαλουρονικό Οξύ με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 21\%$. 1^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).



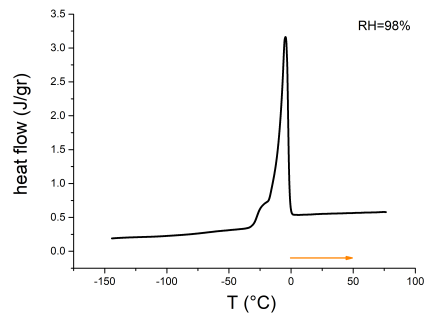
ΣΧΗΜΑ 6.13: Γαλουρονικό Οξύ με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 43\%$. 1^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).



ΣΧΗΜΑ 6.14: Γαλουρονικό Οξύ με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 43\%$. 1^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).



ΣΧΗΜΑ 6.15: Γαλουρονικό Οξύ με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 68\%$. 2^{ος} Κύκλος Ψύξης.



ΣΧΗΜΑ 6.16: Γαλουρονικό Οξύ με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 68\%$. 1^{ος} Κύκλος Θέρμανσης.

Στα Σχήματα 6.11 έως και 6.14 παρατηρείται βήμα υαλώδους μετάβασης με θερμοκρασιακό εύρος $-100...50^{\circ}C$ στο χαμηλότερο ποσοστό $h_w = 21\%$ και με λίγο μικρότερο θερμοκρασιακό εύρος $-75... - 25^{\circ}C$ για $h_w = 43\%$.

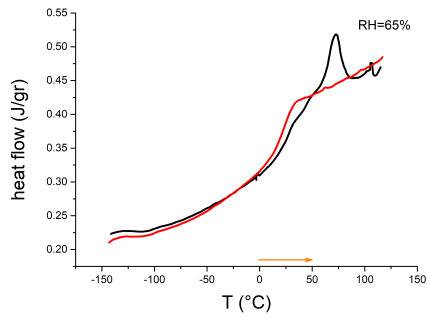
Στα Σχήματα 6.15 και 6.16, όπου το ποσοστό υδάτωσης του ΗΑ είναι $h_w = 68\%$, παρατηρείται βήμα Υαλώδους Μετάβασης περί τους $-62^{\circ}C$. Επιπλέον, στον κύκλο ψύξης σημειώνεται μία ισχυρά εξώθερμη κορυφή κρυστάλλωσης, ενώ κατά τη θέρμανση υπάρχει η αντίστοιχη κορυφή τήξης.

Στον Πίνακα 6.3 που ακολουθεί σημειώνονται οι χαρακτηριστικές θερμοκρασίες για την Υαλώδη Μετάβαση σε όλα τα ποσοστά υδάτωσης και για την Κρυστάλλωση και Τήξη στο υψηλότερο ποσοστό h_w . Είναι αξιοσημείωτη η τιμή του ποσοστού κρυστάλλωσης του νερού μες στο ΗΑ, η οποία φτάνει το 45% κατά την τήξη.

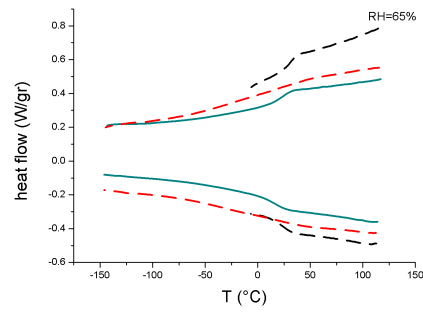
ΠΙΝΑΚΑΣ 6.3: Αποτελέσματα DSC για το Υαλουρονικό Οξύ.

$h_w(\%)$	Φαινόμενο	$T(^{\circ}C)$	$\Delta H(\frac{J}{gr})$	$X_c(\%)$	$\Delta C_p(\frac{J}{gr^{\circ}C})$
21%	Υαλώδης Μετάβαση	-7	—	—	0.7
43%	Υαλώδης Μετάβαση	-63	—	—	0.9
68%	Υαλώδης Μετάβαση	-62	—	—	0.29(*)
68%	Κρυστάλλωση	-24	136	40.8	—
68%	Τήξη	-5	151	45.3	—

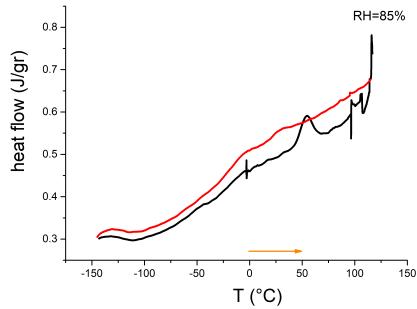
Ακολουθούν τα διαγράμματα 6.17 μέχρι και 6.22, τα οποία απεικονίζουν τη συμπεριφορά του πρώτου μείγματος με σύσταση **HA/GEL 30/70**, δηλαδή με κυρίαρχη τη ζελατίνη.



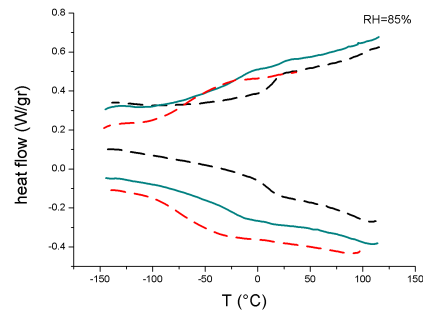
ΣΧΗΜΑ 6.17: HA/GEL 30/70 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 18\%$. 1^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).



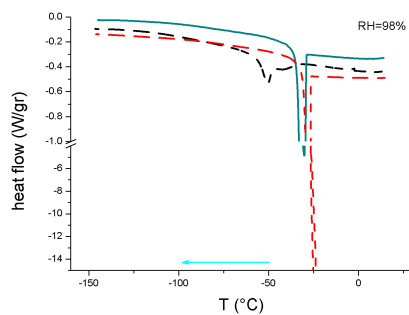
ΣΧΗΜΑ 6.18: 2^{οι} Κύκλοι Θέρμανσης-Ψύξης για HA/GEL 30/70 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 18\%$ (μπλε). Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 17\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 21\%$).



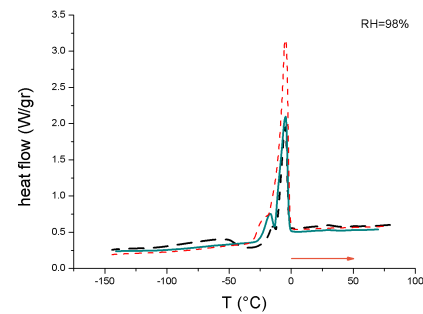
ΣΧΗΜΑ 6.19: HA/GEL 30/70 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 25\%$. 1^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).



ΣΧΗΜΑ 6.20: 2^{οι} Κύκλοι Θέρμανσης-Ψύξης για HA/GEL 30/70 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 25\%$ (μπλε). Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 19\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 43\%$).



ΣΧΗΜΑ 6.21: HA/GEL 30/70 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 51\%$ (μπλε). 1^{ος} Κύκλος Ψύξης. Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 46\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 68\%$).



ΣΧΗΜΑ 6.22: HA/GEL 30/70 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 51\%$ (μπλε). 1^{ος} Κύκλος Θέρμανσης. Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 46\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 68\%$).

Κατά την πρώτη θέρμανση (Σχήμα 6.17, μαύρη καμπύλη) παρουσιάζεται κορυφή γέλης-διαλύματος περί τους 70°C , ενώ στη δεύτερη (κόκκινη καμπύλη) υπάρχει μόνο το βήμα υαλώδους μετάβασης που παρατηρήθηκε και στον κύκλο ψύξης που προηγήθηκε⁴.

Στο διάγραμμα 6.19, εκτός από τη **διπλή** υαλώδη μετάβαση στο δεύτερο κύκλο θέρμανσης (κόκκινο), παρατηρείται πάλι η ενδόθερμη κορυφή γέλης-διαλύματος, περί τους 50°C , σε αυτό το πιο υδατωμένο δείγμα⁵. Συμπερασματικά, η ιδιότητα της μετάβασης GEL-SOL της καθαρής ζελατίνης φαίνεται να διατηρείται σε αυτό το μείγμα και να μετατοπίζεται σε χαμηλότερη θερμοκρασία όσο το ποσοστό νερού στο μείγμα αυξάνεται.

Στα Σχήματα 6.18 και 6.20 γίνεται άμεση σύγκριση των καθαρών συστατικών με το μείγμα HA/GEL 30/70 για το δεύτερο κύκλο ψύξης-θέρμανσης και για δύο διαφορετικά ποσοστά υδάτωσης. Από αυτά φαίνεται στην πρώτη περίπτωση ($h_w = 18\%$) το βήμα υαλώδους μετάβασης του μείγματος να μοιάζει με αυτό της ζελατίνης. Στη δεύτερη περίπτωση ($h_w = 25\%$) παρατηρείται στο μείγμα ένα βήμα υαλώδους μετάβασης με τιμή κι εύρος ανάμεσα στα δύο «καθαρά» συστατικά.

Στο μεγαλύτερο ποσοστό υδάτωσης $h_w = 51\%$ του μείγματος 30/70 διαπιστώνεται βήμα υαλώδους μετάβασης στους -67°C , μία εξώθερμη κορυφή κρυστάλλωσης κατά την ψύξη στους -31°C (Σχήμα 6.21) και διπλή κορυφή τήξης στους -17°C και -5°C κατά τη θέρμανση (Σχήμα 6.22).

Σε σχέση με τα δύο καθαρά συστατικά, η πιο οξεία κορυφή κρυστάλλωσης παρατηρείται σε θερμοκρασία -25°C και είναι του HA, το οποίο περιέχει και το μεγαλύτερο ποσοστό νερού ($h_w = 68\%$). Αντίθετα, στη ζελατίνη με $h_w = 46\%$ παρατηρείται η μικρότερη κορυφή κρυστάλλωσης, περίπου στους -60°C . Το μείγμα 30/70 έχει ενδιάμεσο ποσοστό υδάτωσης ($h_w = 51\%$), οπότε και οι κορυφές τήξης-κρυστάλλωσης έχουν ενδιάμεση ένταση.

Σημειώνεται, επιπλέον, πως οι θερμοκρασίες τήξης έχουν ίδια τιμή και στις τρεις υδρογέλες, αλλά η μορφή της κορυφής που αντιστοιχεί στο μείγμα φαίνεται να μοιάζει περισσότερο με τη ζελατίνη, η οποία είναι και η κυρίαρχη στην αναλογία αυτού του μείγματος.

⁴Οι κύκλοι ψύξης δεν παρατίθενται για κανένα από τα τρία μείγματα, αφού οι συμπεριφορές ήταν όμοιες με των δύο καθαρών συστατικών. Για λόγους πληρότητας, οι κύκλοι ψύξης στα τρία μείγματα χαμηλών ποσοστών υδάτωσης δίνονται στο Παράρτημα Β.

⁵Το σήμα που εμφανίζεται σε υψηλότερες θερμοκρασίες στο Σχήμα 6.19 είναι θόρυβος.

Τελικά, φαίνεται πως στο μείγμα HA/GEL 30/70 σε χαμηλά ποσοστά υδάτωσης κυριαρχεί η συμπεριφορά της ζελατίνης, ενώ όσο αυξάνεται το προσροφώμενο νερό οι παρατηρούμενες αλλαγές φάσεων οφείλονται σε νερό που αλληλεπιδρά με το HA.

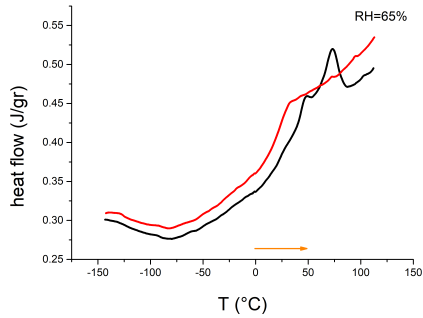
Όλα τα αποτελέσματα για τις αλλαγές φάσης του μείγματος HA/GEL 30/70 στα διάφορα ποσοστά υδάτωσης συγκεντρώνονται στον Πίνακα 6.4.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.4: Αποτελέσματα DSC για το Μείγμα HA/GEL 30/70.

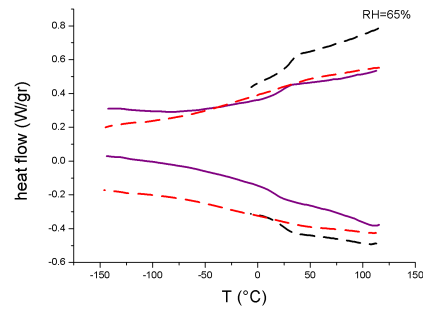
$h_w(\%)$	Φαινόμενο	$T(^{\circ}C)$	$\Delta H(\frac{J}{gr})$	$X_c(\%)$	$\Delta C_p(\frac{J}{gr^{\circ}C})$
18%	GEL-SOL	72.5	4.9	—	—
18%	Υαλώδης Μετάβαση	25.6	—	—	0.27
25%	GEL-SOL	53.5	4.2	—	—
25%	Υαλώδης Μετάβαση	-39.9, 22.2	—	—	0.62, 0.09
51%	Υαλώδης Μετάβαση	-67.3	—	—	0.38(*)
51%	Κρυστάλλωση	-31	72	21.3	—
51%	Τήξη	-17, -5	85.6	25.7	—
51%	GEL-SOL	23	3.4	—	—
51%	SOL-GEL (Ψύξη)	13.6	0.24	—	—

Σημειώνεται πως οι κορυφές των μεταβάσεων GEL-SOL και SOL-GEL του μείγματος δε φαίνονται στα διαγράμματα 6.22 και 6.21, αντίστοιχα, διότι είναι πολύ μικρές.

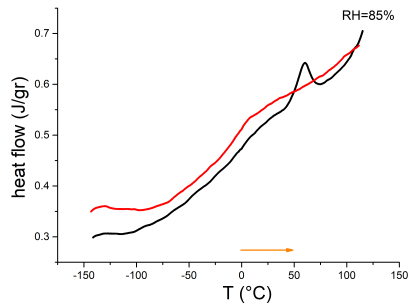
Στα Σχήματα 6.23 έως 6.28 απεικονίζονται οι χαρακτηριστικές μεταβάσεις του δεύτερου μείγματος: **HA/GEL 50/50**. Επίσης συγκρίνονται κάποιοι κύκλοι θέρμανσης/ψύξης του μείγματος με τους αντίστοιχους της υδατωμένης ζελατίνης και του υδατωμένου HA.



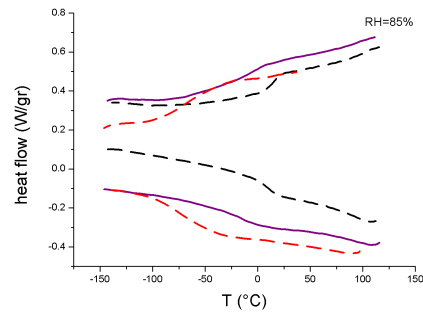
ΣΧΗΜΑ 6.23: HA/GEL 50/50 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 16\%$. 1^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).



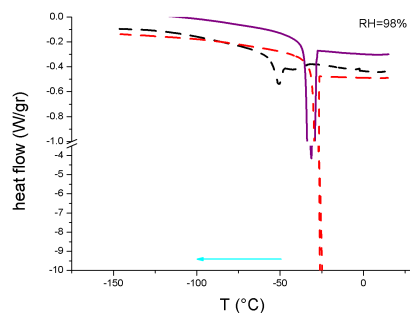
ΣΧΗΜΑ 6.24: 2^{οι} Κύκλοι Θέρμανσης-Ψύξης για HA/GEL 50/50 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 16\%$ (μωβ). Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 17\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 21\%$).



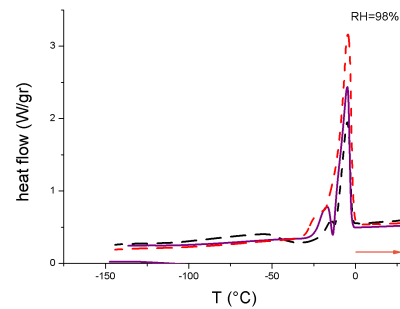
ΣΧΗΜΑ 6.25: HA/GEL 50/50 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 26\%$. 1^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).



ΣΧΗΜΑ 6.26: 2^{οι} Κύκλοι Θέρμανσης-Ψύξης για HA/GEL 50/50 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 26\%$ (μωβ). Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 19\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 43\%$).



ΣΧΗΜΑ 6.27: HA/GEL 50/50 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 53\%$ (μωβ). 1^{ος} Κύκλος Ψύξης. Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 46\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 68\%$).



ΣΧΗΜΑ 6.28: HA/GEL 50/50 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 53\%$ (μωβ). 1^{ος} Κύκλος Θέρμανσης. Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 46\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 68\%$).

Στην πρώτη θέρμανση αυτού του μείγματος με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 16\%$ (Σχήμα 6.23) παρατηρούνται οι δύο κορυφές της μετάβασης γέλης-διαλύματος σε θερμοκρασίες 47 και 73°C , ενώ στο δεύτερο κύκλο υπάρχει μόνο το βήμα της υαλώδους μετάβασης ($-80\dots 20^\circ\text{C}$). Όταν το δείγμα περιέχει $h_w = 26\%$ νερό (Σχήμα 6.25), πάλι παρατηρείται κορυφή της μετάβασης γέλης-διαλύματος, μονή και στην ενδιάμεση θερμοκρασία των 60°C . Το βήμα υαλώδους μετάβασης (κόκκινο) είναι και πάλι **διπλό**: στους -40°C & 23°C .

Στα Σχήματα 6.24 & 6.26 συγκρίνονται τα βήματα υαλώδους μετάβασης του υδατωμένου μείγματος 50/50 σε σχέση με τα καθαρά συστατικά. Τα βήματα υαλώδους μετάβασης παρουσιάζουν ενδιάμεση συμπεριφορά σε σχέση με τα «καθαρά» συστατικά και στα δύο ποσοστά υδάτωσης, ενώ στο δείγμα με το περισσότερο νερό παρατηρούνται δύο βήματα, το οποίο μπορεί να σημαίνει διαχωρισμό των φάσεων.

Στο Σχήμα 6.27 φαίνεται η εξώθερμη κορυφή κρυστάλλωσης (μωβ) του μείγματος στους -31°C . Κατά τη θέρμανση του μείγματος (Σχήμα 6.28), φαίνεται και πάλι διπλή ενδόθερμη κορυφή τήξης στους -25 και -5°C , αντίστοιχα. Το εμβαδόν (δηλ. η ενθαλπία) της κορυφής τήξης του μείγματος είναι μικρότερο σε σχέση με το αντίστοιχο του HA, αλλά μεγαλύτερο από της ζελατίνης, αλλά τονίζεται πως το μείγμα έχει άλλο (ενδιάμεσο) ποσοστό υδάτωσης από τα «καθαρά συστατικά».

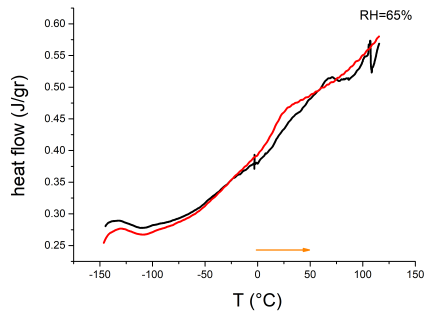
Τέλος, το μείγμα HA/GEL 50/50 παρατηρείται βήμα υαλώδους μετάβασης στους -68°C , καθώς και οι μεταβάσεις GEL-SOL και SOL-GEL στους 29 και 10°C , αντίστοιχα. Τα φαινόμενα αυτά δεν είναι πολύ έντονα, γι' αυτό και δεν παρατηρούνται άμεσα στα διαγράμματα 6.28 και 6.27, αντίστοιχα. Ωστόσο, είναι σημαντικό το γεγονός πως παρατηρούνται, διότι σημαίνει πως η ιδιότητα της ζελατίνης διατηρείται.

Όλα τα θερμοδυναμικά μεγέθη που αφορούν το δεύτερο μείγμα στα διάφορα ποσοστά υδάτωσης που μελετήθηκε συνοψίζονται στον Πίνακα 6.5.

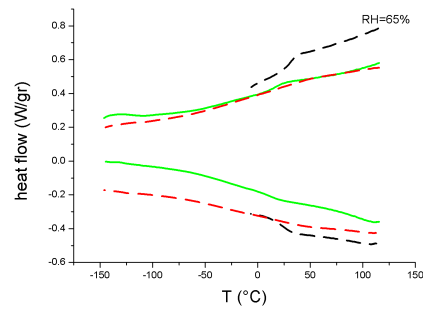
ΠΙΝΑΚΑΣ 6.5: Αποτελέσματα DSC για το Μείγμα HA/GEL 50/50.

$h_w(\%)$	Φαινόμενο	$T(^{\circ}C)$	$\Delta H(\frac{J}{gr})$	$X_c(\%)$	$\Delta C_p(\frac{J}{gr^{\circ}C})$
16%	GEL-SOL	47, 73	5.8	—	—
16%	Υαλώδης Μετάβαση	21.5	—	—	0.34
26%	GEL-SOL	60	4.8	—	—
26%	Υαλώδης Μετάβαση	-39.6, 23.2	—	—	0.39, 0.02
53%	Υαλώδης Μετάβαση	-68.1	—	—	0.37(*)
53%	Κρυστάλλωση	-31	71	21.3	—
53%	Τήξη	-4.9	91	27.3	—
53%	GEL-SOL	28.5	1.1	—	—
53%	SOL-GEL (Ψύξη)	10	1.9	—	—

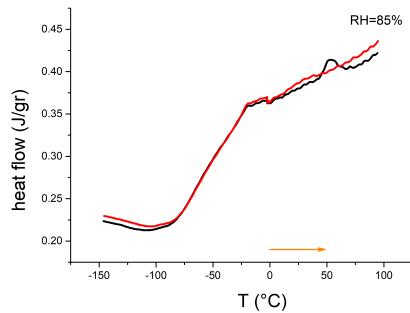
Τέλος, στην επόμενη σελίδα παρουσιάζεται το τρίτο δείγμα, με σύσταση **HAGEL 70/30**, όπου κυριαρχεί το HA.



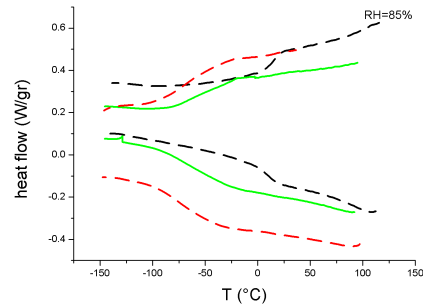
ΣΧΗΜΑ 6.29: HA/GEL 70/30 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 19\%$. 1^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).



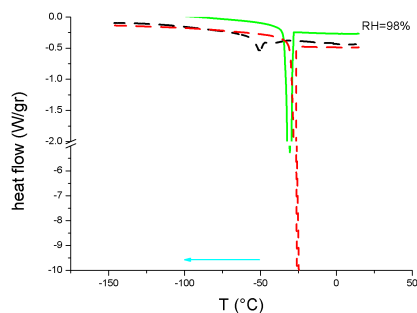
ΣΧΗΜΑ 6.30: 2^{οι} Κύκλοι Θέρμανσης-Ψύξης για HA/GEL 70/30 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 19\%$ (πράσινο). Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 17\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 21\%$).



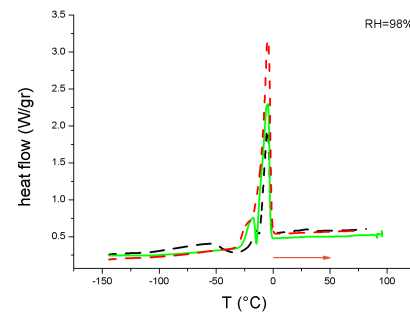
ΣΧΗΜΑ 6.31: HA/GEL 70/30 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 33\%$. 1^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Θέρμανσης (κόκκινο).



ΣΧΗΜΑ 6.32: 2^{οι} Κύκλοι Θέρμανσης-Ψύξης για HA/GEL 70/30 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 33\%$ (πράσινο). Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 19\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 43\%$).



ΣΧΗΜΑ 6.33: HA/GEL 70/30 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 56\%$ (πράσινο). 1^{ος} Κύκλος Ψύξης. Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 46\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 68\%$).



ΣΧΗΜΑ 6.34: HA/GEL 70/30 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 56\%$ (πράσινο). 1^{ος} Κύκλος Θέρμανσης. Σύγκριση με Ζελατίνη (μαύρη διακεκομμένη, $h_w = 46\%$) και HA (κόκκινη διακεκομμένη, $h_w = 68\%$).

Στο διάγραμμα 6.29 του μείγματος HA/GEL 70/30 με $h_w = 17\%$ στον πρώτο κύκλο θέρμανσης παρατηρείται η κορυφή γέλης-διαλύματος⁶ περί τους 51°C και στο δεύτερο κύκλο θέρμανσης βλέπει κανείς δύο βήματα υαλώδους μετάβασης: στους -27 και 18°C). Η συμπεριφορά αυτού του μείγματος, με κυρίαρχη τη φάση του HA, μοιάζει περισσότερο με αυτό, ήδη από το χαμηλότερο ποσοστό υδάτωσης.

Το διάγραμμα 6.32 αφορά το ίδιο μείγμα με περισσότερο νερό ($h_w = 33\%$) και παρατηρείται η ίδια τάση του βήματος υαλώδους μετάβασης να εκτείνεται σε μεγάλη θερμοκρασιακή περιοχή, όπως στο HA. Επίσης στο δεύτερο κύκλο θέρμανσης υπάρχει η κορυφή της μετάβασης γέλης-διαλύματος, άρα η ιδιότητα της ζελατίνης να πραγματοποιεί μετάβαση GEL-SOL συνεχίζει να διατηρείται και στο τρίτο μείγμα.

Από τα Σχήματα 6.33 και 6.34 (καμπύλες κρυσταλλώσεων-τήξεων, αντίστοιχα) παίρνει κανείς την ίδια πληροφορία με τα υπόλοιπα μείγματα: η θερμοκρασία τήξης δεν αλλάζει, η χαρακτηριστική θερμοκρασία κρυστάλλωσης στο μείγμα είναι στους -30°C , ενώ η ένταση της κορυφής τήξης του μείγματος είναι ενδιάμεση σε σχέση με τις κορυφές των καθαρών συστατικών, δεδομένου και του ενδιάμεσου ποσοστού υδάτωσης του σε σχέση με αυτό του HA ή της ζελατίνης.

Τέλος, παρατηρείται και βήμα υαλώδους μετάβασης περί τους -66°C για το δείγμα σε υψηλό ποσοστό υδάτωσης 33%. Συγκριτικά αναφέρεται πως στο μείγμα με σύσταση 50/50 η υαλώδης μετάβαση πραγματοποιήθηκε στους -67°C και στο 30/70 στους -68°C . Επομένως, η θερμοκρασία υαλώδους μετάβασης είναι σχεδόν ίδια για τα τρία μείγματα, ίσως επειδή και τα τρία είχαν απορροφήσει περίπου ίδια ποσότητα νερού.

⁶Η μορφή του σήματος από τους 100°C κι άνω είναι θόρυβος.

Οι χαρακτηριστικές θερμοκρασίες, ενθαλπίες, η ειδική θερμοχωρητικότητα υαλώδους μετάβασης και το ποσοστό κρυσταλλωμένου νερού για το τελευταίο μείγμα παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.6.

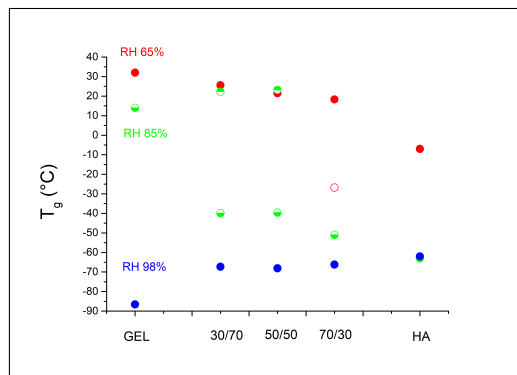
ΠΙΝΑΚΑΣ 6.6: Αποτελέσματα DSC για το Μείγμα HA/GEL 70/30.

$h_w(\%)$	Φαινόμενο	$T(^{\circ}C)$	$\Delta H(\frac{J}{gr})$	$X_c(\%)$	$\Delta C_p(\frac{J}{gr^{\circ}C})$
19%	Υαλώδης Μετάβαση	-26.8, 18.3	—	—	0.16, 0.19(*)
33%	GEL-SOL	51	0.98	—	—
33%	Υαλώδης Μετάβαση	-51	—	—	0.73
56%	Υαλώδης Μετάβαση	-66.2	—	—	0.24(*)
56%	Κρυστάλλωση	-31	82	24.6	—
56%	Τήξη	-4.7	100	30	—
56%	GEL-SOL	33	0.2	—	—

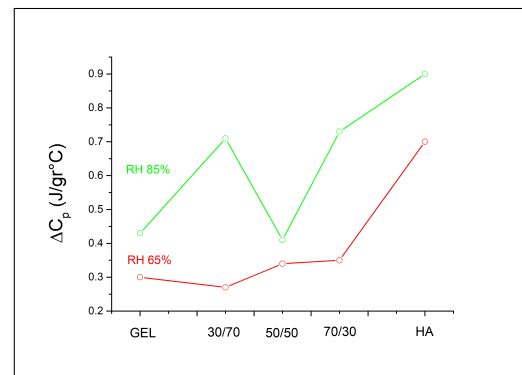
Σημειώνεται ότι σε αυτό το δοκίμιο, ακόμα και σε $h_w = 56\%$, **δεν** πραγματοποιείται Μετάβαση SOL-GEL κατά την ψύξη, ενώ η Μετάβαση GEL-SOL που καταγράφηκε στον Πίνακα 6.6 έχει εξαιρετικά μικρή τιμή ενθαλπίας ($0.2J/gr$). Γενικά, η τιμή ΔH_{GS} για μεγάλα ποσοστά υδάτωσης ξεκίνησε από $3.4J/gr$ στο μείγμα με κυρίαρχη τη φάση της ζελατίνης (30/70) και στο μείγμα 50/50 είναι $1.1J/gr$.

Τα αποτελέσματα που περιγράφηκαν στην Ενότητα 6.4.1 παρατίθενται συγκεντρωμένα κι εποπτικά στα Διαγράμματα 6.35 έως 6.39 και σχολιάζονται ανά φαινόμενο αλλαγής φάσης.

6.4.2 Η Υαλώδης Μετάβαση



ΣΧΗΜΑ 6.35: Συγκεντρωτικό διάγραμμα με τις θερμοκρασίες της Υαλώδους Μετάβασης για όλα τα δοκίμια (οριζόντιος άξονας) στις τρεις σχετικές υγρασίες.



ΣΧΗΜΑ 6.36: Συγκεντρωτικό διάγραμμα με τις ειδικές θερμοχωρητικότητες της Υαλώδους Μετάβασης για όλα τα δοκίμια (οριζόντιος άξονας) στις δύο χαμηλότερες σχετικές υγρασίες.

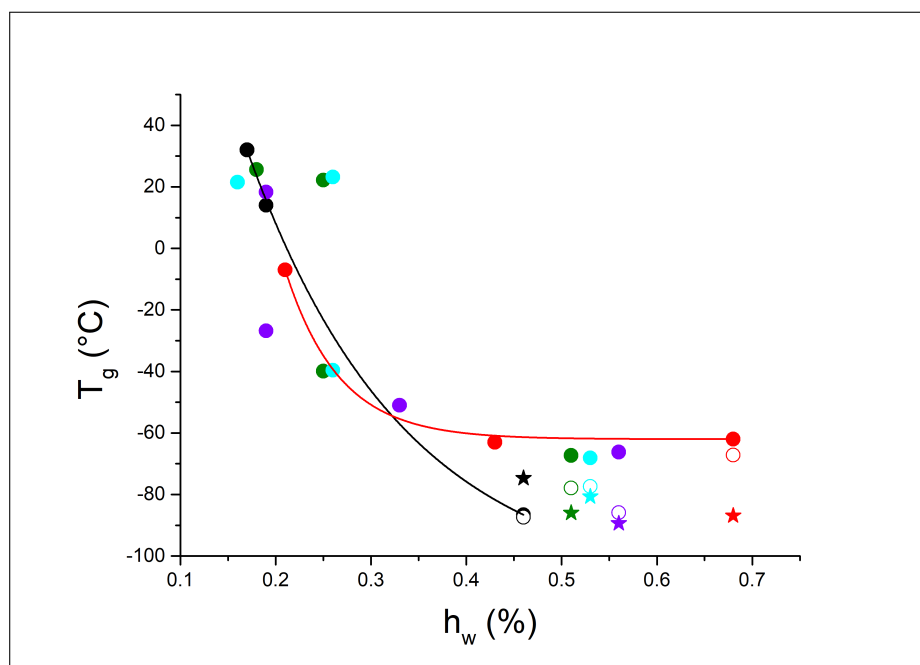
Στα Σχήματα 6.35 και 6.36 συγκεντρώνονται τα θερμοδυναμικά μεγέθη που αφορούν το φαινόμενο της Υαλώδους Μετάβασης για όλα τα δοκίμια που μελετήθηκαν. Σημειώνεται πως οι ειδικές θερμοχωρητικότητες που εικονίζονται στο διάγραμμα για τα μείγματα με διπλό βήμα υαλώδους μετάβασης είναι οι αθροιστικές. Επίσης, οι ΔC_p για $RH = 98\%$ δεν παρουσιάζονται στο Σχήμα 6.36, διότι έχει χρησιμοποιηθεί άλλη μέθοδος υπολογισμού (βάσει inflection point).

Για $RH = 65\%$ όλα τα δοκίμια έχουν περίπου τα ίδια ποσοστά υδάτωσης h_w . Παρατηρείται, λοιπόν, πως καθώς αυξάνεται το HA στη σύσταση των υδρογελών η θερμοκρασία Υαλώδους Μετάβασης μικραίνει. Αυτό αποδίδεται στην ιδιότητα του HA να πλαστικοποιείται πιο εύκολα ή θα μπορούσε να σημαίνει ότι το υαλουρονικό οξύ έχει χαμηλότερη θερμοκρασία υαλώδους μετάβασης σε σχέση με τη ζελατίνη. Παράλληλα, παρατηρείται αύξηση στις τιμές των ΔC_p (Σχήμα 6.36), αφού αυξάνεται η κινητικότητα των αλυσίδων. Τέλος, υπενθυμίζεται πως το μείγμα HA/GEL 70/30, με κυρίαρχη τη φάση του HA, παρουσιάζει δύο υαλώδεις μεταβάσεις, πιθανά μία για κάθε φάση του μείγματος.

Για $RH = 85\%$ τα ποσοστά υδάτωσης ανά δοκίμιο ποικίλλουν: Ζελατίνη ($h_w = 19\%$), Μείγματα ($h_w = 25-33\%$) και HA ($h_w = 43\%$). Ενόψει αυτών, τα δύο «καθαρά» συστατικά δεν μπορούν να συγκριθούν άμεσα. Στα μείγματα HA/GEL 30/70 και 50/50 υπενθυμίζεται

πως βρέθηκαν δύο Υαλώδεις Μετάβασεις, μία με θερμοκρασία κοντινή στην T_g του HA και μία με θερμοκρασία κοντινή στην T_g της ζελατίνης.

Στην περίπτωση της υψηλότερης σχετικής υγρασίας ($RH = 98\%$) και για την περίπτωση των μειγμάτων ($h_w = 50...55\%$) η T_g φαίνεται να διατηρείται σχεδόν σταθερή.



ΣΧΗΜΑ 6.37: Συγκεντρωτικό διάγραμμα με τις θερμοκρασίες Υαλώδους Μετάβασης συναρτήσει των ποσοστών υδάτωσης για όλα τα δοκίμια. Ζελατίνη (μαύρο), Υαλουρονικό Οξύ (κόκκινο), Μείγμα 30/70 (πράσινο), Μείγμα 50/50 (γαλάζιο) και Μείγμα 70/30 (μωβ).

Επειδή οι σχετικές υγρασίες (Σχήματα 6.35 και 6.36) δεν είναι ενδεικτικές των ποσοστών υδάτωσης των δειγμάτων, παρατίθεται και το διάγραμμα 6.37. Σε αυτό παρουσιάζονται οι θερμοκρασίες Υαλώδους Μετάβασης για κάθε δοκίμιο συναρτήσει του ποσοστού υγρασίας του.

Η κόκκινη καμπύλη αφορά το HA σε διάφορα ποσοστά υδάτωσης. Η μαύρη καμπύλη αφορά τη Ζελατίνη σε διάφορα ποσοστά υδάτωσης. Τονίζεται πως και οι δύο είναι μόνο ένας οδηγός για το μάτι. Με γνώμονα αυτές τις δύο καμπύλες, λοιπόν, θα συζητηθούν τα σημεία που αντιστοιχούν στα τρία μείγματα.

Τα κλειστά κυκλικά σημεία αφορούν τις θερμοκρασίες Υαλώδους Μετάβασης που μετρήθηκαν με ερμητικά κλειστά δοκίμια. Τα ανοιχτά κυκλικά σημεία αφορούν τις θερμοκρασίες Υαλώδους Μετάβασης που καταγράφηκαν στον πρώτο κύκλο εξάτμισης⁷ για το υψηλότερο

⁷Βλ. Ενότητα 6.5

ποσοστό υδάτωσης κάθε δοκιμίου. Τα ανοιχτά σημεία αντιστοιχούν στο ίδιο πείραμα με τα κλειστά, αλλά μετά από κάποιες εβδομάδες. Τα σημεία-αστέρια αφορούν το δεύτερο κύκλο εξάτμισης, και πάλι για τα υψηλότερα ποσοστά υδάτωσης των δοκιμίων.

Και τα τρία μείγματα φαίνεται να αρχίζουν από υψηλή θερμοκρασία στα χαμηλά ποσοστά υδάτωσης, όπως στην περίπτωση της Ζελατίνης (μαύρη καμπύλη). Έπειτα, ακολουθούν τη συμπεριφορά του Υαλουρονικού Οξέος όσο αυξάνεται το ποσοστό υδάτωσης τους. Το διπλό σημείο θερμοκρασίας Υαλώδους Μετάβασης παρατηρείται στο ενδιάμεσο ποσοστό νερού (h_w 30%) στο μείγμα HA/GEL 30/70. Η μία θερμοκρασία, η υψηλότερη, αντιστοιχεί στη ζελατίνη και η δεύτερη, χαμηλότερη, αντιστοιχεί στο HA και μάλιστα φαίνεται να ανήκει πάνω στην κόκκινη καμπύλη. Αντίστοιχη ακριβώς είναι η κατάσταση για το μείγμα HA/GEL 50/50. Στο μείγμα HA/GEL 70/30 το διπλό σημείο βρίσκεται σε χαμηλότερο ποσοστό υδάτωσης (h_w 20%), όπου και πάλι η υψηλότερη θερμοκρασία αντιστοιχεί στη ζελατίνη και η χαμηλότερη προσεγγίζει την καμπύλη του HA.

Όσον αφορά στις T_g των υψηλών ποσοστών υδάτωσης ($h_w \geq 45\%$), παρατηρείται πως αυτές που βρέθηκαν στις εξατμίσεις των δοκιμίων (ανοιχτοί κύκλοι) σε σχέση με αυτές των κλειστών δοκιμίων (κλειστοί κύκλοι) είναι κατά 10 βαθμούς χαμηλότερα για τα μείγματα 30/70 και 50/50. Για το μείγμα με κυρίαρχη τη φάση του HA (70/30) η διαφορά θερμοκρασίας είναι ακόμα μεγαλύτερη, περίπου 20 βαθμοί. Στη Ζελατίνη και στο HA δεν παρατηρείται μεγάλη αλλαγή θερμοκρασίας Υαλώδους Μετάβασης. Οι διαφορές αυτές οφείλονται πιθανότατα σε φαινόμενα γήρανσης. Δεδομένου πως τα δοκίμια δεν έχουν χάσει μάζα -αφού ξαναζυγίστηκαν πριν τα πειράματα εξάτμισης- οι αλλαγές στην T_g μπορούν να δικαιολογηθούν μόνο από την αναδιοργάνωση του νερού μες στις υδρογέλες με την πάροδο του χρόνου⁸. Το νερό, λοιπόν, είναι πιθανό να καταφέρνει να εισχωρεί σε περισσότερες -πιο δυσπρόσιτες- περιοχές μες στην υδρογέλη κι εκεί να μην μπορεί να κρυσταλλωθεί. Επομένως, επιτυγχάνεται περαιτέρω πλαστικοποίηση της υδρογέλης και οι πολυμερικές αλυσίδες του υλικού καθίστανται πιο ευκίνητες, μετακινώντας την υαλώδη μετάβαση σε χαμηλότερες θερμοκρασίες.

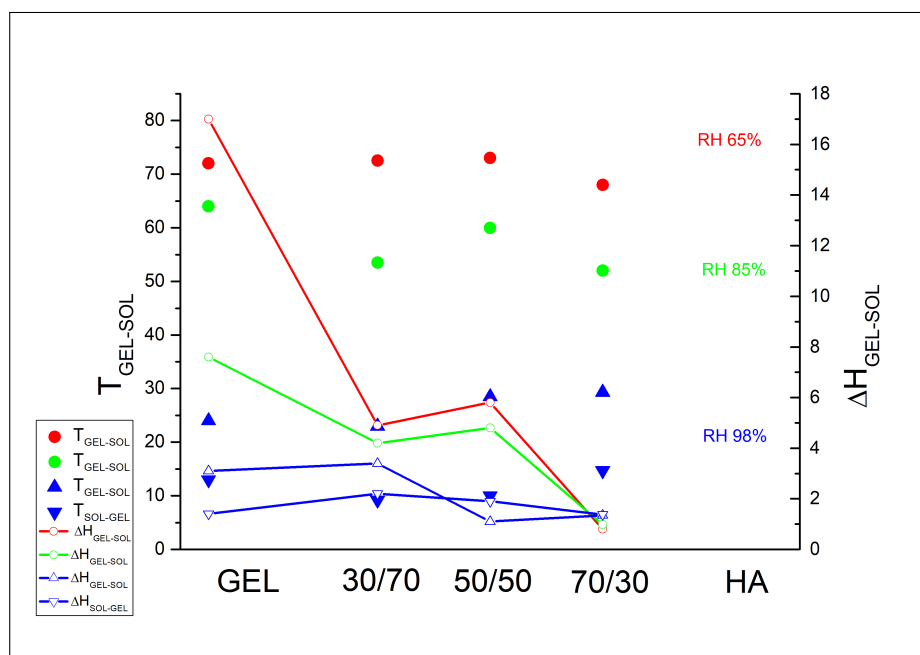
Τέλος, αξιοσημείωτη είναι η μεταβολή της υαλώδους μετάβασης καθώς τα δοκίμια χάνουν νερό κατά την εξάτμιση⁹. Συγκρίνοντας τους ανοιχτούς κύκλους με τα αστέρια -και με εξαίρεση τη Ζελατίνη- παρατηρεί κανείς πως μετά από εξάτμιση κάποιου νερού (σημεία-αστέρια) οι Υαλώδεις Μεταβάσεις μετακινούνται προς ακόμα χαμηλότερες θερμοκρασίες.

⁸Υπενθυμίζεται πως τα πειράματα εξάτμισης πραγματοποιήθηκαν περίπου 3 εβδομάδες μετά τα αρχικά πειράματα. Περισσότερες ενδείξεις γήρανσης των δοκιμίων υπάρχουν στο Παράρτημα Β στο τέλος της εργασίας.

⁹Τα αποτελέσματα των εξατμίσεων θα σχολιασθούν στην επόμενη ενότητα (6.5).

Μετά την εξάτμιση αναμένεται να υπάρχει ολοένα και λιγότερο κρυσταλλωμένο νερό στο δοκίμιο, άρα το σύστημα υδρογέλης-νερού καθίσταται και πάλι πιο ευκίνητο.

6.4.3 Η Μετάβαση Γέλης-Διαλύματος



ΣΧΗΜΑ 6.38: Συγκεντρωτικό διάγραμμα με τις θερμοκρασίες και ενθαλπίες της Μετάβασης Γέλης-Διαλύματος. Όλα τα δοκίμια (οριζόντιος άξονας) στις τρεις διαφορετικές σχετικές υγρασίες.

Στο συγκριτικό διάγραμμα 6.38 σημειώνονται οι θερμοκρασίες και ενθαλπίες της Μετάβασης Γέλης-Διαλύματος στις πέντε υδρογέλες. Καταρχήν, επειδή η συγκεκριμένη μετάβαση αφορά τη ζελατίνη και το νερό, είναι κυρίαρχη στη ζελατίνη, δε χάνεται στα μείγματα και δεν παρατηρείται καθόλου στο HA.

Η αντίστροφη διαδικασία (Διαλύματος-Γέλης) παρατηρείται στη ζελατίνη και στα τρία μείγματα, αλλά μόνο στα υψηλότερα ποσοστά υδάτωσης. Παρατηρείται επίσης πως οι θερμοκρασιακές διαφορές ΔT μεταξύ των δύο αντίστροφων μεταβάσεων στα τρία μείγματα και για $RH = 98\%$ είναι περίπου ίσες.

Στο χαμηλότερο ποσοστό σχετικής υγρασίας ($RH = 65\%$), όπου τα ποσοστά υδάτωσης όλων των δοκιμών είναι περίπου ίδια, παρατηρείται διατήρηση της T_{gs} σταθερή από τη ζελατίνη έως και το μείγμα 50/50 κι ελαφρώς μικρότερη θερμοκρασία για το μείγμα 70/30 (με περισσότερο HA). Η ενθαλπία του φαινομένου έχει μέγιστη τιμή στην καθαρή ζελατίνη και μειώνεται καθώς αυξάνεται το ποσοστό του HA στα μείγματα.

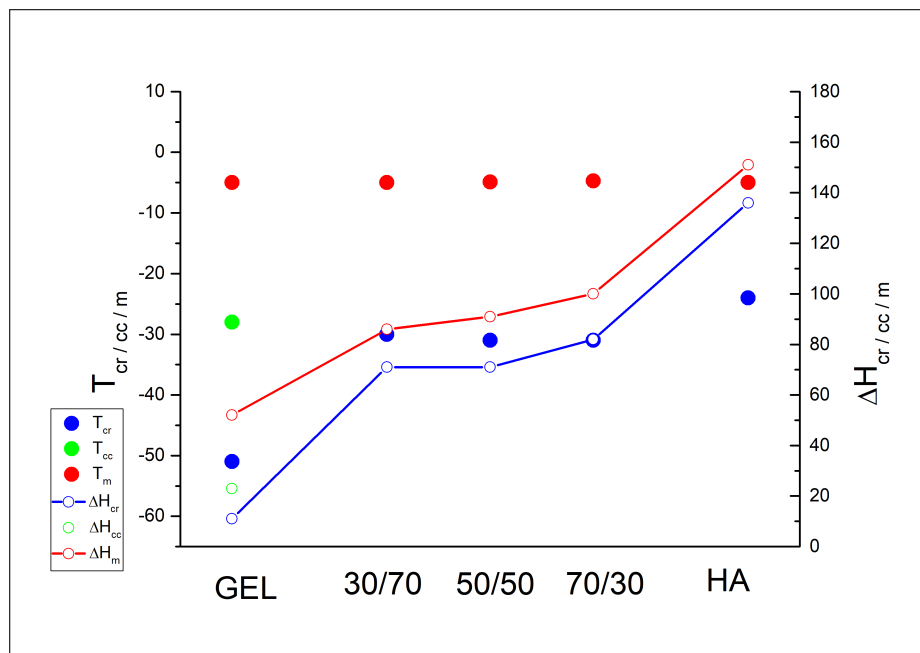
Για $RH = 85\%$, παρατηρείται πως η ενθαλπία της μετάβασης παίρνει και πάλι την υψηλότερη τιμή στο δείγμα της καθαρής ζελατίνης. Επιπλέον, η χαρακτηριστική θερμοκρασία της μετάβασης είναι υψηλότερη για την καθαρή ζελατίνη ($h_w = 19\%$) σε σχέση με την υδρογέλη HA/GEL 70/30 που συνίσταται κυρίως από HA κι έχει απορροφήσει περισσότερο νερό ($h_w = 33\%$). Από αυτό συμπεραίνει κανείς πως πιο σημαντική για τη μετάβαση GEL-SOL είναι η ζελατίνη παρά το ποσοστό νερού που συμμετέχει στο φαινόμενο.

Υπενθυμίζεται πως οι μεταβάσεις γέλης-διαλύματος (πράσινα και κόκκινα σημεία) στις $RH = 65, 85\%$ πραγματοποιούνται μόνο κατά την πρώτη θέρμανση των δοκιμών και δεν επαναλαμβάνονται στους δεύτερους κύκλους μετρήσεων. Ενδέχεται, λοιπόν, να σχετίζονται με τη θερμική προϊστορία των δοκιμών σε αυτές τις περιπτώσεις.

Τέλος, για $RH = 98\%$, οι θερμοκρασίες T_{gs} των τριών μειγμάτων με παρόμοια ποσοστά υδάτωσης αυξάνουν με την αύξηση του HA στο μείγμα. Η ζελατίνη, η οποία έχει μικρότερο ποσοστό υδάτωσης από τα μείγματα, πραγματοποιεί τη μετάβαση σε θερμοκρασία περίπου ίδια με το μείγμα 30/70.

Οι ενθαλπίες της ζελατίνης και του μείγματος 30/70 είναι σχεδόν ίδιες και για τη μετάβαση GEL-SOL και για την αντίστροφη της. Αυτό ίσως να είναι μη αναμενόμενο, αφού, κανονικοποιώντας ως προς το ποσό νερού και ζελατίνης που υπάρχει στο μείγμα έναντι της «καθαρής» ζελατίνης, το ΔH του μείγματος προκύπτει μεγαλύτερο κι όχι μικρότερο. Επίσης, παρατηρείται πως για τη ζελατίνη και το μείγμα 30/70 είναι $\Delta H_{SOL-GEL} < \Delta H_{GEL-SOL}$, ενώ για τα μείγματα 50/50 και 70/30 είναι $\Delta H_{SOL-GEL} > \Delta H_{GEL-SOL}$.

6.4.4 Φαινόμενα Τήξης & Κρυστάλλωσης



ΣΧΗΜΑ 6.39: Συγκεντρωτικό διάγραμμα με τις θερμοκρασίες και ενθαλπίες Κρυστάλλωσης(μπλε)-Ψυχρής Κρυστάλλωσης(πράσινο)-Τήξης(κόκκινο) για όλα τα δοκίμια. Σχετική Υγρασία $RH = 98\%$.

Στο Σχήμα 6.39 συγκεντρώθηκαν όλα τα χαρακτηριστικά μεγέθη που αφορούν τις κρυσταλλώσεις και τις τήξεις των πέντε δοκιμίων. Αυτά τα φαινόμενα παρατηρήθηκαν **μόνο** στο ανώτερο ποσοστό υδάτωσης του κάθε δοκιμίου, δηλ. για $h_w = 46\%$ στη ζελατίνη, $h_w = 50\text{...}55\%$ στα τρία μείγματα και $h_w = 68\%$ στο υαλουρονικό οξύ.

Η ζελατίνη έχει το μικρότερο ποσοστό υδάτωσης, άρα και τη χαμηλότερη θερμοκρασία και ενθαλπία κρυστάλλωσης. Αυτό υποδεικνύει πως το νερό κρυσταλλώνεται πιο δύσκολα μες στη δομή της. Για το ίδιο ποσοστό νερού στο υαλουρονικό οξύ, το νερό δεν κρυσταλλώνεται.

Τα μείγματα έχουν περίπου τα ίδια ποσοστά υδάτωσης, περίπου ίδια ποσοστά κρυσταλλωμένου νερού ($X_c = 20 - 25\%$) κι επομένως ίδιες θερμοκρασίες και ενθαλπίες κρυστάλλωσης, αφού το ποσοστό κρυστάλλωσης υπολογίζεται από τη ΔH_{cr} .

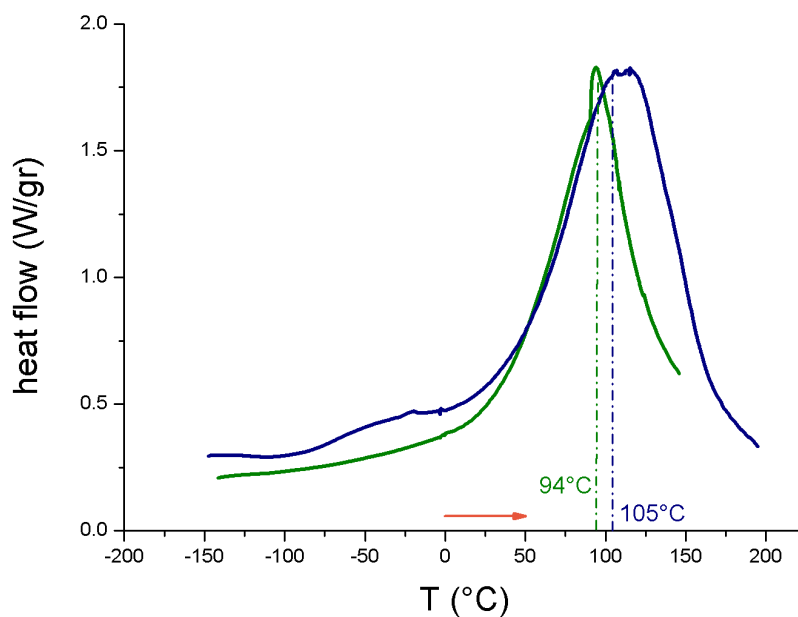
Το HA που έχει το υψηλότερο ποσοστό υδάτωσης έχει την υψηλότερη θερμοκρασία και ενθαλπία κρυστάλλωσης. Επομένως, προκύπτει πως το νερό κρυσταλλώνεται ευκολότερα μέσα στις δομές του υαλουρονικού οξέος. Αν η ζελατίνη προσροφούσε την ίδια ποσότητα νερού, θα κρυσταλλωνόταν και αυτή περισσότερο και σε υψηλότερη θερμοκρασία.

Τέλος, διαπιστώνεται πως η θερμοκρασία τήξης παραμένει σχεδόν σταθερή για όλα τα δείγματα, ανεξαρτήτα από τη σύστασή τους. Το φαινόμενο της ψυχρής κρυστάλλωσης παρατηρείται μόνο στη ζελατίνη.

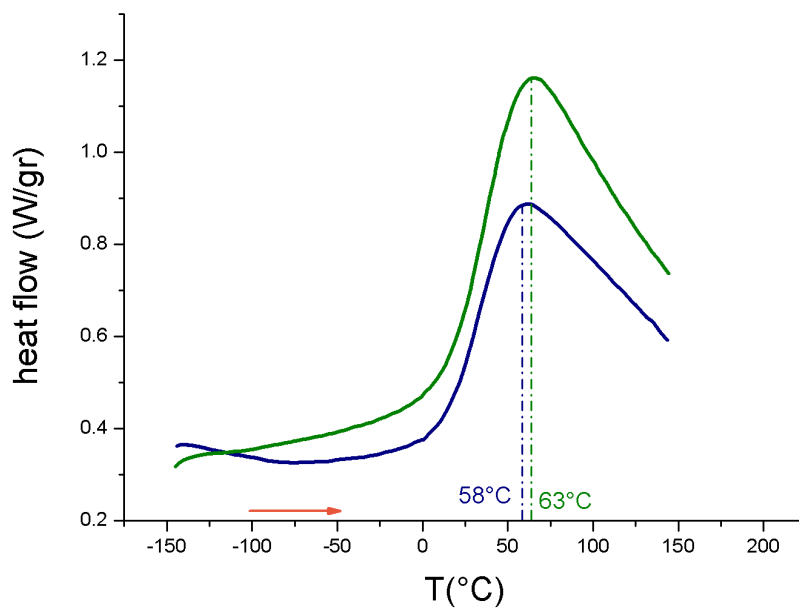
6.5 Πειράματα Εξάτμισης

Σε αυτή την ενότητα θα εξεταστούν οι διαδικασίες εξατμίσεων των διαφόρων πληθυσμών νερού στις πέντε υδρογέλες. Για να πραγματοποιηθούν αυτά τα πειράματα και να μπορεί το νερό να απελευθερωθεί στο περιβάλλον, δημιουργήθηκε στο καπάκι κάθε δοκιμίου μία οπή. Τα πειράματα εξατμίσεων δίνουν περισσότερες πληροφορίες για τις υπό μελέτη υδρογέλες, μεταξύ άλλων και τις ξηρές τους μάζες.

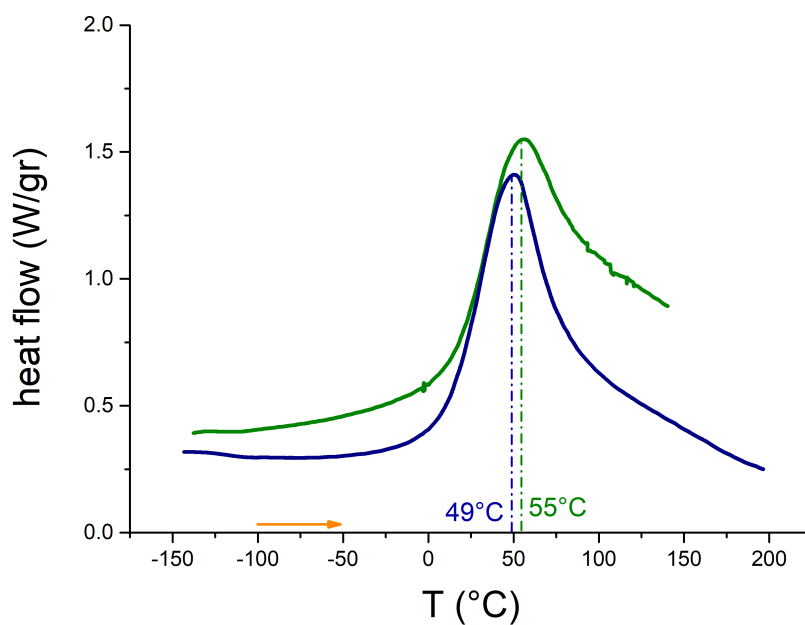
Στα Σχήματα 6.40 έως 6.42 παρατίθενται ορισμένα χαρακτηριστικά πειράματα εξατμίσεων για χαμηλά ποσοστά υδάτωσης του ΗΑ, της Ζελατίνης και του Μείγματος ΗΑ/GEL 50/50. Στο Σχήμα 6.43 παρατίθεται ένα συγκριτικό διάγραμμα με τις καμπύλες εξατμίσεων όλων των δοκιμιών από αρχική σχετική υγρασία 85% και κατά την πρώτη θέρμανση.



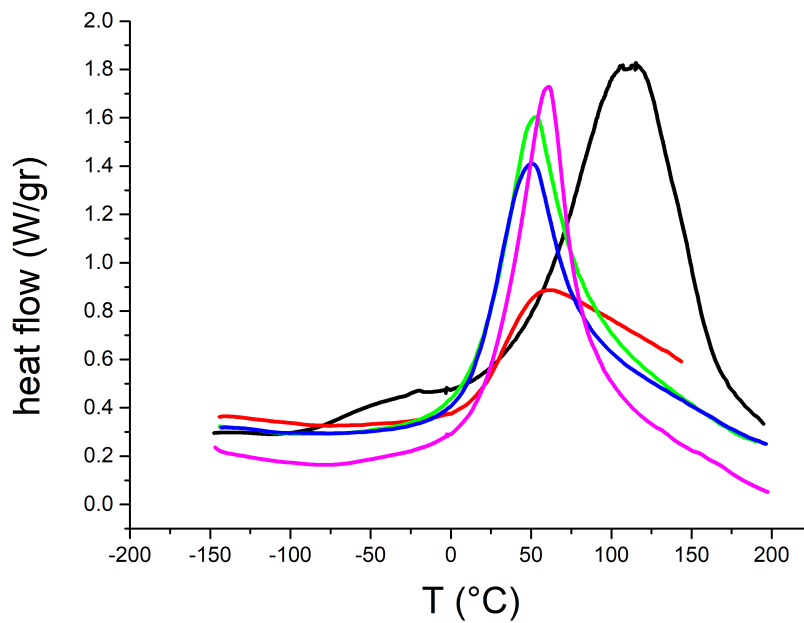
ΣΧΗΜΑ 6.40: Εξάτμιση στο ΗΑ. Ποσοστά Υδάτωσης 21% (πράσινο) και 43% (μπλε). 1^{ος} Κύκλος Ξήρανσης.



ΣΧΗΜΑ 6.41: Εξάτμιση στη Ζελατίνη. Ποσοστά Υδάτωσης 17% (πράσινο) και 19% (μπλε). 1^{ος} Κύκλος Ξήρανσης.



ΣΧΗΜΑ 6.42: Εξάτμιση στο Μείγμα HA/GEL 50/50. Ποσοστά Υδάτωσης 16% (πράσινο) και 26% (μπλε). 1^{ος} Κύκλος Ξήρανσης.



ΣΧΗΜΑ 6.43: Καμπύλες Εξατμίσεων από $RH = 85\%$. 1°C Κύκλος θέρμανσης για όλα τα δοκίμια: Ζελατίνη (κόκκινο), HA (μαύρο), HA/GEL 30/70 (πράσινο), 50/50 (μπλε) και 70/30 (μωβ).

Τα διαγράμματα 6.40 έως 6.42 απεικονίζουν τους κύκλους θέρμανσης των δοκιμίων μαζί με τις κορυφές εξάτμισης. Προηγήθηκαν οι αντίστοιχοι κύκλοι ψύξης που έδωσαν καμπύλες όμοιες με αυτές των ερμητικά κλειστών δοκιμίων¹⁰.

Στο Σχήμα 6.43 συγκρίνονται άμεσα οι μορφές των καμπύλων εξάτμισης των «καθαρών» συστατικών και των τριών μειγμάτων. Η T_{ev} είναι μεγαλύτερη στο Γαλουρονικό Οξύ, περίπου στους 100°C , και φαίνεται να ολοκληρώνεται η εξάτμιση. Είναι αξιοσημείωτο πως σε αυτή τη θερμοκρασία εξατμίζεται και το ελεύθερο (bulk) νερό, επομένως μπορεί αυτό να σημαίνει πως το HA επιτρέπει την ανεμπόδιστη εξάτμιση του νερού.

Στην περίπτωση της Ζελατίνης (κόκκινη καμπύλη) τα πράγματα είναι διαφορετικά. Η T_{ev} είναι χαμηλότερα και το νερό δε φαίνεται να ολοκληρώνει τη διαδικασία εξάτμισής του. Είναι πιθανό η ζελατίνη να εμποδίζει την εξάτμιση του νερού, αφού η εξάτμιση φαίνεται να γίνεται πιο σταδιακά.

Στα μείγματα οι θερμοκρασίες είναι πιο κοντά στην T_{ev} της ζελατίνης και οι μορφές των καμπύλων έχουν στοιχεία κι από τα δύο «καθαρά» συστατικά: οι κορυφές είναι τόσο έντονες

¹⁰Οι ακόλουθοι κύκλοι ψύξης-θέρμανσης μετά τις εξατμίσεις για κάθε δοκίμιο παρατίθενται στο Παράρτημα Β, στο τέλος αυτής της εργασίας.

όσο στο Υαλουρονικό Οξύ, αλλά εμφανίζουν «ουρά», δηλ. καθυστερεί να ολοκληρωθεί η εξάτμιση.

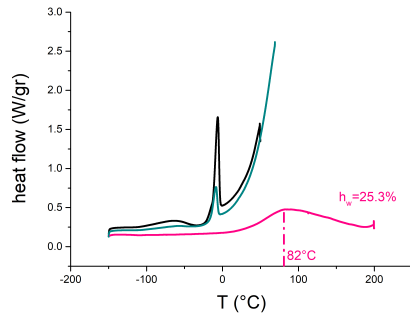
Στον Πίνακα 6.7 που δίνεται στη συνέχεια συνοψίζονται οι θερμοκρασίες και οι ενθαλπίες εξάτμισης¹¹, όπως αυτές υπολογίστηκαν για όλα τα δοκίμια που τοποθετήθηκαν στις δύο χαμηλότερες σχετικές υγρασίες.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.7: Αποτελέσματα πειραμάτων εξατμίσεων για τα δοκίμια χαμηλών ποσοστών υδάτωσης.

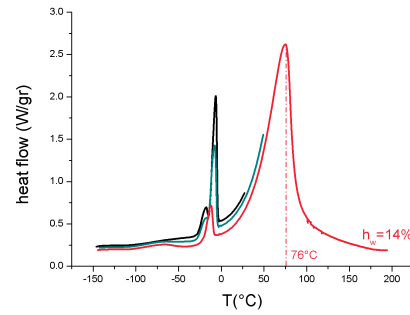
Δοκίμιο	$h_w(\%)$	$T_{ev}(^{\circ}C)$	$\Delta H_{ev}(\frac{J}{gr})$
GEL	17	63	260
	19	58	197
HA/GEL 30/70	18	61	240
	25	53	403
HA/GEL 50/50	16	55	255
	26	49	314
HA/GEL 70/30	19	52	270
	33	60	422
HA	21	94	402
	43	105	558

Από τον πίνακα 6.7 παρατηρεί κανείς πως σε όλα τα δοκίμια -πλυν της ζελατίνης- η ενθαλπία εξάτμισης αυξάνει με την αύξηση του ποσοστού νερού που προσλαμβάνει το δοκίμιο. Στα δοκίμια με κυρίαρχη τη φάση της ζελατίνης (HA/GEL 30/70 & 50/50) παρατηρείται πως με αύξηση του h_w μειώνεται η θερμοκρασία εξάτμισης. Αντίθετα, στο μείγμα 70/30 και στο καθαρό υαλουρονικό οξύ, με αύξηση του ποσοστού υδάτωσης αυξάνεται και η θερμοκρασία εξάτμισης.

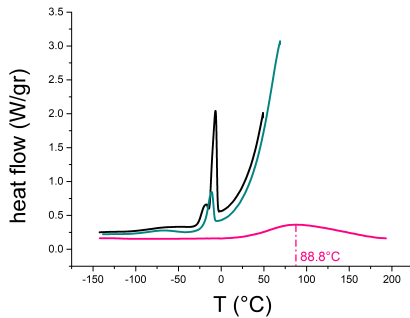
¹¹ Σημειώνεται πως οι ενθαλπίες εξάτμισης δεν είναι τόσο ακριβείς ως νούμερα, αφού οι μάζες των δοκιμίων συνεχώς αλλάζουν.



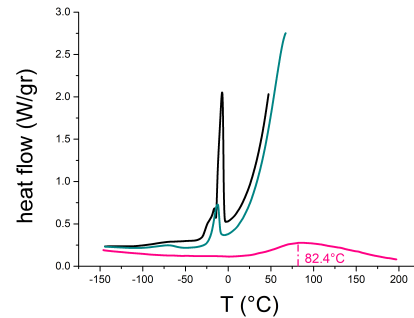
ΣΧΗΜΑ 6.44: Πειράματα Εξάτμισης στη Ζελατίνη ($h_w = 46\%$). Τρεις διαδοχικοί κύκλοι θέρμανσης: έως τους 50°C (μαύρο), έως τους 70°C (μπλε), έως τους 190°C (ροζ).



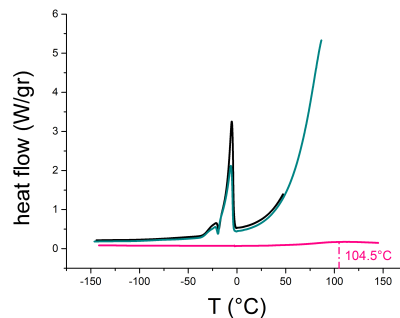
ΣΧΗΜΑ 6.45: Πειράματα Εξάτμισης στο Μείγμα HA/GEL 30/70 ($h_w = 51\%$). Τρεις διαδοχικοί κύκλοι θέρμανσης: έως τους 30°C (μαύρο), έως τους 50°C (μπλε), έως τους 190°C (ροζ).



ΣΧΗΜΑ 6.46: Πειράματα Εξάτμισης στο Μείγμα HA/GEL 50/50 ($h_w = 53\%$). Τρεις διαδοχικοί κύκλοι θέρμανσης: έως τους 50°C (μαύρο), έως τους 70°C (μπλε), έως τους 190°C (ροζ).



ΣΧΗΜΑ 6.47: Πειράματα Εξάτμισης στο Μείγμα HA/GEL 70/30 ($h_w = 56\%$). Τρεις διαδοχικοί κύκλοι θέρμανσης: έως τους 50°C (μαύρο), έως τους 70°C (μπλε), έως τους 190°C (ροζ).



ΣΧΗΜΑ 6.48: Πειράματα Εξάτμισης στο Υαλουρονικό Οξύ ($h_w = 68\%$). Τρεις διαδοχικοί κύκλοι θέρμανσης: έως τους 50°C (μαύρο), έως τους 85°C (μπλε), έως τους 150°C (ροζ).

Τα διαγράμματα 6.44 έως και 6.48 αφορούν τα διαδοχικά πειράματα εξάτμισης που πραγματοποιήθηκαν για όλα τα δοκίμια με υψηλά ποσοστά υδάτωσης. Πιο συγκεκριμένα, ο σκοπός ήταν να γίνονται σταδιακές εξατμίσεις (σε αντίθεση με τα πειράματα εξάτμισης για χαμηλότερα ποσοστά υδάτωσης), έτσι ώστε να παρατηρηθεί τι φαινόμενα τήξης/κρυστάλλωσης/υαλώδους μετάβασης παραμένουν με ολοένα και λιγότερο ποσοστό νερού μες στα δοκίμια.

Για παράδειγμα, στο Σχήμα 6.44 παρουσιάζονται οι διαδοχικοί κύκλοι εξάτμισης στην υδατωμένη ζελατίνη. Στην πρώτη θέρμανση, πριν δηλαδή να εξατμιστεί το πρώτο ποσοστό νερού, πραγματοποιείται το βήμα υαλώδους μετάβασης, η εξώθερμη ψυχρή κρυστάλλωση και αμέσως μετά παρατηρείται η ενδόθερμη κορυφή τήξης, περίπου όπως και στο κλειστό δοκίμιο. Στους περίπου 50°C αρχίζει η πρώτη εξάτμιση νερού¹². Στον επόμενο κύκλο θέρμανσης παρατηρείται μικρότερο βήμα υαλώδους μετάβασης, λιγότερο έντονη ψυχρή κρυστάλλωση και χαμηλότερη κορυφή τήξης. Έπειτα εξατμίζεται και δεύτερο ποσοστό νερού. Τελικά, στον τρίτο κύκλο θέρμανσης δεν παρατηρείται κανένα φαινόμενο, μέχρι που στους περίπου 100°C πραγματοποιείται η τρίτη και ολοκληρωμένη πλέον εξάτμιση.

Στα Σχήματα 6.46 & 6.47 παρατηρείται παρόμοια συμπεριφορά για τα δύο μείγματα: 50/50 και 70/30 HA/GEL. Συγκεκριμένα, στον πρώτο κύκλο θέρμανσης υπάρχει ένα μικρό βήμα υαλώδους μετάβασης, διπλή κορυφή τήξης -η πρώτη πιο μικρή από τη δεύτερη- και εξάτμιση. Μετά την πρώτη εξάτμιση, παραμένει το βήμα υαλώδους μετάβασης, ακολουθείται από ψυχρή κρυστάλλωση και η κορυφή τήξης γίνεται μία και πιο μικρή, δεδομένου πως το ποσοστό κρυστάλλωσης του 50/50 υπολογίστηκε $X'_c = 6.3\%$ και το αντίστοιχο του 70/30 βρέθηκε $X'_c = 5.7\%$. Έπειτα εξατμίζεται λίγο παραπάνω νερό, οπότε τελικά δεν παρατηρείται καμία μετάβαση φάσης στον τρίτο κύκλο. Τελικά, στη ροζ καμπύλη, ολοκληρώνεται η διαδικασία της εξάτμισης.

Στο Σχήμα 6.45 παρουσιάζεται η συμπεριφορά του μείγματος HA/GEL 30/70 στα πειράματα εξάτμισης. Στον πρώτο κύκλο (μαύρη καμπύλη) παρατηρείται βήμα υαλώδους μετάβασης και διπλή κορυφή τήξης, στο δεύτερο (μπλε καμπύλη) μια ενδιάμεση κατάσταση για την κορυφή τήξης ($X'_c = 17.7\%$) και στον τρίτο κύκλο (ροζ καμπύλη) η κορυφή τήξης είναι μικρότερη και μοναδική ($X''_c = 5.4\%$). Στο δεύτερο και τρίτο κύκλο θέρμανσης παρατηρείται επίσης βήμα υαλώδους μετάβασης, μετά το οποίο φαίνεται εξώθερμη κορυφή ψυχρής κρυστάλλωσης-αμέσως πριν την τήξη. Η ψυχρή κρυστάλλωση παρατηρείται αμέσως μετά

¹²Δεν μπορεί να υπολογιστεί εν γένει τί ποσοστό νερού εκλύεται στο περιβάλλον σε κάθε κύκλο και πόσο απομένει μέσα στο δοκίμιο.

την υαλώδη μετάβαση, καθώς τότε το σύστημα αποκτά μεγαλύτερη κινητικότητα ώστε να μπορέσει να σχηματίσει κρυστάλλους.

Σε αυτό το δείγμα (30/70) μπορεί να γίνει επίσης μία εκτίμηση του ποσοστού νερού με το οποίο πραγματοποιήθηκε η τελευταία τήξη (ροζ καμπύλη): $h_{wp} = 13.7\%$ σε σχέση με το αρχικό $h_w = 51\%$. Αυτό υποδεικνύει πως η καμπύλη τήξης γίνεται από διπλή μονή όταν η υδρογέλη έχει χαμηλό ποσοστό υδάτωσης $< 20\%$. Είναι εντυπωσιακό πως όταν το δείγμα 30/70 μετρήθηκε σε εξαρχής χαμηλό ποσοστό υδάτωσης ($h_w = 18\%$) δεν παρουσίασε κρυσταλλώσεις ή τήξεις, ενώ όταν το ίδιο δείγμα φτάνει μέσω εξάτμισης σε ένα ακόμη χαμηλότερο ποσοστό παρατηρείται η ενδόθερμη κορυφή τήξης. Αυτό θα μπορούσε να οφείλεται σε εσωτερικές αναδιαμορφώσεις του νερού όταν παραμένει για καιρό¹³ μέσα στη δομή της διογκωμένης υδρογέλης, έτσι ώστε το νερό να καθίσταται πιο ευκίνητο και να μπορεί να κρυσταλλώνεται/τήχεται.

Τέλος, στο τελευταίο διάγραμμα 6.48 του HA, στον πρώτο κύκλο δεν κατάφερε να εξατμιστεί αρκετό νερό, ώστε να έχουμε αλλαγή στη μορφή της δεύτερης καμπύλης, ενώ στο δεύτερο κύκλο εξατμίστηκε σχεδόν όλο! Το αποτέλεσμα είναι ο τρίτος κύκλος θέρμανσης να μη δίνει κάποιο προς μελέτη φαινόμενο. Ωστόσο, υπενθυμίζεται πως στο δεύτερο κύκλο εξάτμισης παρατηρήθηκε υαλώδης μετάβαση στο HA και μάλιστα σε πολύ χαμηλή θερμοκρασία ($-87^\circ C$).

Συνολικά παρατηρείται πως, παρόλο που εκροφάται νερό από τα δοκίμια στο περιβάλλον με τη διαδικασία της εξάτμισης, η κινητικότητα στις αλυσίδες των πολυμερών διατηρείται. Αυτός είναι ο λόγος που παρατηρούνται φαινόμενα όπως η υαλώδης μετάβαση, η τήξη και η (ψυχρή) κρυστάλλωση.

¹³Υπενθυμίζεται πως τα πειράματα των εξατμίσεων πραγματοποιήθηκαν δύο-τέσσερις εβδομάδες μετά τη μέτρηση του κάθε ερμητικά κλειστού δοκιμίου. Περισσότερες ενδείξεις γήρανσης των υδατωμένων υδρογελών υπάρχουν στο Παράρτημα Β.

Κεφάλαιο 7

Βασικά Συμπεράσματα & Επίλογος

7.1 Βασικά Συμπεράσματα

Για να έχει κανείς μία συνολική εικόνα των μετρήσεων στις πέντε υδρογέλες, σε αυτή την ενότητα θα συνοψιστούν τα βασικά συμπεράσματα που εξήχθησαν από τα δύο πειράματα.

Τα κυριότερα πορίσματα του πειράματος ESI

Το πείραμα ESI έδωσε πληροφορίες για τη μοριακή δυναμική του νερού στις υδρογέλες και την αναμειξιμότητα των μειγμάτων υαλουρονικού-ζελατίνης.

Η ζελατίνη αναπτύσσει ισχυρούς δεσμούς με το νερό. Γι αυτό το λόγο, παρατηρήθηκε μεγάλη υστέρηση σε αυτό το δοκίμιο. Έφτασε σε $h_{d,95\%} = 69\%$ και παρουσίασε το μέγιστο συντελεστή διάχυσης σε υψηλή $RH = 80\%$.

Το υαλουρονικό οξύ αφήνει το νερό σε πιο ελεύθερη κατάσταση μέσα στο πλέγμα του, γι' αυτό και δεν παρουσιάστηκαν φαινόμενα υστέρησης σε αυτή την υδρογέλη. Το HA έφτασε σε $h_{d,95\%} = 125\%$, ενώ ο μέγιστος συντελεστής διάχυσης παρατηρήθηκε σε $RH = 70\%$.

Όσον αφορά στα τρία μείγματα, παρατηρήθηκε στα HA/GEL 30/70 και 70/30 μία μικρή υστέρηση, λόγω της φάσης της ζελατίνης. Στο 50/50 δεν παρατηρήθηκε υστέρηση.

Ο προσθετικός κανόνας βρέθηκε να μην ισχύει για υψηλές RH στα μείγματα, λόγω σχηματισμού συσσωματωμάτων νερού. Στις χαμηλές RH , το μείγμα 30/70 (κυρίαρχη η ζελατίνη) έδωσε πειραματικές τιμές πιο κάτω από τη ζελατίνη, ενώ το μείγμα 70/30 έδωσε πειραματικές τιμές πιο πάνω από τη HA (κυρίαρχο το HA), οπότε φαίνεται τα δύο υλικά να αλληλεπιδρούν και να μην αφήνουν το νερό να εισχωρήσει στις δομές τους.

Τέλος, η μεγιστοποίηση του συντελεστή διάχυσης πραγματοποιήθηκε και στα τρία μείγματα για $RH = 70...80\%$, δηλ. ενδιάμεσα στα δύο ακραία συστατικά, ενώ το μέγιστο ποσοστό υδάτωσης τους έφτασε στο 90-95%. Τα συσσωματώματα φάνηκε πως αρχίζουν να σχηματίζονται για $h_d = 20 - 30\%$, αλλά παρόλα αυτά από τη DSC βρέθηκε πως το νερό αυτό δεν παγώνει. Η παρεμπόδιση αυτή οφείλεται είτε σε επιφανειακές αλληλεπιδράσεις των πολυμερικών αλυσίδων είτε σε εγκλωβισμό μορίων νερού σε μικρές κοιλότητες, όπου δεν έχει το χώρο το νερό να γίνει πάγος.

Τα κυριότερα πορίσματα του πειράματος DSC

Το πείραμα DSC έδειξε πως υπάρχουν ισχυρές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων HA-GEL, GEL-GEL & HA-HA, αλλά και μεταξύ των αλυσίδων και των μορίων νερού.

Το φαινόμενο της κρυστάλλωσης παρατηρήθηκε σε όλα τα δοκίμια, αλλά μόνο για υψηλά ποσοστά υδάτωσης. Η κρυστάλλωση στο HA ($h_w = 68\%$) πραγματοποιήθηκε στους $-24^\circ C$, με μία ισχυρά εξώθερμη αντίδραση, ενώ στη ζελατίνη η κορυφή ήταν ασθενέστερη, διπλή και παρατηρήθηκε στους -37 και $-58^\circ C$. Στη ζελατίνη ($h_w = 46\%$) παρατηρήθηκε και ψυχρή κρυστάλλωση, κατά τη θέρμανση στους $-29^\circ C$. Στα τρία μείγματα -με ενδιάμεσα ποσοστά υδάτωσης- η κρυστάλλωση πραγματοποιήθηκε σε ενδιάμεση θερμοκρασία στους $-31^\circ C$.

Φαινόμενα τήξης παρατηρήθηκαν στις πέντε υδρογέλες με τα υψηλότερα ποσοστά υδάτωσης. Οι ενδόθερμες καμπύλες τήξης είχαν εν γένει σύνθετη μορφή. Στη ζελατίνη η τήξη πραγματοποιήθηκε αμέσως μετά την ψυχρή κρυστάλλωση. Στο υαλουρονικό οξύ η καμπύλη τήξης είχε τέτοια μορφή που παραπέμπει σε δύο στάδια τήξης των δημιουργημένων κρυστάλλων. Οι θερμοκρασίες τήξης ήταν ίδιες και στις πέντε υδρογέλες, $T_m = -5^\circ C$.

Οι διαφορές των ενθαλπών κρυστάλλωσης και τήξης ήταν σε όλα τα δοκίμια περίπου σταθερές και περίπου ίσες με $20 J/g$. Από τις ενθαλπίες αυτές υπολογίστηκαν και τα αντίστοιχα

ποσοστά κρυστάλλωσης κατά την ψύξη και θέρμανση. Τα ποσοστά κρυστάλλωσης της θέρμανσης (τήξης) ήταν εν γένει μεγαλύτερα από αυτά της ψύξης (κρυστάλλωσης). Επίσης, με την αύξηση του HA στο δείγμα, το ποσοστό κρυσταλλωμένου νερού αυξανόταν.

Η μετάβαση GEL-SOL είναι μία ξεχωριστή μετάβαση που πραγματοποιείται στη ζελατίνη και παρατηρήθηκε και στα μείγματα, ανεξάρτητα από τη σύσταση ή το ποσοστό υδάτωσης. Πρόκειται, λοιπόν, για άλλη μία ιδιότητα που συναντά κανείς στην «καθαρή» ζελατίνη και διατηρείται και στα μείγματα. Η μετάβαση αυτή παρατηρήθηκε σε θετικές θερμοκρασίες. Όταν το δοκίμιο δεν παρουσίαζε κρυστάλλωση, δηλ. για χαμηλότερα ποσοστά υδάτωσης, οι τιμές ενθαλπίας της GEL-SOL ήταν μεγάλες. Στα υψηλότερα ποσοστά υδάτωσης οι ενθαλπίες ήταν μικρότερες και παρατηρήθηκε και η αντίστροφη μετάβαση (ζελατινοποίησης) κατά την ψύξη, δηλ. η μετάβαση SOL-GEL, με αρκετά μικρές τιμές ενθαλπίας.

Η υαλώδης μετάβαση αφορά την υαλοποίηση των υλικών κάτω από κάποια θερμοκρασία κατά την ψύξη, και την μετάβαση στην ελαστική κατάσταση κατά τη θέρμανση, όταν υπάρχει νερό μες στο δείγμα ώστε να το πλαστικοποιήσει. Στα πειράματα που έγιναν -ακόμα και στις εξατμίσεις- παρατηρήθηκε σε όλα τα δοκίμια, ανεξαρτήτως σύστασης ή ποσοστού υδάτωσης.

Στο HA με μικρό ποσοστό υδάτωσης το βήμα της υαλώδους μετάβασης ήταν ευρύ με $T_g = -7^\circ C$, ενώ με αύξηση του h_w το θερμοκρασιακό εύρος της μίκρυνε με $T_g = -62^\circ C$. Στη ζελατίνη παρατηρήθηκε σε υψηλή θερμοκρασία ($15...30^\circ C$) για χαμηλά h_w και σε χαμηλή θερμοκρασία ($-87^\circ C$) για υψηλότερα h_w .

Στα μείγματα παρατηρήθηκαν δύο βήματα υαλώδους μετάβασης για χαμηλά ποσοστά υδάτωσης 20-25%. Αυτό υποδεικνύει πως η κάθε φάση των μειγμάτων πραγματοποιεί τη δική της υαλώδη μετάβαση, υπάρχει δηλαδή διαχωρισμός φάσεων.

Από τα πειράματα εξατμίσεων, από τον πρώτο ήδη κύκλο (πριν χαθεί νερό), διαπιστώθηκε γήρανση στα δοκίμια, αφού οι θερμοκρασίες υαλώδους μετάβασής μετακινήθηκαν χαμηλότερα που σημαίνει πως με την πάροδο του χρόνου το νερό πλαστικοποίησε ακόμη περισσότερο τα υλικά. Έπειτα, με τα πειράματα σταδιακής εξάτμισης του νερού, διαπιστώθηκε πως οι υαλώδεις μεταβάσεις γίνονταν σε ολοένα χαμηλότερες θερμοκρασίες που είναι αναμενόμενο αφού το νερό συνεχώς μειωνόταν στα δείγματα. Τα φαινόμενα τήξης και κρυστάλλωσης γίνονταν λιγότερο έντονα με την εξάτμιση του νερού. Ωστόσο, ήταν εντυπωσιακό το γεγονός πως τα φαινόμενα αυτά παρέμεναν/παρατηρούνταν όταν μέσω της εξάτμισης οι υδρογέλες έφταναν από μεγάλα ποσοστά υγρασίας σε χαμηλότερα (h_w 20%), ενώ δεν είχαν

παρατηρηθεί στις υδρογέλες με εξαρχής χαμηλά ποσοστά νερού.

Τέλος, διαπιστώθηκε πως οι καμπύλες εξάτμισης είχαν διαφορετική μορφή στα μείγματα και το ΗΑ σε σχέση με τη ζελατίνη. Το ΗΑ και τα μείγματα είχαν ολοκληρωμένες καμπύλες εξάτμισης, το πρώτο για $T_{ev} = 100^{\circ}C$, δηλαδή σα να επρόκειτο για ελεύθερο νερό, ενώ τα μείγματα σε χαμηλότερες θερμοκρασίες περί τους $50^{\circ}C$. Η ζελατίνη, όμως, δημιούργησε τόσο ισχυρούς δεσμούς με το νερό, ώστε να δώσει μία καμπύλη εξάτμισης «ατελή» (με «ουρά») και σε χαμηλότερη θερμοκρασία, όπως στα μείγματα.

7.2 Επίλογος

Τα ευρήματα όλων αυτών των πειραμάτων είναι ποικίλα κι άμεσα αξιοποιήσιμα. Ωστόσο, περαιτέρω πειράματα Διηλεκτρικής Φασματοσκοπίας στις ίδιες υδρογέλες θα μπορούσαν να δείξουν και την απόκρισή τους σε ηλεκτρικό πεδίο. Ίσως επίσης είναι χρήσιμο να ελεγχθούν ενδιάμεσα ποσοστά υδάτωσης των υδρογελών ή να πραγματοποιηθεί ακόμα κι εμφύσηση των δοκιμίων σε νερό. Έτσι, θα δοθεί μια πληρέστερη εικόνα για τη δυναμική και κινηματική των πολυμερικών αλυσίδων, τις αλληλεπιδράσεις που πραγματοποιούνται μεταξύ τους και το ρόλο που έχει το νερό σε αυτές.

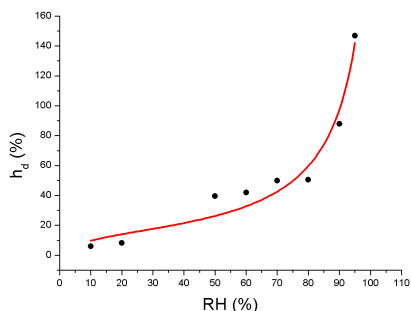
Ολοκληρώνοντας, η έρευνα στον τομέα των βιοσυμβατών υλικών μπορεί να συνεχίσει και πέρα από πειράματα φυσικής ή χημικές δοκιμές. Μελλοντικές βιολογικές μελέτες θα μπορούσαν να καταδείξουν αν πράγματι τα ικρίωματα είναι λειτουργικά σε επίπεδο έμβιων οργανισμών και να υποδείξουν τρόπους βελτίωσής τους.

Παράρτημα Α΄

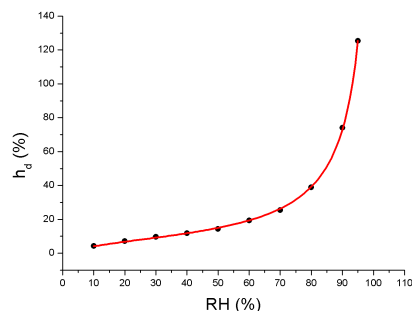
Επιπλέον Αποτελέσματα από το Πείραμα ESI

A1.

Συμπεριφορά συμπιεσμένου και ασυμπιεστού δοκιμίου Υαλουρονικού Οξέος



ΣΧΗΜΑ Α΄.1: Καμπύλη Ισόθερμης Υδάτωσης και GAB fitting για το συμπιεσμένο δοκίμιο Υαλουρονικού Οξέος.



ΣΧΗΜΑ Α΄.2: Καμπύλη Ισόθερμης Υδάτωσης και GAB fitting για το ασυμπιεσμένο δοκίμιο Υαλουρονικού Οξέος.

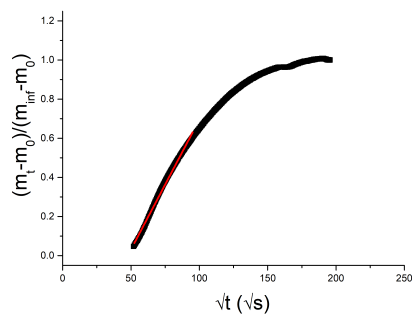
Παρατηρείται πως στο ασυμπιεσμένο δοκίμιο μέχρι $RH = 70\%$ το ποσοστό υδάτωσης είναι κάτω από 30% και μετά αυξάνεται απότομα. Αντίθετα, στο πιεσμένο δοκίμιο βλέπει κανείς χαμηλά ποσοστά υδάτωσης -κάτω από 20%- για $RH \leq 30\%$, ενώ ήδη για $RH = 50\%$ το ποσοστό υδάτωσης εκτοξεύεται στο 40%. Φαίνεται, λοιπόν, πως δημιουργούνται περισσότερα κενά όταν πιέζεται το δείγμα και το νερό μπορεί να συγκρατηθεί καλύτερα από τις δομές της υδρογέλης.

Μορφολογική Παρατήρηση:

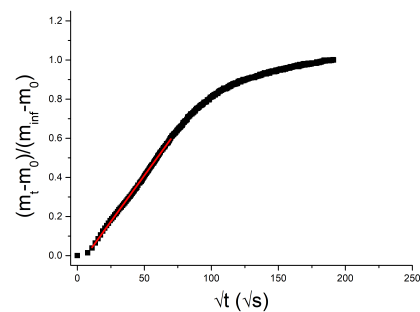
Το πιεσμένο υαλουρονικό οξύ μετά το πείραμα παρουσίασε σμίκρυνση και αλλαγή χρώματος (από άσπρο σε πιο κίτρινο). Το ασυμπιεστο HA δε συρρικνώθηκε τόσο σε σχέση με την αρχική του κατάσταση, αλλά άλλαξε κι αυτό χρώμα.

A2. Υπολογισμοί Συντελεστών Διάχυσης με Linear Fitting

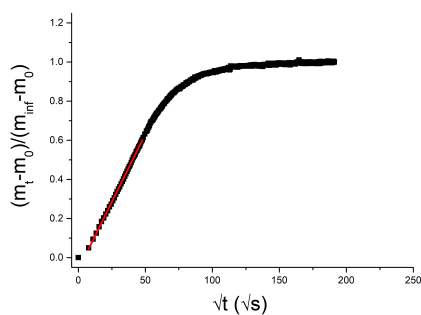
Στα Σχήματα Α΄.3 έως Α΄.7 απεικονίζονται ορισμένες από τις γραμμικές προσαρμογές που έγιναν για χαμηλούς χρόνους στις καμπύλες κανονικοποιημένης μάζας-τετραγωνικής ρίζας χρόνου. Η μέθοδος εύρεσης του D περιγράφεται αναλυτικά στο Κεφάλαιο 3, στην Υποενότητα 3.3.3, και πραγματοποιήθηκε σε όλες τις σχετικές υγρασίες για καθεμία από τις πέντε υδρογέλες.



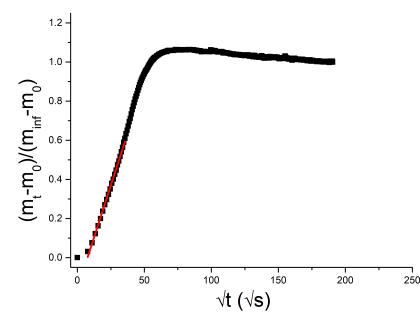
ΣΧΗΜΑ Α΄.3: Γραμμική Προσαρμογή Καμπύλης για εύρεση D . Δοκίμιο: Ζελατινή σε $RH = 10\%$.



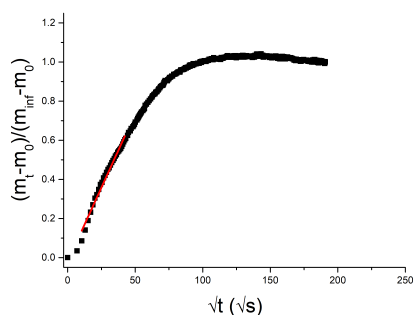
ΣΧΗΜΑ Α΄.4: Γραμμική Προσαρμογή Καμπύλης για εύρεση D . Δοκίμιο: Μείγμα HA/GEL 30/70 σε $RH = 50\%$.



ΣΧΗΜΑ Α΄.5: Γραμμική Προσαρμογή Καμπύλης για εύρεση D . Δοκίμιο: Μείγμα HA/GEL 50/50 σε $RH = 60\%$.



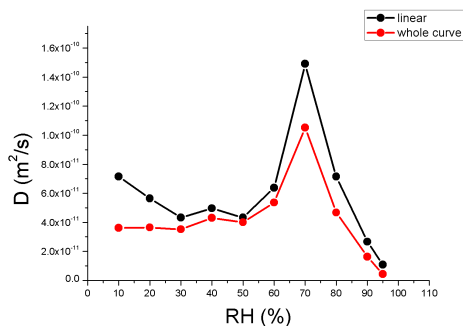
ΣΧΗΜΑ Α΄.6: Γραμμική Προσαρμογή Καμπύλης για εύρεση D . Δοκίμιο: Μείγμα HA/GEL 70/30 σε $RH = 70\%$.



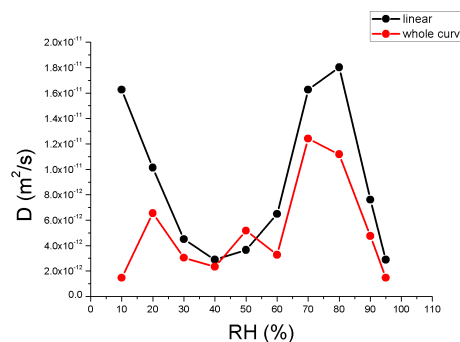
ΣΧΗΜΑ Α'.7: Γραμμική Προσαρμογή Καμπύλης για εύρεση D . Δοκίμιο: Υαλουρονικό Οξύ σε $RH = 40\%$.

Από τα σχήματα που παρατίθενται εδώ παρατηρείται πως ανάλογα το δοκίμιο και τη σχετική υγρασία αλλάζει η μορφή της καμπύλης. Για παράδειγμα, στο σχήμα Α'.3 (χαμηλή σχ.υγρασία) δεν καταφέρνει η ζελατίνη να ισορροπήσει. Σε τέτοιες περιπτώσεις, η μάζα ισορροπίας που χρησιμοποιήθηκε στους υπολογισμούς ήταν προσεγγιστική.

Επιπλέον, επιλέχθηκαν τα δοκίμια HA και HA/GEL 30/70 για να συγκριθούν άμεσα οι συντελεστές διάχυσης που υπολογίστηκαν σε κάθε RH με τις δύο μεθόδους υπολογισμού (Σχήματα Α'.8 & Α'.9, αντίστοιχα). Παρατηρείται πως οι αποκλίσεις είναι γενικά πολύ μικρές.

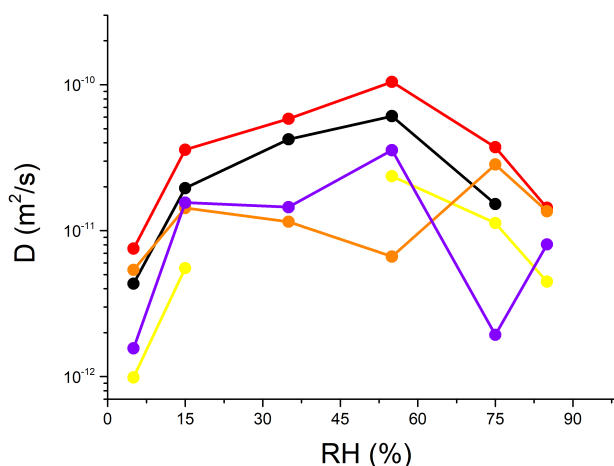


ΣΧΗΜΑ Α'.8: Σύγκριση Συντελεστών Διάχυσης με τους δύο τρόπους υπολογισμούς για το Υαλουρονικό Οξύ. Γραμμική Προσαρμογή (μαύρο) και Προσαρμογή Όλης της Καμπύλης (κόκκινο).



ΣΧΗΜΑ Α'.9: Σύγκριση Συντελεστών Διάχυσης με τους δύο τρόπους υπολογισμούς για το Μείγμα HA/GEL 30/70. Γραμμική Προσαρμογή (μαύρο) και Προσαρμογή Όλης της Καμπύλης (κόκκινο).

Α3. Οι Συντελεστές Διάχυσης που προέκυψαν από τις Εκροφήσεις



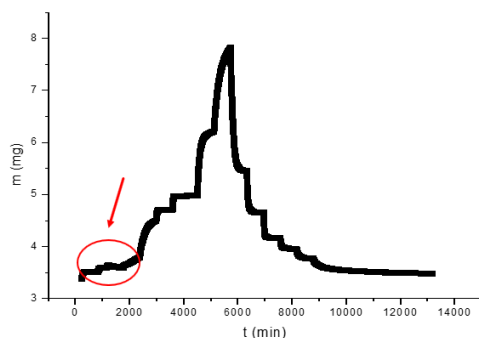
ΣΧΗΜΑ Α'10: Οι Συντελεστές Διάχυσης που προέκυψαν από τους Κύκλους Εκροφήσεων. Ζελατίνη (μαύρο), Υαλουρονικό οξύ (κόκκινο), HA/GEL 30/70 (χίτρινο), 50/50 (πορτοκαλί), 70/30 (μωβ).

Από το διάγραμμα Α'10 παρατηρεί κανείς πως στους κύκλους εκρόφησης ο συντελεστής διάχυσης μεγιστοποιείται για $RH = 55\%$. Τότε μεγιστοποιείται ο ρυθμός εκρόφησης νερού από τις υδρογέλες, δηλαδή η διάχυση εξελίσσεται ομαλά και γρήγορα.

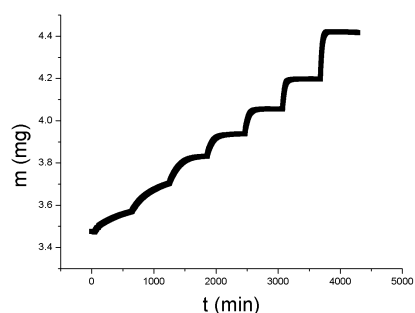
Γενικά διαπιστώθηκε πως η διαδικασία της εκρόφησης εξελίχθηκε πιο ομαλά από τον κύκλο ρόφησης που είχε προηγηθεί. Αυτό συνέβη πιθανά διότι κατά τη ρόφηση είχαν ήδη δημιουργηθεί «δρόμοι» και κοιλοότητες μέσα από τις οποίες μπορούν να μετακινηθούν τα μόρια νερού, οπότε η διάχυση στην εκρόφηση πραγματοποιήθηκε χωρίς τόσα εμπόδια.

Α4. Χαρακτηριστικά Διαγράμματα Επαναρρόφησης

Σημειώνεται πως η ανάγκη για επανάληψη των κύκλων ρόφησης μέχρι ένα ποσοστό σχετικής υγρασίας 70% προέκυψε από την ασυνήθιστη συμπεριφορά του πιεσμένου HA. Η σκέψη πίσω από τον κύκλο επαναρρόφησης ήταν μήπως -αφού το νερό απορροφηθεί κι εκροφηθεί στο περιβάλλον- μπορέσει και εισέλθει στην υδρογέλη πιο ομαλά, όπως και συνέβη. Είναι πιθανό κατά την επαναρρόφηση να έχει αλλάξει η εσωτερική δομή του HA έτσι ώστε το νερό να εισχωρεί και να συγκρατείται αποτελεσματικότερα. Γι' αυτό το λόγο σημειώθηκε βελτίωση των αποτελεσμάτων (Σχήματα Α'11 και Α'12).



ΣΧΗΜΑ Α'.11: Καμπύλη μάζας-χρόνου για το συμπιεσμένο δοκίμιο υαλουρονικού οξέος. 1^{ος} Κύκλος Ρόφησης-Εκρόφησης ($RH = 0...95...5\%$).

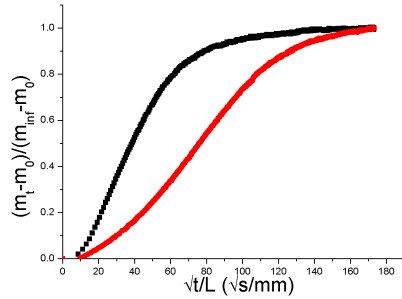


ΣΧΗΜΑ Α'.12: Καμπύλη μάζας-χρόνου για το συμπιεσμένο δοκίμιο υαλουρονικού οξέος. Κύκλος Επαναρρόφησης ($RH = 0...70\%$).

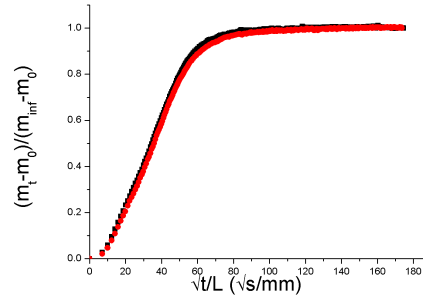
Πιο συγκεκριμένα, φαίνεται πως στις χαμηλές σχετικές υγρασίες ($RH = 10 - 40\%$) στο Διάγραμμα Α'.12 το δοκίμιο δεν καταφέρνει να ισορροπήσει κατά τη ρόφηση. Στην επαναρρόφηση και πάλι δεν καταφέρνει να ισορροπήσει στις χαμηλές RH , αλλά οι καμπύλες είναι πιο ομαλές.

Στα διαγράμματα Α'.13 έως Α'.17 συγκρίνεται ο πρώτος με το δεύτερο κύκλο ρόφησης σε διάφορες σχετικές υγρασίες για τα τρία δοκίμια (HA, HA/GEL 30/70 και 70/30) στα οποία πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις επαναρρόφησης. Οι καμπύλες σημειώνεται πως είναι κανονικοποιημένες κι ως προς το πάχος κάθε δοκιμίου, ώστε να είναι άμεσα συγκρίσιμες οι κλίσεις κι άρα οι D .

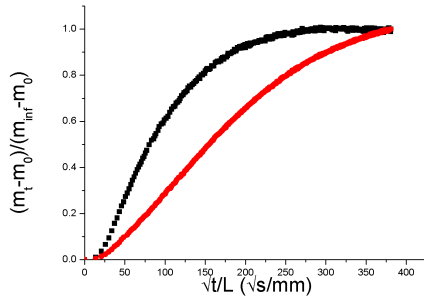
Φαίνεται, λοιπόν, στις χαμηλές σχ. υγρασίες ($RH = 20\%$) οι κλίσεις της επαναρρόφησης (χόκκινες καμπύλες) να είναι μικρότερες των κλίσεων των ροφήσεων, άρα $D_S > D_R$. Στις υψηλότερες σχ. υγρασίες οι συντελεστές διάχυσης φαίνεται σχεδόν να ταυτίζονται.



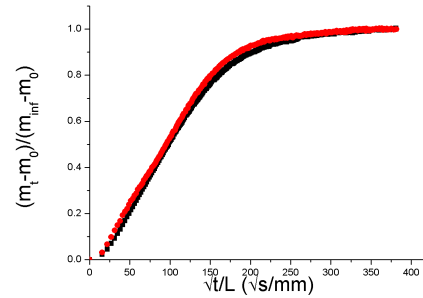
ΣΧΗΜΑ Α΄.13: Κύκλος Ρόφησης (μαύρο) και Επαναρρόφησης (κόκκινο). Δοκίμιο: HA σε $RH = 20\%$.



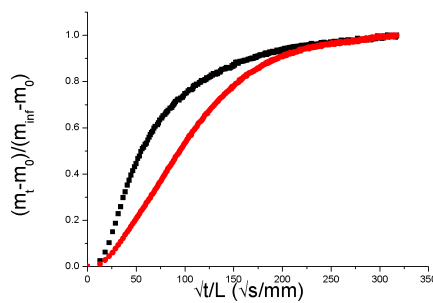
ΣΧΗΜΑ Α΄.14: Κύκλος Ρόφησης (μαύρο) και Επαναρρόφησης (κόκκινο). Δοκίμιο: HA σε $RH = 60\%$.



ΣΧΗΜΑ Α΄.15: Κύκλος Ρόφησης (μαύρο) και Επαναρρόφησης (κόκκινο). Δοκίμιο: Μείγμα HA/GEL 30/70 σε $RH = 20\%$.

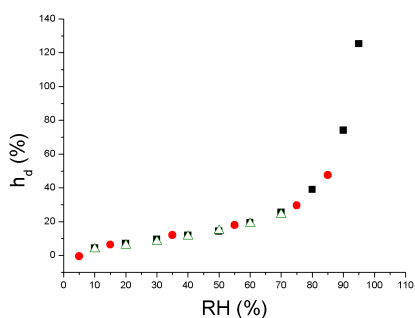


ΣΧΗΜΑ Α΄.16: Κύκλος Ρόφησης (μαύρο) και Επαναρρόφησης (κόκκινο). Δοκίμιο: Μείγμα HA/GEL 30/70 σε $RH = 60\%$.

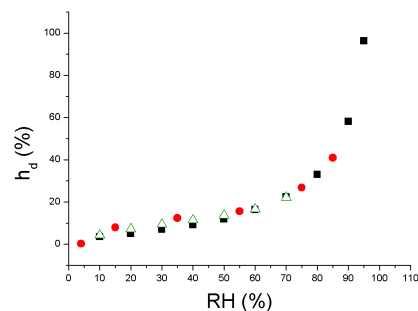


ΣΧΗΜΑ Α΄.17: Κύκλος Ρόφησης (μαύρο) και Επαναρρόφησης (κόκκινο). Δοκίμιο: Μείγμα HA/GEL 70/30 σε $RH = 20\%$.

Τέλος, παρατίθενται και τα αντίστοιχα διαγράμματα του 5.25 με τους τρεις κύκλους ρόφησης-εκρόφησης-επαναρρόφησης για τα δοκίμια HA (Α'.18) και HA/GEL 30/70 (Α'.19).



ΣΧΗΜΑ Α'.18: Υαλουρονικό Οξύ: Κύκλος Ρόφησης (μαύρα τετράγωνα) - Εκρόφησης (κόκκινοι κύκλοι) - Επαναρρόφησης (λευκά τρίγωνα).



ΣΧΗΜΑ Α'.19: Μείγμα HA/GEL 30/70: Κύκλος Ρόφησης (μαύρα τετράγωνα) - Εκρόφησης (κόκκινοι κύκλοι) - Επαναρρόφησης (λευκά τρίγωνα).

Εντοπίζεται πως στο μείγμα 30/70 HA/GEL ο κύκλος εκρόφησης και επαναρρόφησης δεν παρουσιάζουν υστέρηση (σε αντίθεση με τον πρώτο κύκλο ρόφησης και την εκρόφηση). Αυτό μπορεί να σημαίνει πως αφότου το νερό εισέλθει και εξέλθει μία φορά από το δείγμα, είναι πλέον καθορισμένο το ποσοστό που θα μπορεί να απορροφηθεί και το ίδιο ποσοστό μετά θα απελευθερωθεί στο περιβάλλον. Αυτή η παρατήρηση φαίνεται πως δεν ισχύει ούτε στο HA ούτε στο μείγμα 70/30 που παρατέθηκε στο Κεφάλαιο 5.

Παράρτημα Β΄

Επιπλέον Αποτελέσματα από το Πείραμα DSC

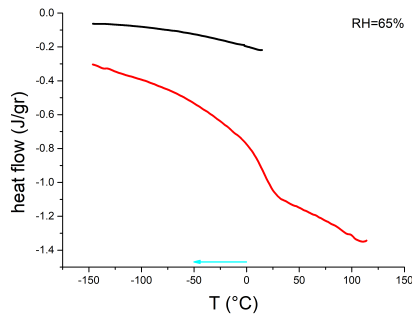
B1.

Σύγκριση Ποσοστών Υδάτωσης h_d που προέκυψαν από τα δύο πειράματα

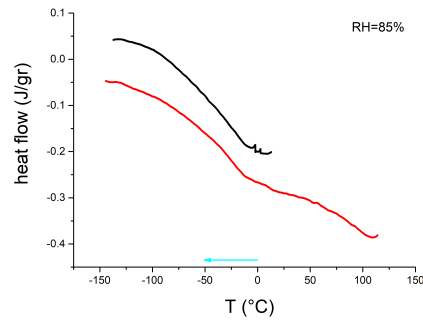
ΠΙΝΑΚΑΣ Β΄.1: Τα ποσοστά υδάτωσης h_d των δοκιμίων, υπολογισμένα από τη **DSC** & το **ESI**.

Δείγμα	$RH = 98\%$	$RH = 85\%$	$RH = 65\%$
Ζελατίνη	85%, 61%	23%, 33%	20%, 17%
Υαλουρονικό Οξύ	209%, 131%	77%, 68%	27%, 34%
30/70 HA/GEL	103%, 89%	33%, 40%	21%, 18%
50/50 HA/GEL	114%, 86%	35%, 39%	19%, 18%
70/30 HA/GEL	126%, 88%	48%, 46%	24%, 23%

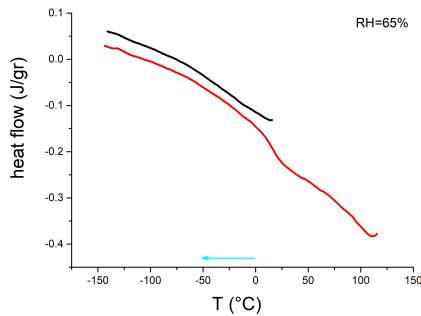
B2. Οι δύο κύκλοι ψύξης στα μείγματα με χαμηλά ποσοστά υδάτωσης



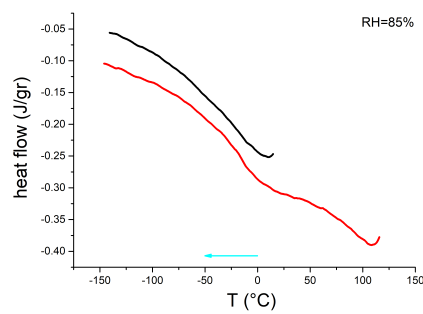
ΣΧΗΜΑ Β'.1: HA/GEL 30/70 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 18\%$. 1^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).



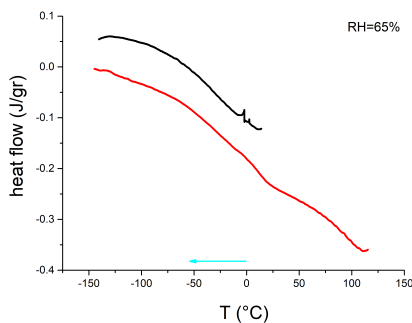
ΣΧΗΜΑ Β'.2: HA/GEL 30/70 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 25\%$. 1^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).



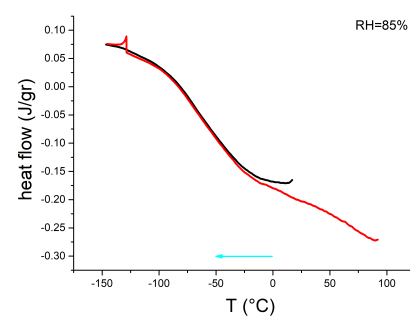
ΣΧΗΜΑ Β'.3: HA/GEL 50/50 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 16\%$. 1^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).



ΣΧΗΜΑ Β'.4: HA/GEL 50/50 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 26\%$. 1^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).



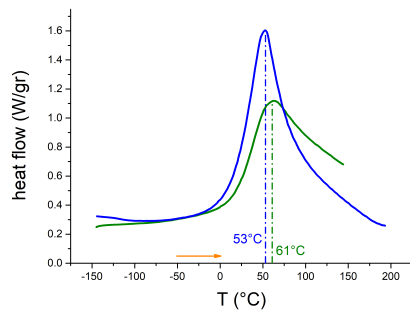
ΣΧΗΜΑ Β'.5: HA/GEL 70/30 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 19\%$. 1^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).



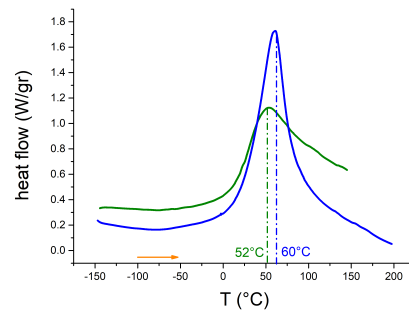
ΣΧΗΜΑ Β'.6: HA/GEL 70/30 με ποσοστό υδάτωσης $h_w = 33\%$. 1^{ος} Κύκλος Ψύξης (μαύρο), 2^{ος} Κύκλος Ψύξης (κόκκινο).

B3. Επιπλέον Διαγράμματα από τα Πειράματα Εξατμίσεων

α) Μείγματα HA/GEL 30/70 και 70/30: Σύγκριση κορυφών εξατμίσης από $RH = 65, 85\%$.

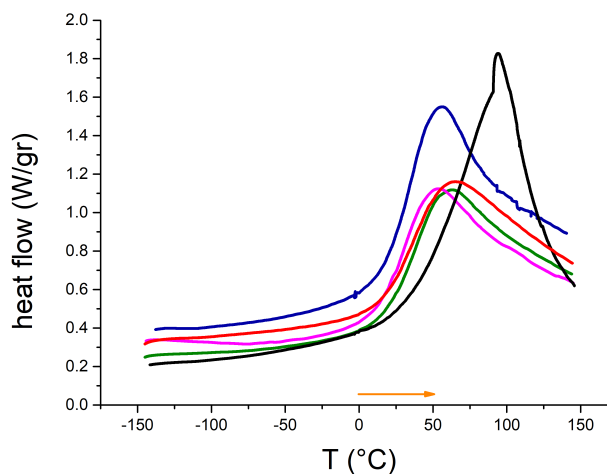


ΣΧΗΜΑ Β'.7: Εξατμίση στο Μείγμα HA-/GEL 30/70. Ποσοστά Υδάτωσης 18% (πράσινο) και 25% (μπλε). 1^{ος} Κύκλος Ξήρανσης.



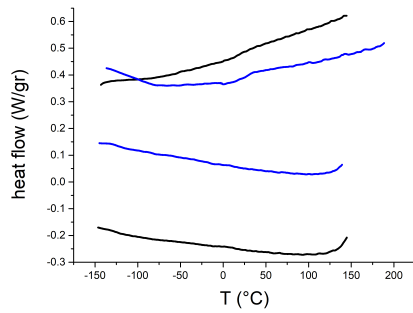
ΣΧΗΜΑ Β'.8: Εξατμίση στο Μείγμα HA-/GEL 70/30. Ποσοστά Υδάτωσης 19% (πράσινο) και 33% (μπλε). 1^{ος} Κύκλος Ξήρανσης.

β) Το αντίστοιχο του Σχήματος 6.43 - Καμπύλες εξατμίσεως όλων των δοκιμίων από $RH = 65\%$.

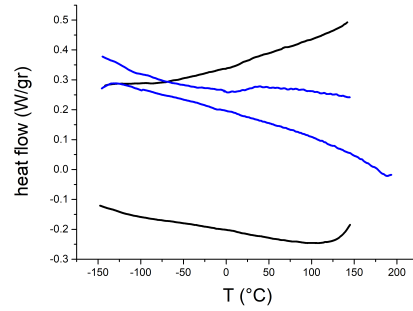


ΣΧΗΜΑ Β'.9: Καμπύλες Εξατμίσεων από $RH = 65\%$. 1^{ος} Κύκλος θέρμανσης για όλα τα δοκίμια: Ζελατίνη (κόκκινο), HA (μαύρο), HA/GEL 30/70 (πράσινο), 50/50 (γαλάζιο) και 70/30 (μωβ).

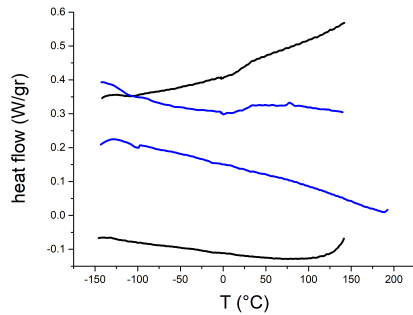
γ) Οι κύκλοι ψύξης-θέρμανσης στα 5 δοκίμια με χαμηλά ποσοστά υδάτωσης ($RH = 65, 85\%$) μετά τις εξατμίσεις. Σχεδόν μηδενικό σήμα που σηματοδοτεί πως έχει εξατμιστεί όλο το νερό από την υδρογέλη.



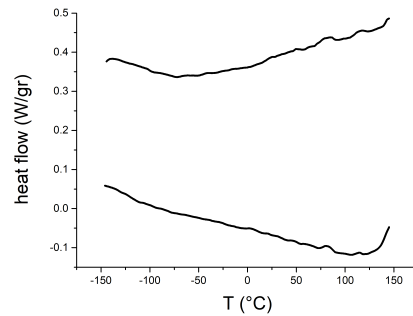
ΣΧΗΜΑ Β'.10: 2^{ος} κύκλος ψύξης-θέρμανσης μετά την εξάτμιση. Ζελατίνη με αρχικό ποσοστό υδάτωσης $h_w = 17\%$ (μαύρο) και $h_w = 19\%$ (μπλε).



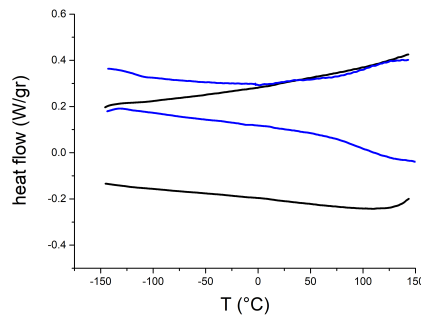
ΣΧΗΜΑ Β'.11: 2^{ος} κύκλος ψύξης-θέρμανσης μετά την εξάτμιση. Μείγμα HA/GEL 30/70 με αρχικό ποσοστό υδάτωσης $h_w = 18\%$ (μαύρο) και $h_w = 25\%$ (μπλε).



ΣΧΗΜΑ Β'.12: 2^{ος} κύκλος ψύξης-θέρμανσης μετά την εξάτμιση. Μείγμα HA/GEL 50/50 με αρχικό ποσοστό υδάτωσης $h_w = 16\%$ (μαύρο) και $h_w = 26\%$ (μπλε).

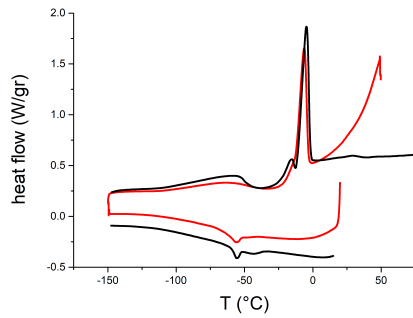


ΣΧΗΜΑ Β'.13: 2^{ος} κύκλος ψύξης-θέρμανσης μετά την εξάτμιση. Μείγμα HA/GEL 70/30 με αρχικό ποσοστό υδάτωσης $h_w = 19\%$.

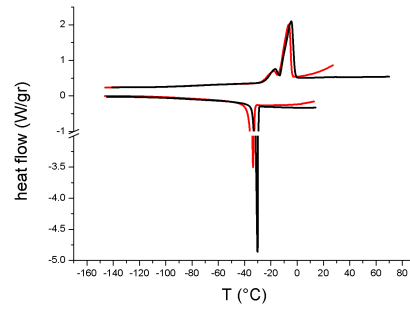


ΣΧΗΜΑ Β'.14: 2^{ος} κύκλος ψύξης-θέρμανσης μετά την εξάτμιση. Γαλουρονικό Οξύ με αρχικό ποσοστό υδάτωσης $h_w = 21\%$ (μαύρο) και $h_w = 43\%$ (μπλε).

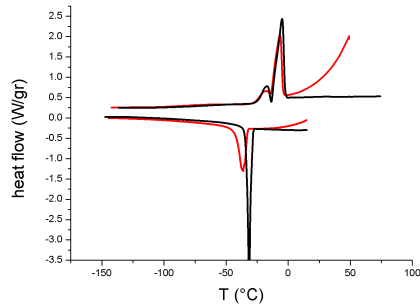
B4. Επιπλέον Ενδείξεις Γήρανσης των Υδατωμένων Υδρογελών



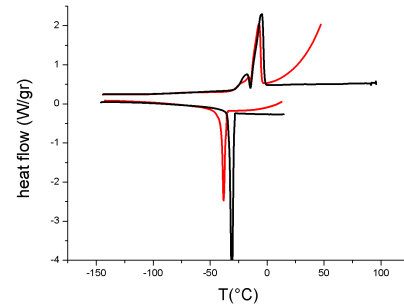
ΣΧΗΜΑ Β'.15: Αρχικός κύκλος ψύξης-θέρμανσης (μαύρο) και επανάληψη κύκλου ένα μήνα μετά (κόκκινο). Ζελατίνη, $h_w = 46\%$.



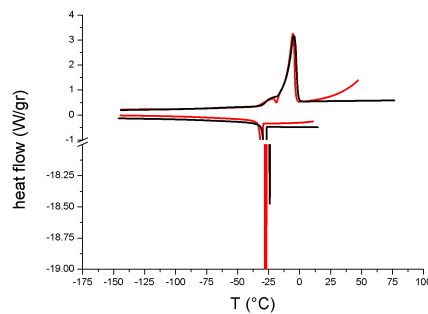
ΣΧΗΜΑ Β'.16: Αρχικός κύκλος ψύξης-θέρμανσης (μαύρο) και επανάληψη κύκλου τρεις εβδομάδες μετά (κόκκινο). Μείγμα HA/GEL 30/70, $h_w = 51\%$.



ΣΧΗΜΑ Β'.17: Αρχικός κύκλος ψύξης-θέρμανσης (μαύρο) και επανάληψη κύκλου τρεις εβδομάδες μετά (κόκκινο). Μείγμα HA/GEL 50/50, $h_w = 53\%$.



ΣΧΗΜΑ Β'.18: Αρχικός κύκλος ψύξης-θέρμανσης (μαύρο) και επανάληψη κύκλου δύο εβδομάδες μετά (κόκκινο). Μείγμα HA/GEL 70/30, $h_w = 56\%$.



ΣΧΗΜΑ Β'.19: Αρχικός κύκλος ψύξης-θέρμανσης (μαύρο) και επανάληψη κύκλου ένα μήνα μετά (κόκκινο). Γαλουρονικό Οξύ, $h_w = 68\%$.

Στα σχήματα Β'.15 έως και Β'.19 γίνεται άμεση σύγκριση του πρώτου κύκλου ψύξης-θέρμανσης του ερμητικά κλειστού δοκιμίου με τον πρώτο κύκλο ψύξης-θέρμανσης (**προ εξατμίσεως**) του αντίστοιχου δοκιμίου με οπή. Συγκεκριμένα, εδώ παρατίθενται τα θερμογράμματα των υψηλά υδατωμένων υδρογελών.

Θεωρητικά, πρόκειται για τις ίδιες μετρήσεις με ίδια πρωτόκολλα, οπότε δεν αναμένονται διαφορές στα αποτελέσματα. Παρόλα αυτά, διαπιστώθηκε πως στα φαινόμενα τήξης-(ψυχρής) κρυστάλλωσης-υαλώδους μετάβασης υπάρχουν κάποιες μορφολογικές και θερμοκρασιακές αλλαγές. Η συζήτηση για τις T_g υπενθυμίζεται πως έγινε στο κεφάλαιο 6. Εδώ, παρατηρούνται οι αλλαγές ως προς τα άλλα 3 φαινόμενα.

Συγκεκριμένα, στην κόκκινη καμπύλη της ζελατίνης φαίνεται εξασθενημένη η διπλή κορυφή κρυστάλλωσης κατά την ψύξη και δεν είναι τόσο ξεκάθαρο που τελειώνει η υαλώδης μετάβαση κι αρχίζει η ψυχρή κρυστάλλωση κατά τη θέρμανση. Επίσης, σε όλα τα μείγματα η κορυφή κρυστάλλωσης έχει μετακινηθεί χαμηλότερα και είναι εξασθενημένη σε σχέση με αυτή της αρχικής μέτρησης. Οι κορυφές τήξης κατά τη θέρμανση δεν είναι τόσο ξεκάθαρο πως είναι διπλές (όσο στις μαύρες καμπύλες), αν και φαίνεται πως η τήξη γίνεται σε δύο στάδια και στις δύο περιπτώσεις. Το ΗΑ φαίνεται να αποκλίνει από τον παραπάνω κανόνα, αφού η κρυστάλλωση γίνεται σε χαμηλότερη μεν θερμοκρασία στην επανάληψη του πειράματος (κόκκινη καμπύλη), αλλά με ακόμα πιο έντονη εξώθερμη κορυφή. Κατά την τήξη, φαίνεται πιο ξεκάθαρα η διπλή κορυφή τήξεως στην κόκκινη καμπύλη σε σχέση με τη μαύρη.

Βιβλιογραφία

- [1] <https://www.slideshare.net/elahehentezarmahdi/tissue-engineering-scaffold-materials>, .
- [2] Sara Poveda-Reyes, Vladimira Moulisova, Esther Sanmartín-Masiá, Luis Quintanilla-Sierra, Manuel Salmerón-Sánchez, Gloria Gallego Ferrer. **gelatin—hyaluronic acid hydrogels with tuned stiffness to counterbalance cellular forces and promote cell differentiation**. *MACROMOLECULAR BIO-SCIENCE*, 16:1311–1324, 2016.
- [3] <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/t90344?lang=en>, .
- [4] https://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php?img=pmc3239841_1475-2859-10-99-1&req=4, .
- [5] Maria Culebras Martinez. **characterisation of morphology and water interaction in injectable hydrogels of gelatin and hyaluronic acid for tissue engineering**, 2017.
- [6] Shunsuke Kawabe, Munetoshi Seki and Hitoshi Tabata. **investigation of the sol-gel transition of gelatin using terahertz time-domain spectroscopy**. *JOURNAL OF APPLIED PHYSICS*, 115:143103–1–143103–5.
- [7] Esther Sanmartin-Masia, Sara Poveda Reyes, Gloria Gallego Ferrer. **extracellular matrix–inspired gelatin/hyaluronic acid injectable hydrogels**. *INTERNATIONAL JOURNAL OF POLYMERIC MATERIALS AND POLYMERIC BIOMATERIALS*, 66(6):280–288, 2017.
- [8] http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0121-40042011000300012, .

- [9] T.A. Instruments. *LNCS Liquid Nitrogen Cooling System: Q Series: Getting Started Guide*, 2004.
- [10] Jamie A. Davies, Elise Cachat. **synthetic biology meets tissue engineering**. *BIOCHEMICAL SOCIETY TRANSACTIONS*, 44(3):696–701, 2016.
- [11] Κωνσταντίνος Ζαφείρης. **Μελέτη μεταπτώσεων φάσης και μοριακής δυναμικής σε ενυδατωμένα υβριδικά δίκτυα ζελατίνης και υαλουρονικού οξέος**, 2017.
- [12] Drury J.L., Mooney D.J. **hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications**. *BIOMATERIALS*, 24(24):4337–4351, 2003.
- [13] Zhu C., Fan D., Duan Z., Xue W., Shang L., Chen F., Luo Y. **initial investigation of novel human-like collagen/chitosan scaffold for vascular tissue engineering**. *JOURNAL OF BIOMEDICAL MATERIALS RESEARCH: PART A*, 89(3):829–840, 2009.
- [14] J.F. Martucci, R.A. Ruseckaite, A. Vazquez. *MATERIAL SCIENCE AND ENGINEERING*, 681:435–436, 2006.
- [15] M. Monleon Pradas, J.L. Gomez Ribelles, A. Serrano Aroca, G. Gallego Ferrer, J. Suay Anton, P. Pissis. *COLLOID POLYMER SCIENCE*, 279(323), 2001.
- [16] Anna Panagopoulou, Joan Vazquez Molina, Apostolos Kyritsis, Manuel Monleon Pradas, Anna Valles Lluch, Gloria Gallego Ferrer, Polycarpos Pissis. **glass transition and water dynamics in hyaluronic acid hydrogels**. *SPRINGER SCIENCE: FOOD BIOPHYSICS*, 2013.
- [17] A.S. Hoffman. *ADVANCED DRUG DELIVERY REVIEWS*, 54:3–12, 2002.
- [18] Lee Y., Bae J.W., Oh D.H., Park K.M., Chun Y.W., Sung H.J., Park K.D. **in situ forming gelatin-based tissue adhesives and their phenolic content-driven properties**. *JOURNAL OF MATERIALS CHEMISTRY B*, 18(1):2407–2414, 2013.
- [19] GMIA Gelatin Manufacturers Institute of America. *Gelatin Handbook*.
- [20] da Silva M.A., Bode F., Grillo I., Dreiss C.A. **exploring the kinetics of gelation and final architecture of enzymatically cross-linked chitosan/gelatin gels**. *BIOMACROMOLECULES*, 16(4):1401–1409, 2015.

- [21] Vladimir M. Gunko, Irina N. Savina and Sergey V. Mikhalovsky. **properties of water bound in hydrogels**. *MDPI GELS*, 37(3):1–30, 2017.
- [22] Stavros Yanniotis, Jiri Blahovec. **model analysis of sorption isotherms**. *ELSEVIER-FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 42:1688–1695, 2009.
- [23] A.S. Hoffman. **hydrogels for biomedical applications**. *ADVANCED DRUG DELIVERY REVIEWS*, 64:18–23, 2012.
- [24] Sasaki K., Panagopoulou A., Kita R., Shinyashiki N., Yagihara S., Kyritsis A., Pissis P. **dynamics of uncrystallized water, ice, and hydrated protein in partially crystallized gelatin-water mixtures studied by broadband dielectric spectroscopy**. *THE JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY B*, 2016.
- [25] L.O. Cervello. **study of molecular and water dynamics in hyaluronic acid (ha) and ha+ cnts and ha+ sio2 (doctoral dissertation, ntua)**. 2015.
- [26] A.K. Panagopoulou. **molecular dynamics and phase transitions in protein-water systems (doctoral dissertation, ntua)**. 2014.
- [27] Unknown Authors. **chapter 4 - permeability, diffusivity, and solubility of gas and solute through polymers**.
- [28] S. Maggana, P. Pissis. **water sorption and diffusion studies in an epoxy resin system**. *JOURNAL OF POLYMER SCIENCE: PART B: POLYMER PHYSICS*, 37:1165–1182, 1999.
- [29] T.A. Instruments. *VTI-SA + Vapor Sorption Analyser: Getting Started Guide*, 2011.
- [30] M. Mathlouthi, B. Roge. **water vapor sorption isotherms and the caking of food powders**. *FOOD CHEMISTRY*, 82(1):61–71, 2003.
- [31] Christos Pandis, Anna Spanoudaki, Apostolos Kyritsis, Polycarpos Pissis, Jose Carlos Rodriguez Hernandez, Jose Luis Gomez Ribelles, Manuel Monleon Pradas. **water sorption characteristics of poly(2-hydroxyethyl acrylate)/silica nanocomposite hydrogels**, 2011.
- [32] Brunauer S., Deming L.S., Deming W.E., Teller E.J. *JOURNAL OF AMERICAN CHEMISTRY SOCIETY*, 62:1723–1732, 1940.

- [33] Kumar K.V., Sivanesan S.J. *HAZARDOUS MATERIALS*, 126:198–201, 2005.
- [34] S. Brunauer, P.H. Emmet, E. Teller. **adsorption of gases in multimolecular layers**. *JOURNAL OF AMERICAN CHEMISTRY SOCIETY*, 60(2):309–319, 1938.
- [35] J. Blahovec, S. Yanniotis. **gab generalized equation for sorption phenomena**. *FOOD BIOPROCESS TECH*, 2007.
- [36] Stern S.A. **polymers for gas separations: the next decade**. *JOURNAL OF MEMBRANE SCIENCE*, 94:1–65, 1994.
- [37] Kesting R.E., Fritzsche A.K. **polymeric gas separation membranes**. *JOHN WILEY AND SONS INC.*, 1993.
- [38] J. Miltz. **food product-package compatibility proceedings**. *TECHNOMIC PUBLISHING*.
- [39] Crank J., Park G.S. **diffusion in polymers**. *LONDON ACADEMIC PRESS*.
- [40] Πολύκαρπος Πίσσης. **Κεφάλαιο 2. Τεχνικές Θερμικής Ανάλυσης**.
- [41] Hatakeyama T., Quinn F.X. **thermal analysis: fundamentals and applications to polymer science**. 1999.
- [42] Noel T.R., Parker R., Ring S.G. **effect of molecular structure and water content on the dielectric relaxation behavior of amorphous low molecular weight carbohydrates above and below their glass transition**. *CARBOHYDRATE RESEARCH*, 329(4):83, 2000.
- [43] T.A. Instruments. *DSC Differential Scanning Calorimeter: Q Series: Getting Started Guide*, 2007.
- [44] Engineering ToolBox. **saturated salt solutions and air humidity**, 2014.
- [45] Vladimir Moulisova, Sara Poveda-Reyes, Esther Sanmartín-Masia, Luis Quintanilla-Sierra, Manuel Salmeron-Sanchez and Gloria Gallego Ferrer. **hybrid proteinglycosaminoglycan hydrogels promote chondrogenic stem cell differentiation**. *ACS OMEGA*, 2:7609–7620, 2017.

-
- [46] Saad M. Ahsan, Ch. Mohan Rao. **structural studies on aqueous gelatin solutions: implications indesigning a thermo-responsive nanoparticulate formulation.** *ELSEVIER-INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES*, 95:1126–1134, 2017.
- [47] M. Joan Taylor, Paul Tomlins and Tarsem S. Sahota. **thermoreponsive gels.** *MDPI GELS*, 3(4):1–31, 2017.
- [48] Damia Mawad, Elise Stewart, David L. Officer, Tony Romeo, Pawel Wagner, Klaudia Wagner, and Gordon G. Wallace. **a single component conducting polymer hydrogel as a scaffold for tissue engineering.** *ADVANCED FUNCTIONAL MATERIALS*, 22:2692–2699, 2012.