



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ II: ΑΝΑΛΥΣΗΣ, ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ & ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ &  
ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ & ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ

Διπλωματική Εργασία

**ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΣΤΑΤΙΚΗΣ ΙΝΟΠΟΙΗΣΗΣ  
(ELECTROSPINNING) ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟ ΑΝΤΙΣΗΠΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ  
ΟΥΣΙΩΝ, ΜΕ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΤΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΩΝ**

**ΚΑΛΟΥΤΑ ΚΛΕΟΠΑΤΡΑ**

Υπεύθυνη καθηγήτρια

**ΚΡΟΚΙΔΑ Μ.**

ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2016



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στη σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ, στο Εργαστήριο Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών, στη διάρκεια του ακαδημαϊκού έτους 2015 – 2016.

Σκοπός της εν λόγω διπλωματικής εργασίας, ήταν ο εγκλεισμός αντισηπτικών (εκχύλισμα Tea Tree Oil) και αντιοξειδωτικών (εκχύλισμα από ρόδι) ουσιών, σε νανοϊνες πολυμερούς, που προορίζονταν για εφαρμογή σε καλλυντικές κρέμες. Ο εγκλεισμός πραγματοποιήθηκε με χρήση της καινοτόμου μεθόδου της Ομοαξονικής Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε χαρακτηρισμός των νανοϊνών και επιλέχθηκαν οι βέλτιστες συνθήκες παραγωγής αυτών. Ακολούθησε η εφαρμογή των νανοϊνών σε καλλυντικές κρέμες και η ανάλυση των κρεμών αυτών, προκειμένου να ελεγχθεί η σταθερότητα των νανοδομών σε συνθήκες αποθήκευσης.

Για την ολοκλήρωση της εν λόγω διπλωματικής εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω αρχικά, την επιβλέπουσα καθηγήτριά μου, καθ. Μ. Κροκίδα για την άψογη συνεργασία μας και την καθοδήγησή της, καθώς και για την εμπιστοσύνη, που μου έδειξε σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω και στην καθ. Α. Παππά, μέλος της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής, που συνέβαλε ουσιαστικά στην περάτωση της διπλωματικής αυτής εργασίας.

Ευχαριστώ θερμά, την κα Π. Ελένη για την ανεκτίμητη βοήθεια και στήριξη, που μου προσέφερε καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησής της διπλωματικής αυτής εργασίας. Την ευχαριστώ για όλο το χρόνο, που αφιέρωσε σε μένα. Χωρίς την συμπαράστασή της, η εργασία αυτή δεν θα είχε ολοκληρωθεί.

Ευχαριστώ, ακόμη, όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών, που με βοήθησαν σε ό,τι και αν χρειάστηκα, που ήταν φιλικοί μαζί μου και με έκαναν να αισθανθώ ότι είμαι μέλος μιας ομάδας.

Επίσης, ευχαριστώ πολύ τον κ. Π. Σχοινά για την πολύτιμη βοήθειά του στη χρήση του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου, SEM.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στους φίλους μου και στην οικογένειά μου, που με στήριζαν καθ' όλη τη διάρκεια των ακαδημαϊκών σπουδών μου και μου έδιναν διαρκώς κουράγιο να συνεχίσω.

Οκτώβριος, 2016



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μέθοδος του νανοεγκλεισμού διαθέτει ευρύ πεδίο εφαρμογών, καθώς επιτρέπει την προστασία, τη βελτίωση των ιδιοτήτων και της βιοδιαθεσιμότητας των ευαίσθητων – ασταθών βιοδραστικών ουσιών και την απόκρυψη τυχόν ανεπιθύμητων χαρακτηριστικών, όπως το χρώμα και η οσμή.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, πραγματοποιήθηκε εγκλεισμός αντισηπτικών (εκχύλισμα Tea Tree Oil) και αντιοξειδωτικών (εκχύλισμα από ρόδι) ουσιών, με σκοπό την εφαρμογή τους σε καλλυντικές κρέμες.

Η μέθοδος, που χρησιμοποιήθηκε για τον εγκλεισμό ήταν η Ομοαξονική Ηλεκτροστατική Ινοποίηση (Coaxial Electrospinning), μία μέθοδος καινοτόμα, που δημιουργεί νανοδομές με επιθυμητές ιδιότητες και μορφολογία.

Αρχικά, παρασκευάστηκε το εκχύλισμα ροδιού από αποξηραμένους φλοιούς ροδιού με χρήση της μεθόδου εκχύλισης με υπερήχους.

Έπειτα, το εκχύλισμα αυτό (ισχυρής αντιοξειδωτικής δράσης) και το εμπορικά διαθέσιμο εκχύλισμα ΤΤΟ (ισχυρό αντισηπτικό με δυσάρεστη οσμή, που αποτρέπει τη χρήση του στη βιομηχανία καλλυντικών) εγκλείστησαν σε μήτρα εμπορικά διαθέσιμου υδατικού διαλύματος β – κυκλοδεξτρίνης με τη μέθοδο της Ομοαξονικής Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης και παρήχθησαν νανοΐνες. Ακολούθησε χαρακτηρισμός των νανοϊνών με τις μεθόδους του Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου Σάρωσης (Scanning Electron Microscopy – SEM), της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης (Differential Scanning Calorimetry – DSC) και με υπολογισμό του ποσοστού εγκλεισμού.

Οι νανοΐνες, στη συνέχεια προστέθηκαν σε κρέμες προσώπου και προέκυψαν η κρέμα με κωδικό T (κρέμα βάση με νανοΐνες ΤΤΟ), η κρέμα με κωδικό P (κρέμα βάση με νανοΐνες εκχυλίσματος ροδιού), ενώ προϋπήρχε η κρέμα με κωδικό C (κρέμα βάση – Control). Οι τρεις αυτές κρέμες τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασίες συντήρησης των 5, 25 και 45 °C για μέγιστο χρονικό διάστημα 50 ημερών, με σκοπό να μελετηθεί η σταθερότητα των νανοδομών σε συνθήκες αποθήκευσης. Μετά από 30 και 50 μέρες αποθήκευσης τους πραγματοποιήθηκε μικροβιακή ανάλυση αυτών, μέτρηση του pH και του χρώματος τους, καθώς και χαρακτηρισμός της ιξωδοελαστικής συμπεριφοράς τους με τη μέθοδο της Δυναμικής Μηχανικής Ανάλυσης (Dynamic Mechanical Analysis – DMA) .

Οι συνθήκες που επιλέχθηκαν από τις πειραματικές μετρήσεις με τη μέθοδο της Ομοαξονικής Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης, ήταν οι εξής:

- Για τις νανοΐνες εκχυλίσματος ροδιού: Παροχή β – κυκλοδεξτρίνης: 1 mL/h, Παροχή εκχυλίσματος ροδιού: 0,5 mL/h, Επιβαλλόμενη τάση: 24,1 kV
- Για τις νανοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil: Παροχή β – κυκλοδεξτρίνης: 0,5 mL/h, Παροχή εκχυλίσματος Tea Tree Oil: 0,4 mL/h, Επιβαλλόμενη τάση: 26,1 kV

Από την εξέταση των νανοϊνών στο Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης, προέκυψε ότι με αύξηση της παροχής των ουσιών και της επιβαλλόμενης τάσης, προκύπτουν νανοΐνες με μορφολογίες συσσωματωμάτων (beads – αστοχίες) και το πλέγμα των νανοϊνών γίνεται πιο πυκνό, το οποίο είναι σύμφωνο με τα στοιχεία της βιβλιογραφίας.

Το ποσοστό εγκλεισμού για τις νανοΐνες εκχυλίσματος ροδιού προέκυψε ίσο με 48%, ενώ αυτό των νανοϊνών εκχυλίσματος Tea Tree Oil, ίσο με 75%. Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι η κυκλοδεξτρίνη (μήτρα των δύο συστατικών εγκλεισμού) είναι μια ένωση, που έχει υδροφοβική, λιπόφιλη κοιλότητα, η οποία σχηματίζει πιο σταθερά σύμπλοκα εγκλεισμού με υδροφοβικές ουσίες, όπως το Tea Tree Oil, ενώ το εκχύλισμα ροδιού ήταν υδατικό διάλυμα (υδρόφιλο).

Η μέθοδος της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης, έδειξε ότι οι εγκλεισμένες ουσίες και οι συνθήκες παροχής και επιβαλλόμενης τάσης δεν επηρεάζουν σημαντικά το σημείο τήξης της κυκλοδεξτρίνης. Προέκυψε επίσης ότι το εκχύλισμα ΤΤΟ παρουσιάζει καλύτερη συμβατότητα στη συμπλοκοποίηση με την κυκλοδεξτρίνη από το εκχύλισμα ροδιού.

Οι καλλυντικές κρέμες, δεν παρουσίασαν μικροβιακή επιμόλυνση κατά τη διάρκεια των μικροβιακών αναλύσεων για το σύνολο των θερμοκρασιών αποθήκευσης.

Από την ανάλυση pH για τις θερμοκρασίες και τις ημέρες αποθήκευσης προέκυψε ότι οι μικρές αλλαγές (μειώσεις) του pH των κρεμών, που περιείχαν τις νανοΐνες, οφείλονται στη σταδιακή αποδέσμευση των ενεργών συστατικών τους, τα οποία ταυτόχρονα σταθεροποιούν τη δομή τους (των κρεμών) σε σχέση με την κρέμα C. Προέκυψε, ακόμη ότι οι κρέμες βρίσκονται εντός του επιθυμητού ορίου pH για χρήση στο ανθρώπινο δέρμα.

Όσον αφορά στο χρώμα των καλλυντικών κρεμών, στις κρέμες που περιείχαν τις νανοΐνες, σημειώθηκε μικρή διαφορά σε σχέση με την κρέμα βάση λόγω των βιοδραστικών ουσιών, που περιείχαν.

Τέλος, από τα αποτελέσματα της Δυναμικής Μηχανικής Ανάλυσης των καλλυντικών κρεμών, προέκυψε ότι τα τρία δείγματα κρέμας είναι κατάλληλα για πρακτική εφαρμογή στη βιομηχανία καλλυντικών και ότι εν γένει το σύνθετο ιξώδες των τριών κρεμών παρουσιάζει παρόμοια συμπεριφορά με τη μεταβολή τόσο της θερμοκρασίας αποθήκευσης όσο και των ημερών αποθήκευσης.

## ABSTRACT

The nanoencapsulation method has a wide range of applications, as it provides the protection, the improvement of the properties and the bioavailability and the modification of sensitive – unstable bioactive substances.

The present diploma thesis, focuses on the use of the nanoencapsulation method for two bioactive substances; the antiseptic Tea Tree Oil extract and the antioxidant pomegranate extract, for application in cosmetic creams.

Coaxial Electrospinning technique, an innovative technique which creates nanostructures with desired properties and morphology, was used for the encapsulation.

At first, dried pomegranate bark was used to prepare the pomegranate extract, using the Ultrasound Extraction method and its bioactivity was measured with the Folin – Ciocalteu method. Moreover, Tee Tree Oil's calibration curve was designed, in order to determine its concentration.

After that, the pomegranate extract (which has great antioxidant activity) and the commercially available TTO extract (strong antiseptic, with unpleasant odor, which prevents its use in the cosmetic industry) were encapsulated in a commercially available aqueous solution of beta – cyclodextrin matrix with the Coaxial Electrospinning technique and nanofibers were produced. The characterization of the nanofibers with the methods of Scanning Electron Microscopy (SEM) and Differential Scanning Calorimetry (DSC) and the evaluation of the inclusion rate, followed the above.

The nanofibers, were then, added in facial cosmetic creams and except for the existing Control cream (base cream) with code C, two more creams were created; the cream with code T (base cream with the Tea Tree Oil nanofibers) and the cream with code P (base cream with the pomegranate extract nanofibers). These three creams were stored at temperature controlled cabinets at three selected storage temperatures: 5, 25 and 45 °C and analyzed in order to verify the stability of the nanostructures in cosmetic products over storage time. Microbiological analysis, color and pH measurement and rheological analysis through Dynamic Mechanical Analysis (DMA), were afterwards performed for each of these cream samples, at predetermined storage time intervals (30, 50 days).

The conditions selected from the experimental measurements with the Coaxial Electrospinning method, were as follows:

- Pomegranate extract nanofibers: Cyclodextrin flow rate: 1 mL/h, Pomegranate extract flow rate: 0,5 mL/h, Applied Voltage: 24,1 kV
- Tea Tree Oil extract nanofibers: Cyclodextrin flow rate: 0,5 mL/h, Tea Tree Oil extract flow rate: 0,4 mL/h, Applied Voltage: 26,1 kV

The examination of the nanofibers with the Scanning Electron Microscopy method, showed that if the flow rate and the applied voltage are very high, bead fibers will form and the fibers web has greater density. These results correspond to the literature.

The encapsulation rate for the pomegranate extract nanofibers was 48%, while the one of the Tea Tree Oil extract nanofibers was 75%. This was due to the fact that cyclodextrin (the matrix of the two compounds) is a substance with a hydrophobic, lipophilic cavity, which forms more

stable inclusion complexes with hydrophobic compounds, like Tee Tree Oil while the pomegranate extract was an aqueous solution (hydrophilic).

The results of the Differential Scanning Calorimetry method, showed that the encapsulated substances, the flow rate and the applied voltage do not affect significantly the cyclodextrin's melting point. Furthermore, it was proved that the TTO extract forms more stable inclusion complexes with cyclodextrin than the pomegranate extract.

The cosmetic creams, did not develop microbial contamination in none of the storage temperatures, during the microbiological analysis.

Through the pH evaluation analysis only small changes were observed at the cosmetic creams, which contained the encapsulated substances, for all the examined parameters. This occurs due to the gradual release of their bioactive ingredients, which simultaneously stabilize their structure compared to cream C. Additionally, it was found that the creams have appropriate pH for use on human skin.

Regarding the colour evaluation of the cosmetic creams, the ones containing the nanofibers had small differences in comparison to the base cream, due to their bioactive ingredients.

Finally, the Dynamic Mechanical analysis of the creams, showed that all of them are suitable for application in the cosmetic industry and that in general their complex viscosity has similar behavior while changes in the storage time or the storage temperature occur.



# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ .....	iii
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	v
ABSTRACT.....	vii
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ .....	ix
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ .....	xi
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ .....	xv
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	xvii
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	1
1.1 Αντικείμενο και Στόχοι.....	1
1.2. Τοποθέτηση της διπλωματικής εργασίας – Μεθοδολογική προσέγγιση .....	1
1.3 Επιμέρους στόχοι – Αναμενόμενη συνεισφορά.....	2
1.4 Διάρθρωση.....	2
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	5
2.1 Εγκλεισμός Βιοδραστικών Ουσιών .....	5
2.1.1 Ελεγχόμενη αποδέσμευση .....	6
2.2 Βιοδραστικά συστατικά .....	7
2.3 Εφαρμογές Εγκλεισμού .....	7
2.3.1 Βιομηχανία Τροφίμων .....	8
2.3.2 Βιομηχανία Φαρμάκων.....	10
2.3.3 Βιομηχανία Καλλυντικών.....	11
2.4 Μέθοδοι Εγκλεισμού .....	12
2.4.1 Φυγοκεντρική Εκβολή (Extrusion).....	13
2.4.2 Ξήρανση με Εκνέφωση (Spray Drying) .....	13
2.4.3 Ηλεκτροστατική Ινοποίηση(Electrospinning) .....	14
2.5 Σύγχρονες τάσεις στα καλλυντικά προϊόντα .....	30
2.5.1 Ρόδι .....	31
2.5.2 Tea tree oil .....	33
2.5.3 Κυκλοδεξτρίνη .....	35
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....	39
3.1 Υλικά.....	39

3.1.1 Εγκλεισμός βιοδραστικών συστατικών σε κατάλληλη μήτρα για χρήση σε καλλυντικές κρέμες.....	39
3.1.2 Χαρακτηρισμός βιοδραστικών συστατικών .....	40
3.1.3 Μικροβιολογική ανάλυση .....	40
3.2 Μέθοδοι – Όργανα και Συσκευές.....	41
3.2.1 Εκχύλιση με υπερήχους.....	42
3.2.2 Χαρακτηρισμός βιοδραστικών συστατικών .....	45
3.2.3 Εγκλεισμός βιοδραστικών συστατικών με τη μέθοδο της Ομοαξονικής Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης (Coaxial Electrospinning) .....	46
3.2.4 Χαρακτηρισμός νανοϊνών.....	48
3.2.5 Προσθήκη νανοϊνών σε κρέμες προσώπου .....	53
3.2.6 Χαρακτηρισμός κρεμών προσώπου .....	54
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	61
4.1 Χαρακτηρισμός βιοδραστικών συστατικών .....	61
4.2 Εγκλεισμός βιοδραστικών συστατικών με τη μέθοδο της ηλεκτροστατικής ινοποίησης .	62
4.3 Χαρακτηρισμός νανοϊνών .....	68
4.3.1 Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης – Scanning Electron Microscopy (SEM) .....	68
4.3.2 Ποσοστό εγκλεισμού .....	71
4.3.3 Διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης – Differential Scanning Calolimetry (DSC).....	72
4.4 Χαρακτηρισμός κρεμών προσώπου .....	74
4.4.1 Μικροβιολογική ανάλυση .....	74
4.4.2 Μέτρηση pH.....	76
4.4.3 Μέτρηση του χρώματος των κρεμών .....	78
4.4.4 Δυναμική μηχανική ανάλυση – Dynamic Mechanical Analysis (DMA) .....	84
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ – ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ.....	101
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	105

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1: Καμπύλη αναφοράς του γαλλικού οξέος στα 765 nm.....	61
Διάγραμμα 2: Καμπύλη αναφοράς ΤΤΟ.....	62
Διάγραμμα 3: Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC) για τις νανοϊνες εκχυλίσματος ροδιού.....	73
Διάγραμμα 4: Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC) για τις νανοϊνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil.....	73
Διάγραμμα 5: pH των τριών κρεμών για θερμοκρασία αποθήκευσης 5 °C και διάρκεια αποθήκευσης 50 ημέρες.....	77
Διάγραμμα 6: pH των τριών κρεμών για θερμοκρασία αποθήκευσης 25 °C και διάρκεια αποθήκευσης 50 ημέρες.....	77
Διάγραμμα 7: pH των τριών κρεμών για θερμοκρασία αποθήκευσης 45 °C και διάρκεια αποθήκευσης 50 ημέρες.....	77
Διάγραμμα 8: Μεταβολή της παραμέτρου L* για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5 °C.....	79
Διάγραμμα 9: Μεταβολή της παραμέτρου a* για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5 °C.....	79
Διάγραμμα 10: Μεταβολή της παραμέτρου b* για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5 °C.....	79
Διάγραμμα 11: Συνολική μεταβολή χρώματος ΔΕ για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5 °C.....	80
Διάγραμμα 12: Μεταβολή της παραμέτρου L* για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 25 °C.....	80
Διάγραμμα 13: Μεταβολή της παραμέτρου a* για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 25 °C.....	80
Διάγραμμα 14: Μεταβολή της παραμέτρου b* για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 25 °C.....	81
Διάγραμμα 15: Συνολική μεταβολή χρώματος ΔΕ για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 25 °C.....	81
Διάγραμμα 16: Μεταβολή της παραμέτρου L* για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 45 °C.....	81
Διάγραμμα 17: Μεταβολή της παραμέτρου a* για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 45 °C.....	82
Διάγραμμα 18: Μεταβολή της παραμέτρου b* για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 45 °C.....	82
Διάγραμμα 19: Συνολική μεταβολή χρώματος ΔΕ για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 45 °C.....	82

Διάγραμμα 20: Συνολική μεταβολή χρώματος ΔΕ για όλα τα δείγματα σε θερμοκρασίες αποθήκευσης 5, 25 και 45 °C.....	84
Διάγραμμα 21: Μέτρο αποθήκευσης (G'), μέτρο απώλειας (G'') και σύνθετο ιξώδες (η*) σε όλο το εύρος τιμών της γωνιακής συχνότητας για την κρέμα βάση (C).....	85
Διάγραμμα 22: Μέτρο αποθήκευσης (G'), μέτρο απώλειας (G'') και σύνθετο ιξώδες (η*) σε όλο το εύρος τιμών της γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με νανοΐνες εκχυλίσματος ροδιού (P).....	85
Διάγραμμα 23: Μέτρο αποθήκευσης (G'), μέτρο απώλειας (G'') και σύνθετο ιξώδες (η*) σε όλο το εύρος τιμών της γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με νανοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil (T).....	86
Διάγραμμα 24: Σύνθετο ιξώδες (η*) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα βάση (C) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5 °C.....	89
Διάγραμμα 25: Σύνθετο ιξώδες (η*) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα βάση (C) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 25 °C.....	89
Διάγραμμα 26: Σύνθετο ιξώδες (η*) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα βάση (C) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 45 °C.....	90
Διάγραμμα 27: Σύνθετο ιξώδες (η*) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις νανοΐνες εκχυλίσματος ροδιού (P) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5 °C.....	90
Διάγραμμα 28: Σύνθετο ιξώδες (η*) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις νανοΐνες εκχυλίσματος ροδιού (P) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 25 °C.....	91
Διάγραμμα 29: Σύνθετο ιξώδες (η*) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις νανοΐνες εκχυλίσματος ροδιού (P) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 45 °C.....	91
Διάγραμμα 30: Σύνθετο ιξώδες (η*) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις νανοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil (T) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5 °C.....	92
Διάγραμμα 31: Σύνθετο ιξώδες (η*) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις νανοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil (T) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 25 °C.....	92
Διάγραμμα 32: Σύνθετο ιξώδες (η*) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις νανοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil (T) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 45 °C.....	93
Διάγραμμα 33: Σύνθετο ιξώδες (η*) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα βάση (C) στις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης για χρόνο αποθήκευσης 30 ημέρες.....	94

Διάγραμμα 34: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα βάση (C) στις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης για χρόνο αποθήκευσης 50 ημέρες .....	94
Διάγραμμα 35: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις νανοΐνες εκχυλίσματος ροδιού (P) στις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης για χρόνο αποθήκευσης 30 ημέρες .....	95
Διάγραμμα 36: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις νανοΐνες εκχυλίσματος ροδιού (P) στις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης για χρόνο αποθήκευσης 50 ημέρες .....	95
Διάγραμμα 37: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις νανοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil (T) στις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης για χρόνο αποθήκευσης 30 ημέρες .....	96
Διάγραμμα 38: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις νανοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil (T) στις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης για χρόνο αποθήκευσης 50 ημέρες .....	96
Διάγραμμα 39: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για τις τρεις κρέμες την ημέρα 0 ( $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$ ).....	97
Διάγραμμα 40: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για τις τρεις κρέμες την 30 <sup>η</sup> ημέρα ( $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$ ) .....	98
Διάγραμμα 41: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για τις τρεις κρέμες την 50 <sup>η</sup> ημέρα ( $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$ ) .....	98



## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Ιδιότητες και δερματικές εφαρμογές του ΤΤΟ .....	35
Πίνακας 2: Κωδικοί δειγμάτων κρέμας .....	54
Πίνακας 3: Υπολογισμός ppm GAE στο εκχύλισμα του ροδιού .....	61
Πίνακας 4: Δοκιμές επιβαλλόμενης τάσης και παροχής για το διάλυμα κυκλοδεξτρίνης συγκέντρωσης 60%.....	63
Πίνακας 5: Αποτελέσματα και συμπεράσματα για πειράματα διαφορετικής επιβαλλόμενης τάσης και συγκεκριμένης ογκομετρικής παροχής κυκλοδεξτρίνης και Tea Tree Oil.....	64
Πίνακας 6 (συνέχεια από Πίνακα 5): Αποτελέσματα και συμπεράσματα για πειράματα διαφορετικής επιβαλλόμενης τάσης και συγκεκριμένης ογκομετρικής παροχής κυκλοδεξτρίνης και Tea Tree Oil.....	65
Πίνακας 7: Αποτελέσματα και συμπεράσματα για πειράματα διαφορετικής επιβαλλόμενης τάσης και συγκεκριμένης ογκομετρικής παροχής κυκλοδεξτρίνης και εκχυλίσματος ροδιού ...	66
Πίνακας 8: Υπολογισμός ppm GAE του εκχυλίσματος ροδιού, που δεν εγκλείστηκε .....	71
Πίνακας 9: Σημεία τήξης των εξεταζόμενων νανοϊνών.....	74
Πίνακας 10: Μετρήσεις των βακτηρίων στις κρέμες που αποθηκεύτηκαν στους 5 °C για διάστημα 30 ημερών .....	75
Πίνακας 11: Μετρήσεις των βακτηρίων στις κρέμες που αποθηκεύτηκαν στους 5 °C για διάστημα 50 ημερών .....	75
Πίνακας 12: Μετρήσεις των βακτηρίων στις κρέμες που αποθηκεύτηκαν στους 25 °C για διάστημα 30 ημερών .....	75
Πίνακας 13: Μετρήσεις των βακτηρίων στις κρέμες που αποθηκεύτηκαν στους 25 °C για διάστημα 50 ημερών .....	75
Πίνακας 14: Μετρήσεις των βακτηρίων στις κρέμες που αποθηκεύτηκαν στους 45 °C για διάστημα 30 ημερών .....	75
Πίνακας 15: Μετρήσεις των βακτηρίων στις κρέμες που αποθηκεύτηκαν στους 45 °C για διάστημα 50 ημερών .....	76
Πίνακας 16: Τιμές των $G'_0$ and $G''_0$ όλων των εξεταζόμενων δειγμάτων για γωνιακή συχνότητα $\omega = 0.1$ rad/s .....	88





## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Διάταξη της ηλεκτροστατικής ινοποίησης: syringe pump: αντλία της σύριγγας, needle: βελόνα, liquid jet: υγρός πίδακας, high voltage DC supply: παροχή υψηλής τάσης, grounded collector plate: γειωμένος επίπεδος συλλέκτης [16] .....	16
Εικόνα 2: Ομοαξονική ηλεκτροστατική ινοποίηση (coaxial electrospinning) : Core fluid: μήτρα, Sheath fluid: εγκλεισμένη ουσία, Syringe Pump 1,2: Σύριγγες 1,2 και οι αντλίες τους, High voltage power supply: Παροχή υψηλής τάσης, Collector: Συλλέκτης ινών, Light: Φωτεινή πηγή, Camera: Κάμερα καταγραφής συνδεδεμένη με υπολογιστή [50].....	19
Εικόνα 3: Σχηματική απεικόνιση της Ομοαξονικής ηλεκτροστατικής ινοποίησης [51].....	19
Εικόνα 4 : Σχηματική απεικόνιση του σχηματισμού δομής μήτρας - εγκλεισμένης ουσίας υπό τη δράση ηλεκτροστατικών δυνάμεων [51] .....	20
Εικόνα 5: Φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM) για πειράματα με διαφορετικές συγκεντρώσεις - Περιπτώσεις συγκέντρωσης $i - iv$ [55].....	21
Εικόνα 6: Φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM) νανοϊνών του πολυμερούς PAN με τάση 20 kV και συγκέντρωση πολυμερούς αντίστοιχα: (a): 8 wt%, (b): 10 wt%, (c): 12 wt%, (d): 14 wt% [40].....	22
Εικόνα 7: Προκύπτουσα δομή ινών καθορισμένης συγκέντρωσης για διαφορετικά μοριακά βάρη - (a) MB: 9.000–10.000 g/mol, (b) MB: 13.000–23.000 g/mol, (c) MB: 31.000–50.000 g/mol [57] .....	23
Εικόνα 8: Φωτογραφίες SEM για ελικοειδείς μικροταινίες - MB: $9 \times 10^6$ g/mol [58] .....	23
Εικόνα 9: Φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου διέλευσης (TEM) νανοϊνών διαλύματος PVP, συγκέντρωσης 4 wt% με διαλύτες : (a) αιθανόλη (b) MC (c) DMF [55] .....	24
Εικόνα 10: Φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM) διαλύματος PSF συγκέντρωσης 20% για διαφορετική επιβαλλόμενη τάση σε κάθε περίπτωση [66] .....	26
Εικόνα 11: Επίδραση της επιβαλλόμενης τάσης στη μορφολογία ανομοιογενών συσσωματωμάτων νανοϊνών του πολυμερούς PAN. Η τάση αυξάνεται αντίστοιχα από αριστερά προς τα δεξιά [40].....	26
Εικόνα 12: Φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM) νανοϊνών συγκέντρωσης 20%, με επιβαλλόμενη τάση 10 kV. Η ογκομετρική παροχή στην Εικόνα (b) είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτήν στην (a), γ'αυτό παρατηρούνται διαμορφώσεις ανομοιογενών συσσωματωμάτων (αστοχίες - beads) [66] .....	27
Εικόνα 13: Φωτογραφίες SEM για διαφορετικές αποστάσεις του ακροφυσίου από το συλλέκτη - (a) Απόσταση: 10 cm - Διάμετρος ινών: $438 \pm 72$ nm, (b) Απόσταση: 15 cm - Διάμετρος ινών: $368 \pm 79$ nm [66] .....	28
Εικόνα 14: Φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM) για νανοΐνες σε διαφορετικές θερμοκρασίες - (a) Θερμοκρασία: 30 °C - Διάμετρος ινών: 98 nm (b) Θερμοκρασία: 60 °C - Διάμετρος ινών: 90 nm .....	28

Εικόνα 15: Φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM) της επιφανειακής μορφολογίας ναοϊνών του πολυμερούς PS για υγρασία θαλάμου: (a) <25 %, (b) 31–38 %, (c) 40–45 %, (d) 50–59 %, (e) 60–72 % .....	29
Εικόνα 16: Φλοιός ροδιού .....	32
Εικόνα 17: Tea Tree Oil .....	35
Εικόνα 18: (a) Χημική δομή α - και β - κυκλοδεξτρίνης (b) σχηματική απεικόνιση κυκλοδεξτρίνης [29].....	36
Εικόνα 19: Χημική δομή των τριών δομών κυκλοδεξτρίνης .....	36
Εικόνα 20: Εκχύλισμα Tea Tree Oil και εκχύλισμα φλοιού ροδιού.....	39
Εικόνα 21: Υδατικό διάλυμα β – Κυκλοδεξτρίνης .....	40
Εικόνα 22: Διάγραμμα πειραματικής διαδικασίας. Οι πρώτες ύλες, που χρησιμοποιήθηκαν παρουσιάζονται με πράσινο χρώμα, οι διεργασίες με τις οποίες παρήχθησαν τα τελικά προϊόντα με μπλε χρώμα και οι διεργασίες χαρακτηρισμού με μωβ χρώμα .....	41
Εικόνα 23: Καταψύκτης Panasonic, MDF-U3386S, -80 °C.....	42
Εικόνα 24: Ξήρανση υπό κατάψυξη φλοιού ροδιού .....	43
Εικόνα 25: Αποξηραμένος φλοιός ροδιού.....	43
Εικόνα 26: Τα δύο δείγματα διαφορετικής κοκκομετρίας, που προέκυψαν από την κοσκίνιση	44
Εικόνα 27: Καταψύκτης SANYO, MDF 236, -30 °C.....	45
Εικόνα 28: Μέθοδος Folin – Ciocalteu στο εκχύλισμα ροδιού .....	45
Εικόνα 29: Φωτομέτρηση των δειγμάτων εκχυλίσματος ροδιού στα 765 nm.....	46
Εικόνα 30: Συσκευή Ομοαξονικής Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης - FLUIDNATEK LE-10, Biolnacia [114].....	47
Εικόνα 31: Ηλεκτροστατική ινοποίηση κυκλοδεξτρίνης .....	47
Εικόνα 32: Ηλεκτροστατική ινοποίηση εκχυλίσματος ροδιού σε μήτρα β - κυκλοδεξτρίνης .....	48
Εικόνα 33: Ηλεκτροστατική ινοποίηση εκχυλίσματος Tea Tree Oil σε μήτρα β – κυκλοδεξτρίνης .....	48
Εικόνα 34: Λήψη δειγμάτων από αλουμινόχαρτο και τοποθέτησή τους σε κατάλληλους για το Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (SEM) δειγματοφορείς .....	49
Εικόνα 35: Επιχρύσωση δειγμάτων για μετέπειτα μέλετη αυτών στη συσκευή SEM.....	49
Εικόνα 36: Παρασκευή διαλύματος νερού - ναοϊνών ροδιού .....	51
Εικόνα 37: Δοκιμή αποδέσμευσης ναοϊνών ροδιού .....	51
Εικόνα 38: Διάλυμα ναοϊνών ΤΤΟ – αιθανόλης.....	52
Εικόνα 39: Δοκιμή αποδέσμευσης ναοϊνών ΤΤΟ .....	52
Εικόνα 40: Μελέτη ναοϊνών με την τεχνική της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης.....	53
Εικόνα 41: Νανοΐνες ΤΤΟ και ροδιού για εισαγωγή σε κρέμες .....	54

Εικόνα 42: Κρέμα βάση, κρέμα βάση με νανοϊνες ροδιού και κρέμα βάση με νανοϊνες Tea Tree Oil .....	55
Εικόνα 43: Αποθήκευση κρεμών σε θαλάμους ελεγχόμενης θερμοκρασίας.....	55
Εικόνα 44: Διαλύματα κρεμών αραιώσεως 1:10 με διάλυμα Ringer για μικροβιακή ανάλυση....	56
Εικόνα 45: Επώαση των τρυβλίων με το υπόστρωμα για ανάπτυξη <i>E.coli</i> και APC στους 37 °C	57
Εικόνα 46: Επώαση των τρυβλίων με το υπόστρωμα για ανάπτυξη Yeasts/ Moulds στους 30 °C .....	57
Εικόνα 47: Δείγματα απλωμένα στα τρυβλία με θρεπτικό υλικό για APC, Y/M και <i>E.coli</i> .....	58
Εικόνα 48: Μέτρηση του pH των δειγμάτων κρέμας .....	58
Εικόνα 49: Χρωματικό μοντέλο - Χρωματόμετρο Miniscan XE .....	59
Εικόνα 50 : Δυναμική Μηχανική Ανάλυση με διάταξη συσκευής plate – plate geometry .....	60
Εικόνα 51: Κώνος Taylor και έγχυση, για παροχή κυκλοδεξτρίνης 1 mL/h και παροχή εκχυλίσματος ροδιού 0,5 mL/h με επιβαλλόμενη τάση 24,1 kV .....	67
Εικόνα 52: Κώνος Taylor και έγχυση, για παροχή κυκλοδεξτρίνης 0,5 mL/h και παροχή εκχυλίσματος Tea Tree Oil 0,4 mL/h με επιβαλλόμενη τάση 26,1 kV .....	67
Εικόνα 53: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλοδεξτρίνης με επιβαλλόμενη τάση 28,5 kV και παροχή 1,3 mL/h (5000x) .....	68
Εικόνα 54: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλοδεξτρίνης με επιβαλλόμενη τάση 21 kV και παροχή 0,4 mL/h (6000x) .....	68
Εικόνα 55: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλ. με επιβαλλόμενη τάση 26,1 kV και παροχή 0,5 mL/h (6000x) .....	69
Εικόνα 56: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλοδεξτρίνης - Tea Tree Oil, με επιβαλλόμενη τάση 28,4 kV και παροχές κυκλοδεξτρίνης και Tea Tree Oil 1,3 mL/h και 0,3 mL/h αντίστοιχα (5000x).....	69
Εικόνα 57: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλοδεξτρίνης - Tea Tree Oil, με επιβαλλόμενη τάση 21 kV και παροχές κυκλοδεξτρίνης και Tea Tree Oil 0,4 mL/h και 0,3 mL/h αντίστοιχα (6000x).....	69
Εικόνα 58: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλοδεξτρίνης - Tea Tree Oil, με επιβαλλόμενη τάση 21 kV και παροχές κυκλοδεξτρίνης και Tea Tree Oil 0,4 mL/h και 0,3 mL/h αντίστοιχα (12000x).....	70
Εικόνα 59: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλοδεξτρίνης - Tea Tree Oil, με επιβαλλόμενη τάση 24,1 kV και παροχές κυκλοδεξτρίνης και Tea Tree Oil 0,5 mL/h και 0,4 mL/h αντίστοιχα (12000x).....	70
Εικόνα 60: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλοδεξτρίνης – εκχυλίσματος ροδιού, με επιβαλλόμενη τάση 28,5 kV και παροχές κυκλοδεξτρίνης και εκχυλίσματος ροδιού 1,5 mL/h και 0,5 mL/h αντίστοιχα (12000x).....	70
Εικόνα 61: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλοδεξτρίνης – εκχυλίσματος ροδιού, με επιβαλλόμενη τάση 24,1 kV και παροχές κυκλοδεξτρίνης και εκχυλίσματος ροδιού 1 mL/h και 0,5 mL/h αντίστοιχα (12000x).....	71



# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1 Αντικείμενο και Στόχοι

**Αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής εργασίας** αποτελεί η μελέτη της τεχνικής της ηλεκτροστατικής ινοποίησης για τον εγκλεισμό αντισηπτικών και αντιοξειδωτικών ουσιών και η εφαρμογή τους σε καλλυντικές κρέμες προσώπου.

Με τη μέθοδο του εγκλεισμού καθίσταται δυνατή η προστασία και η βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας των βιοδραστικών ουσιών καθώς και η κάλυψη των ανεπιθύμητων ιδιοτήτων τους (π.χ. χρώμα, οσμή). **Η μεγάλη σημασία και το επιστημονικό ενδιαφέρον** έγκειται σε αυτά ακριβώς τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά που προσδίδονται στις βιοδραστικές ουσίες και κατ' επέκταση στο προϊόν στο οποίο προστίθενται καθώς και στην ελεγχόμενη αποδέσμευσή τους. Επιπρόσθετα, δίνεται η δυνατότητα προσθήκης βιοδραστικών συστατικών που ήταν απαγορευτική η χρήση τους λόγω των ιδιαίτερων και ανεπιθύμητων οργανοληπτικών τους χαρακτηριστικών (χρώμα, γεύση, οσμή) κυρίως σε ότι αφορά στην προσθήκη τους σε προϊόντα της βιομηχανίας τροφίμων και καλλυντικών.

Ο νανοεγκλεισμός, μία τεχνική με αυξημένο επιστημονικό ενδιαφέρον, παρουσιάζει ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών σε πληθώρα βιομηχανιών, με πολύ σημαντική αυτή των καλλυντικών. Σήμερα, προκειμένου να αυξηθούν οι ευεργετικές ιδιότητες των καλλυντικών, **το επιστημονικό ενδιαφέρον έχει στραφεί** στην προσθήκη βιοδραστικών ουσιών από φυσικές πηγές. Ακολουθώντας αυτή την τάση το διεθνές επιστημονικό ενδιαφέρον έχει στραφεί στη μελέτη καινοτόμων μεθόδων νανοεγκλεισμού, όπως η Ηλεκτροστατική Ινοποίηση. Οι παράμετροι και το πως αυτές επηρεάζουν τις νανοδομές των εγκλεισμένων ουσιών και κατ' επέκταση τις ιδιότητες τους στο τελικό προϊόν είναι υψίστης σημασίας και αποτελεί μία από τις βασικότερες ερευνητικές κατευθύνσεις στον συγκεκριμένο ερευνητικό τομέα.

## 1.2. Τοποθέτηση της διπλωματικής εργασίας – Μεθοδολογική προσέγγιση

**Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας** ήταν η μελέτη της παραγωγής νανοϊνών για τον εγκλεισμό αντιοξειδωτικών και αντισηπτικών ουσιών με χρήση της καινοτόμου μεθόδου της **Ομοαξονικής Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης (Coaxial Electrospinning)** με σκοπό την εφαρμογή τους σε καλλυντικές κρέμες.

**Η μεθοδολογική προσέγγιση** που υιοθετήθηκε ήταν αποτέλεσμα ενδελεχούς βιβλιογραφικής ανασκόπησης. Συγκεκριμένα, επιλέχθησαν ουσίες σημαντικές για τον τομέα των καλλυντικών καθώς και συμβατή ήδη χρησιμοποιούμενη μήτρα εγκλεισμού. Έγινε χρήση της μεθόδου της Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης και με επιλογή των βέλτιστων συνθηκών έγινε παραγωγή νανοϊνών με εγκλεισμένες βιοδραστικές ουσίες. Οι νανοΐνες στη συνέχεια, προστέθηκαν σε κρέμα βάση και μελετήθηκαν τυχόν μεταβολές σε βασικές ιδιότητες των τελικών προϊόντων από την κρέμα αυτή.

### 1.3 Επιμέρους στόχοι – Αναμενόμενη συνεισφορά

Οι **επιμέρους στόχοι** της παρούσας εργασίας συνοψίζονται στα εξής:

- Μελέτη και αριστοποίηση της διεργασίας της ηλεκτροστατικής ινοποίησης.
- Μελέτη και αξιολόγηση παραγόμενων νανοδομών.
- Προσθήκη νανοϊνών σε καλλυντικά προϊόντα (κρέμα προσώπου) και μελέτη της επίδρασής τους στα βασικά τους χαρακτηριστικά.

Καθώς όλοι οι προαναφερθέντες στόχοι ολοκληρώθηκαν με επιτυχία στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας, **η αναμενόμενη συνεισφορά της** θα μπορούσε να αποτελείται σαφώς από τις μεθοδολογίες και την παροχή εξειδικευμένης γνώσης για αντίστοιχα πειράματα από άλλους ερευνητές, ωστόσο πολύ σημαντικά είναι και τα επιστημονικά ευρήματα καθώς δημιουργήθηκε ένα καινοτόμο, με μοναδικά χαρακτηριστικά προϊόν, του οποίου η εφαρμογή στη βιομηχανία καλλυντικών μπορεί μελλοντικά να αποβεί καθοριστική.

### 1.4 Διάρθρωση

Στο πρώτο κεφάλαιο, παρουσιάζονται αρχικά το αντικείμενο και οι στόχοι της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Ακολούθως, αναφέρεται η μεθοδολογική προσέγγιση που ακολουθήθηκε, οι επιμέρους στόχοι και η αναμενόμενη συνεισφορά της διπλωματικής εργασίας. Τέλος, παρουσιάζεται η διάρθρωσή της.

Στο δεύτερο κεφάλαιο γίνεται αρχικά, αναφορά στην έννοια του εγκλεισμού, στα βιοδραστικά συστατικά και στις εφαρμογές τους. Ακολουθεί παράθεση διαφόρων μεθόδων εγκλεισμού και δίνεται έμφαση σε αυτές της Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης (Electrospinning) και της Ομοαξονικής Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης (Coaxial Electrospinning), που χρησιμοποιείται άλλωστε και στην εν λόγω διπλωματική εργασία και στους τομείς εφαρμογής τους. Παρουσιάζεται η διάταξη των δύο αυτών μεθόδων, αναλύονται οι παράμετροι, που επηρεάζουν τις παραγόμενες μέσω αυτών νανοδομές και εντοπίζονται οι διαφορές καθώς και τα πλεονεκτήματα τους έναντι άλλων μεθόδων εγκλεισμού. Τέλος, γίνεται αναφορά στις σύγχρονες τάσεις στα καλλυντικά προϊόντα και αναλύεται η δράση των βιοδραστικών ουσιών του ροδιού, του Tea Tree Oil και της κυκλοδεξτρίνης.

Στο τρίτο κεφάλαιο, περιγράφεται η πειραματική διαδικασία, που ακολουθήθηκε. Έτσι, αρχικά, αναφέρονται τα υλικά, που χρησιμοποιήθηκαν για τον εγκλεισμό των βιοδραστικών συστατικών στην κυκλοδεξτρίνη, για τον χαρακτηρισμό των βιοδραστικών συστατικών και για την μικροβιολογική ανάλυση. Έπειτα, παρουσιάζονται οι μέθοδοι, που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των νανοϊνών και την μελέτη τόσο αυτών, όσο και των καλλυντικών κρεμών, που τις περιείχαν.

Στο τέταρτο κεφάλαιο, παρουσιάζονται, αναλύονται και σχολιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων.

Στο πέμπτο κεφάλαιο, τέλος συντελείται η εξαγωγή των συμπερασμάτων και προτείνονται μελλοντικές προοπτικές για την εξέλιξη του μελετώμενου θέματος.





## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 2.1 Εγκλεισμός Βιοδραστικών Ουσιών

Ο εγκλεισμός ουσιών σε μικροδομές ή νανοδομές είναι μια τεχνολογία που χρησιμοποιείται για την ενθυλάκωση βιοδραστικών συστατικών σε μία μήτρα. Κατά τον εγκλεισμό σχηματίζονται μικρο ή νάνοσφαιρίδια και μικρο ή νανοϊνες. Οι συγκεκριμένες δομές, (τα σφαιρίδια και οι ίνες) μπορεί να περικλείουν ουσίες υδρόφοβες ή υδρόφιλες σε αέρια, υγρή ή στερεή μορφή.

Το περίβλημα των σωματιδίων (μήτρα) αποτελείται από μια ουσία που χρησιμεύει ως «φράγμα» (barrier) ή προστατευτικό πλέγμα είναι συνήθως ένα βιοαποικοδομήσιμο ή βιοσυμβατό πολυμερές και καθορίζει το ρυθμό αποδέσμευσης του δραστικού εγκλεισμένου συστατικού. Το φράγμα αυτό μπορεί να έχει είτε τη μορφή μεμβράνης, οπότε και διαμορφώνονται συστήματα μεμβράνης (membrane ή reservoir systems), είτε πολυμερικής ή κηρώδους μήτρας.

Η επιλογή του φορέα είναι πολύ σημαντική παράμετρος για την αποτελεσματικότητα του μικρο/νάνοεγκλεισμού και τη σταθερότητα του τελικού προϊόντος. Τα κριτήρια επιλογής βασίζονται κυρίως στις φυσικοχημικές ιδιότητες (διαλυτότητα, μοριακό βάρος, κρυσταλλικότητα, γαλακτωματοποιητική ικανότητα), καθώς και στις ιδιότητες εξάτμισης. Πολυμερή υδατανθρακικής φύσης, πρωτεΐνες και λιπίδια είναι οι κυριότερες κατηγορίες των διαθέσιμων φορέων εγκλεισμού [1], [2].

Ο νανοεγκλεισμός εφαρμόζεται με σκοπό τη βελτίωση κυρίως των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (γεύση, οσμή, χρώμα, κλπ.) των ευαίσθητων ή/και ερεθιστικών βιοενεργών συστατικών. Επίσης, με τον εγκλεισμό ουσιών, εξασφαλίζεται η προστασία αυτών από δυσμενείς επιδράσεις του περιβάλλοντος στο οποίο βρίσκονται και από την επεξεργασία που υφίστανται μετά την προσθήκη τους στο προϊόν. Όπως αναφέρεται άλλωστε ευρέως στη βιβλιογραφία, ο εγκλεισμός εφαρμόζεται κυρίως για την προστασία των συστατικών που είναι ευαίσθητα στη θερμότητα ή στην οξείδωση. Επίσης, με την κατάλληλη επιλογή του μέσου, μέσα στο οποίο θα εγκλεισθεί το βιοενεργό συστατικό, μπορεί να ελεγχθεί και ο χρόνος απελευθέρωσής του ώστε να προκύψει το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα [3].

Πιο αναλυτικά, παρακάτω παρουσιάζονται τα κυριότερα πλεονεκτήματα της τεχνικής του εγκλεισμού :

- Ασφαλής διαχείριση των βιοδραστικών ουσιών στη χρήση και στη διάθεση αυτών στο περιβάλλον.
- Διατήρηση των βιοδραστικών συστατικών ενός φαρμάκου, καλλυντικού ή τροφίμου (προϊόντος εν γένει) για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα κατά την αποθήκευση και συνεπώς αύξηση του χρόνου ζωής τους.
- Προστασία από ανεπιθύμητες αλληλεπιδράσεις της βιοδραστικής ουσίας με το φάρμακο, καλλυντικό ή τρόφιμο στο οποίο έχει προστεθεί.
- Κάλυψη των ανεπιθύμητων ιδιοτήτων των βιοδραστικών ουσιών, όπως η οσμή και η γεύση αυτών.
- Διατήρηση του αρώματος των βιοδραστικών ουσιών κατά τη διάρκεια αποθήκευσης αυτών.

- Προστασία από μικροβιολογικές μολύνσεις των ουσιών.
- Δημιουργία σταθερών και τυποποιημένων συστατικών.
- Προστασία των ευαίσθητων, βιοδραστικών ουσιών από αλλοιώσεις, προερχόμενες από εξωτερικούς παράγοντες (π.χ. ακτινοβολία, θερμότητα, οξυγόνο και υγρασία της ατμόσφαιρας).
- Μετατροπή υγρών ουσιών σε στερεή σκόνη, με αποτέλεσμα ευκολότερο χειρισμό και χορήγηση των ουσιών, χαμηλότερο κόστος αποθήκευσης και συσκευασίας και εξοικονόμηση ανθρώπινου δυναμικού.
- Προστασία των χημικά ενεργών ουσιών από χημική προσβολή.
- Έλεγχος της έναρξης και του ρυθμού απελευθέρωσης της ενεργούς ουσίας μέσα στο προϊόν κατά την κατανάλωση ή χρήση τού – ελεγχόμενη απελευθέρωση – αποδέσμευση των ουσιών.
- Κάλυψη φυσικοχημικών ιδιοτήτων της ενεργούς ουσίας, όπως η υψηλή πτητικότητα, ερεθιστικότητα, καταλυτικές ιδιότητες, επίδραση στο pH κ.ά., μπορούν να καλυφθούν από το υλικό της μεμβράνης ή μήτρας, μέχρι να χρειαστεί η αποδέσμευση της ουσίας στο περιβάλλον ή στον οργανισμό.
- Βελτίωση των ιδιοτήτων ροής των ουσιών και της απόδοσης αυτών κατά τον εγκλεισμό τους (π.χ. βελτίωση ιδιοτήτων συμπίεσης και διάλυσης) [3], [4].

### 2.1.1 Ελεγχόμενη αποδέσμευση

Κατά την ελεγχόμενη αποδέσμευση ουσιών, η απόδοση της δραστικής ουσίας στο περιβάλλον ελέγχεται από μηχανισμούς διάχυσης μέσω του υλικού – φραγμού (μήτρας), με αποτέλεσμα να λαμβάνονται διάφορα προφίλ αποδέσμευσης. Η συμπεριφορά της εκάστοτε ουσίας εγκλεισμού, εξαρτάται:

- Από τη διάχυση της ουσίας,
- από τα συστατικά (μήτρα και εγκλεισμένη ουσία), που χρησιμοποιούνται και τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις και
- από το βαθμό διάσπασης του φορέα (της μήτρας) [5], [6].

Η συμπεριφορά στην αποδέσμευση μιας δραστικής ουσίας, μπορεί να ελεγχθεί με την επιλογή της κατάλληλης πολυμερικής μήτρας. Στα πολυμερικά συστήματα, όσο μεγαλύτερο είναι το μέσο μοριακό βάρος του πολυμερούς, τόσο πιο αργά πραγματοποιείται η *in vitro* αποδέσμευση του εγκλεισμένου συστατικού [7]. Ο κυριότερος όμως παράγοντας που καθορίζει το προφίλ της απελευθέρωσης της δραστικής ουσίας είναι η δομή του συστήματος.

Ωστόσο, σχεδόν όλοι οι σχηματισμοί που γίνονται παρουσιάζουν μια ομαλή απελευθέρωση της ουσίας στην αρχή, που ακολουθείται από μία εκρηκτική απελευθέρωση αυτής (Burst Release Mechanism) από τα αρχικά κίονας στάδια [8], [9].

Οι λόγοι για την εμφάνιση αυτού του φαινομένου μπορεί να είναι:

- Ρωγμές στο προστατευτικό κέλυφος της κάψουλας.
- Το «φαινόμενο αποθήκευσης» (storage effect), όπου συντελείται κορεσμός της μεμβράνης με τις δραστικές ουσίες.
- Η υπερφόρτωση (loading) της κάψουλας με δραστική ουσία.

- Όταν η μικρο/νανο-κάψουλα τοποθετείται σε ένα μέσο απελευθέρωσης, η ενεργός ουσία μπορεί να αρχίσει να διαχέεται γρήγορα έξω από την επιφάνεια της μεμβράνης προκαλώντας εκρηκτική αποδέσμευση.

Χαμηλού μοριακού βάρους δραστικές ουσίες υφίστανται συχνά το φαινόμενο της εκρηκτικής απελευθέρωσης, λόγω της υψηλής οσμωτικής πίεσης και της αυξημένης βαθμίδας συγκέντρωσης. Άλλοι λόγοι για εκρηκτική αποδέσμευση περιλαμβάνουν: τις συνθήκες επεξεργασίας, τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας του υλικού υποδοχής, τη γεωμετρία του δείγματος, την αλληλεπίδραση με το περιβάλλον υποδοχής, τη μορφολογία και την πορώδη δομή του υλικού.

Ως λύσεις για την αποφυγή της εκρηκτικής αποδέσμευσης προτείνεται κυρίως η εφαρμογή ενός επιπρόσθετου υλικού επικάλυψης πάνω από ένα μονοστρωματικό μικρο/νανο-σωματίδιο, δομή η οποία μπορεί να βοηθήσει την εξάλειψη της εκρηκτικής αποδέσμευσης, αν και συχνά μπορεί να αλλάξει αρκετά το προφίλ απελευθέρωσης. Άλλες λύσεις περιλαμβάνουν το πλύσιμο των μικρο/νανο-σωματιδίων για να αφαιρεθούν σταγονίδια δραστικών ουσιών από την επιφάνειά τους [10].

## 2.2 Βιοδραστικά συστατικά

Βιοδραστικά συστατικά είναι τα απαραίτητα για τον οργανισμό συστατικά (π.χ. βιταμίνες, πολυφαινόλες κ.ο.κ.) που υπάρχουν στη φύση, αποτελούν μέρος της διατροφικής αλυσίδας και μπορεί να επηρεάζουν την ανθρώπινη υγεία.

Τα βιοδραστικά συστατικά αναφέρονται και ως «φαρμακοτρόφιμα», μια ορολογία που υποδηλώνει την ύπαρξη τους στην ανθρώπινη διατροφή και τη βιολογική τους δράση. Η προσθήκη βιοδραστικών συστατικών σε καλλυντικά, τρόφιμα ή φάρμακα αυξάνει τις ευεργετικές ιδιότητες αυτών των προϊόντων [11].

Τα εν λόγω συστατικά αλληλεπιδρούν αποτελεσματικά με το DNA, τις πρωτεΐνες και άλλα βιολογικά μόρια. Η λειτουργία τους αυτή τα καθιστά ιδανικά για το σχεδιασμό φυσικών προϊόντων, προερχόμενων από συστατικά με θεραπευτική δράση [12].

## 2.3 Εφαρμογές Εγκλεισμού

Ο νανοεγκλεισμός ουσιών εφαρμόζεται σήμερα, σε μία πληθώρα τομέων, όπως οι κάτωθι:

- Βιομηχανία καλλυντικών,
- βιομηχανία φαρμάκων,
- βιομηχανία τροφίμων,
- βιομηχανία λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων,
- γραφικές τέχνες, εκτυπωτικά και φωτογραφικά είδη,
- καύσιμα, κλπ.

Αναλυτικότερα, στις παραγράφους που ακολουθούν αναλύονται οι πιο σημαντικές εφαρμογές που αφορούν στις βιομηχανίες τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών:

### 2.3.1 Βιομηχανία Τροφίμων

Η νανοτεχνολογία αποτελεί επανάσταση στο χώρο των τροφίμων εν γένει, από την παραγωγή μέχρι την επεξεργασία, την αποθήκευση και την ανάπτυξη καινοτόμων υλικών, προϊόντων και εφαρμογών. Η βιομηχανία τροφίμων καλείται να ανταποκριθεί σε πληθώρα προκλήσεων δημιουργώντας και εξελίσσοντας συστήματα, ικανά να παράγουν τρόφιμα υψηλής ποιότητας, ασφαλή, αποτελεσματικά, φιλικά προς το περιβάλλον και συγχρόνως με μεγάλη διατηρησιμότητα. Η νανοτεχνολογία, απαντάει στις προκλήσεις αυτές, καθώς εισάγει ταχύτατα στην αγορά των τροφίμων, καινοτόμα προϊόντα.

Με τη χρήση της νανοτεχνολογίας και συγκεκριμένα του νανοεγκλεισμού στον τομέα των τροφίμων εδραιώνονται καινοτομίες που αφορούν στις μακρομοριακές ιδιότητες των τροφίμων, όπως η υφή, η γεύση, άλλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, η ένταση του χρώματος και η σταθερότητα κατά την επεξεργασία και κατά τον κύκλο ζωής, οδηγώντας έτσι στη δημιουργία πληθώρας καινούριων προϊόντων. Επιπλέον, η νανοτεχνολογία δύναται να βελτιώσει τη διαλυτότητα, τη θερμική σταθερότητα και τη βιοδιαθεσιμότητα των βιοενεργών συστατικών.

Ο νανο – εγκλεισμός σε δομή σωματιδίων περιλαμβάνει την ενσωμάτωση, την απορρόφηση ή τη διασπορά βιοενεργών συστατικών υπό τη μορφή μικρών κυστιδίων με μέγεθος διαμέτρου της τάξης των νάνο. Η μεταφορά οποιουδήποτε βιοενεργού συστατικού σε διαφορετικά μέρη του σώματος επηρεάζεται άμεσα από το μέγεθος των σωματιδίων. Η μείωση του μεγέθους τους (στην τάξη των νάνο) μπορεί να αυξήσει τη βιοδιαθεσιμότητα, τις ιδιότητες μεταφοράς και την διαλυτότητα των φαρμακοτροφίμων, λόγω της μεγαλύτερης επιφάνειας δραστικής ουσίας ανά όγκο και έτσι να αυξήσουν την βιολογική δράση.

Σήμερα, παράγονται χιλιάδες νανοκάψουλες, που περιέχουν ενισχυτές χρώματος ή γεύσης ή πρόσθετα θρεπτικά στοιχεία, τα οποία παραμένουν αδρανή μέσα στο τρόφιμο και ενεργοποιούνται μόνο κατά την κατανάλωση αυτού.

Η ελεγχόμενη και στοχευμένη απελευθέρωση της δραστικής ουσίας αυξάνει την αποτελεσματικότητα των μικρο ή νανοσυστατικών, διευρύνει την κλίμακα των εφαρμογών στα συστατικά τροφίμων και εξασφαλίζει τη βέλτιστη δοσολογία, αυξάνοντας έτσι την αποδοτικότητα των τροφίμων σε οικονομικό επίπεδο.

Τα μικρά σωματίδια (νάνο) βελτιώνουν τις ρεολογικές ιδιότητες των τροφίμων και την σταθερότητα αυτών και μπορούν να συμβάλλουν στην ανάπτυξη υγιεινότερων, χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά τροφίμων.

Έτσι, χρησιμοποιώντας τον νανοεγκλεισμό αυξάνονται οι ευκαιρίες – δυνατότητες σχετικά με την παρατεταμένη γαστροεντερική κατακράτηση, εξαιτίας της αυξημένης βιοσυμβατότητας (bioadhesiveness) στη βλέννα, που καλύπτει το εντερικό επιθήλιο. Επιπρόσθετα, μετατροπές στις ιδιότητες των επιφανειών (π.χ. επικαλύψεις) καθιστούν δυνατή την στοχευμένη μεταφορά συστατικών.

Στη βιομηχανία των τροφίμων, ο νανοεγκλεισμός βρίσκει εφαρμογή και στην παραγωγή συσκευασιών, ικανών να αυξήσουν τη διατηρησιμότητα των τροφίμων [13].

Εκτός από την βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας, τα συστήματα εγκλεισμού παρέχουν πληθώρα πλεονεκτημάτων, συμπεριλαμβανομένων:

- της προστασίας από την οξείδωση,

- της κάλυψης της γεύσης,
- της ελεγχόμενης αποδέσμευσης της υγρασίας,
- της ελεγχόμενης αποδέσμευσης της οξύτητας,
- της ταυτόχρονης μεταφοράς πολλών ενεργών συστατικών,
- της προστασίας από την αλλαγή στη γεύση,
- της διατηρησιμότητας των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών,
- της προστασίας από αύξηση ή μείωση του pH,
- της προστασίας από ενζυματική αλλοίωση [14], [15], [16].

#### Συστατικά για νανοεγκλεισμό

Όσον αφορά στα φαρμακοτρόφιμα η αποτελεσματικότητά τους στο να προφυλάζουν τον ανθρώπινο οργανισμό από ασθένειες σχετίζεται με την ικανότητα να διατηρείται η βιοδιαθεσιμότητα των βιοενεργών συστατικών μέχρι να φτάσουν την περιοχή στόχο. Η μείωση του μεγέθους των σωματιδίων μπορεί να αυξήσει τη βιοδιαθεσιμότητα, τις ιδιότητες μεταφοράς και την διαλυτότητα των φαρμακοτροφίμων, λόγω της μεγαλύτερης επιφάνειας δραστικής ουσίας ανά όγκο και έτσι να αυξήσουν την βιολογική δράση. Η βιοδιαθεσιμότητα των φαρμακοτροφίμων αυξάνεται, επειδή ο «νανομεταφορέας» τους επιτρέπει να εισχωρήσουν στο αίμα από το έντερο ευκολότερα.

Τα συστατικά των φαρμακοτροφίμων μπορούν να διαχωριστούν ως λιπόφιλα ή υδρόφιλα, με κριτήριο τη διαλυτότητά τους στο νερό. Τα υδρόφιλα συστατικά είναι διαλυτά στο νερό, αλλά αδιάλυτα σε λίπη και οργανικούς διαλύτες. Τα λιπόφιλα συστατικά είναι αδιάλυτα στο νερό, αλλά διαλυτά σε λίπη και οργανικούς διαλύτες. Παραδείγματα νανοεγκλεισμένων λιπόφιλων φαρμακοτροφίμων αποτελούν το λυκοπένιο, η βήτα – καροτίνη, η λουτεΐνη και οι φυτοστερόλες.

Ο νανοεγκλεισμός προστατεύει το βιοδραστικό συστατικό από ανεπιθύμητες περιβαλλοντικές συνθήκες, π.χ. από οξείδωση. Στα τρόφιμα τα συνηθέστερα νανοσυστήματα μεταφοράς που χρησιμοποιούνται για εγκλεισμό, είναι οι βασισμένες στα λίπη και οι βασισμένες σε φυσικά, βιοδιασπώμενα πολυμερή, κάψουλες. Τα νανο – γαλακτώματα, τα νανο – λιποσώματα, τα στερεά νανο – λιποσώματα αποτελούν λιπόφιλα νανοσυστήματα μεταφοράς και χρησιμοποιούνται συχνά στη βιομηχανία τροφίμων.

Φυσικά πολυμερή, όπως η αλβουμίνη, η ζελατίνη, τα αλγινικά, το κολλαγόνο και η χιτοσάνη χρησιμοποιούνται επίσης για τη δημιουργία νανοσυστημάτων μεταφοράς ουσιών.

Την τελευταία δεκαετία στον κλάδο των τροφίμων, έχει σημειωθεί τεράστια πρόοδος στην ανάπτυξη νανοσυστημάτων μεταφοράς, καθώς έχει παρασκευαστεί πληθώρα προϊόντων (π.χ. πρωτεΐνη ορού γάλακτος) για χρήση π.χ. ως νανο – μεταφορείς που βελτιώνουν την βιοδιαθεσιμότητα των φαρμακοτροφίμων, ως νανοσταγόνες μεταφοράς βιταμινών στη βλεννογόνο ή ως συστήματα μεταφοράς μεταλλικών στοιχείων.

Ακόμη, όσον αφορά στα λιποσώματα θεωρείται ότι παρέχουν πολλά πλεονεκτήματα στη βιομηχανία τροφίμων, συμπεριλαμβανομένης της ικανότητας τους να προστατεύουν συστατικά (εγκλεισμένα), μέχρι αυτά να απελευθερωθούν ή να διαβιβαστούν στον οργανισμό. [14], [17], [15].

### 2.3.2 Βιομηχανία Φαρμάκων

Ο συμβατικός τρόπος χορήγησης φαρμακευτικών ουσιών περιλαμβάνει την εισαγωγή τους στον οργανισμό είτε άμεσα, δηλαδή κατευθείαν στο κυκλοφορικό σύστημα, είτε έμμεσα, μετά από κάποια διαδικασία απορρόφησης. Με την είσοδό της όμως στον οργανισμό, η ουσία διαχέεται στα όργανα και στους ιστούς με αποτέλεσμα να μην μπορούν να καθοριστούν η συγκέντρωσή της και ο χρόνος διάθεσής της στην επιθυμητή θέση δράσης. Παράλληλα, η δράση του φαρμάκου στους υγιείς ιστούς μπορεί να προκαλέσει ανεπιθύμητες παρενέργειες στον οργανισμό [6].

Η ελεγχόμενη χορήγηση φαρμάκων μπορεί να πραγματοποιηθεί με διάφορους τρόπους, όπως με τον καθορισμένο ρυθμό διάθεσης του φαρμάκου στο σύστημα, την εφαρμογή του απευθείας στην περιοχή του επιθυμητού οργάνου, όπου η φαρμακευτική ουσία αποδεσμεύεται με συγκεκριμένο ρυθμό και την εκλεκτική μεταφορά του στο στόχο. Ο τελευταίος τρόπος, δηλαδή η εκλεκτική μεταφορά της φαρμακευτικής ουσίας στο στόχο, επιτυγχάνεται με τη βοήθεια κατάλληλου φορέα με τον οποίο συνδέεται το φάρμακο και στη συνέχεια συσσωρεύεται εκλεκτικά με παθητικό ή ενεργητικό τρόπο στην επιθυμητή περιοχή δράσης.

Η ελεγχόμενη χορήγηση έχει τα εξής πλεονεκτήματα:

1. Σταθεροποίηση των επιπέδων της δραστικής ουσίας πάνω από τα θεραπευτικά επίπεδα για όσο χρόνο διαρκεί η θεραπεία και μικρότερες διακυμάνσεις της συγκέντρωσης,
2. ελάττωση των παρενεργειών,
3. ελάττωση της ποσότητας του φαρμάκου που απαιτείται για τη θεραπεία,
4. ελάττωση της συχνότητας χορήγησης των δόσεων και πιθανώς και της δυσκολίας χορήγησης,
5. αποτελεσματική χορήγηση βιοδραστικών ουσιών με μικρή βιολογική ημιπερίοδο ζωής, όπως τα πεπτίδια και οι πρωτεΐνες.

Δε θα έπρεπε ωστόσο να παραληφθεί και η αναφορά στα μειονεκτήματα, που πιθανώς να εμφανίσουν τα συστήματα του φορέα διάχυσης του φαρμάκου (drug delivery system), τα οποία περιλαμβάνουν:

- την πιθανή τοξικότητα και μη βιοσυμβατότητα του υλικού,
- τα παραπροϊόντα της χημικής αποικοδόμησης,
- την πιθανή απόρριψη της φαρμακευτικής ουσίας από το φορέα, και κυρίως
- το υψηλό κόστος σε σχέση με τις παραδοσιακές φαρμακευτικές μεθόδους [18].

Ο νανοεγκλεισμός βρίσκει πληθώρα εφαρμογών στον τομέα της εκλεκτικής και ελεγχόμενης μεταφοράς της φαρμακευτικής ουσίας στην περιοχή στόχο. Έχουν αναπτυχθεί αρκετά συστήματα μεταφοράς ουσιών για να βελτιώσουν την θεραπευτική ικανότητα των φαρμάκων και να μειώσουν την τοξικότητα των συμβατικών δόσεων. Σωματίδια της νάνο κλίμακας, όπως τα λιποσώματα, τα πολυμερικά μυκκήλια και οι νανοϊνες αποτελούν το επίκεντρο του ενδιαφέροντος την τελευταία δεκαετία [5]. Όσον αφορά για παράδειγμα στον καρκίνο, τα κλασσικά αντικαρκινικά φάρμακα παρουσιάζουν μειονεκτήματα, όπως τη μειωμένη διάρκεια ζωής στο ανθρώπινο σώμα, τις παρενέργειες στην υγεία και την χαμηλή θεραπευτική αποτελεσματικότητα στους συμπαγείς όγκους. Έχει πραγματοποιηθεί, λοιπόν πληθώρα

ερευνών, ούτως ώστε να αναπτυχθούν αποτελεσματικότερα συστήματα αποδέσμευσης κατά της εν λόγω ασθένειας. Μεταξύ των συστημάτων αυτών, έχει μελετηθεί αρκετά η χρήση πολυμερικών φαρμακευτικών νανοσυστημάτων αποδέσμευσης και έχει προκύψει ότι τα φάρμακα αυτά είναι αποτελεσματικότερα στη θεραπεία του καρκίνου, μειώνουν την τοξικότητα και ενισχύουν την αντίδραση των ασθενών κατά του καρκίνου. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η δραστική ουσία των νανοφαρμάκων αυτών παρέχεται στον οργανισμό με ελεγχόμενο ρυθμό σε συγκεκριμένο χρονικό διάστημα [19].

### 2.3.3 Βιομηχανία Καλλυντικών

Τα τελευταία χρόνια, η νανοτεχνολογία εισέρχεται στον κλάδο των καλλυντικών, εγκαινιάζοντας τον όρο των νανο – καλλυντικών και συμβάλλοντας στην εδραίωση επαναστατικών θεραπειών έναντι των διαφόρων δερματοπαθειών. Άλλωστε, η αυξημένη χρήση των νανο – καλλυντικών είναι ενδεικτική της πληθώρας πλεονεκτημάτων που αυτά προσφέρουν στη βιομηχανία των καλλυντικών και τους καταναλωτές της. Η νανοτεχνολογία αποτελεί την πλέον αποτελεσματική μέθοδο για την ασφαλή και στοχευμένη μεταφορά ενεργών και καλλυντικών εν γένει, συστατικών. Η χρήση νανοσυστημάτων μεταφοράς στον τομέα των καλλυντικών, έχει συμβάλει στην βελτίωση της διεισδυτικότητάς τους στο δέρμα και στην ελεγχόμενη αποδέσμευση και κατά συνέπεια δράση αυτών.

Η νανοτεχνολογία εισήλθε στον κλάδο των καλλυντικών και των προϊόντων προσωπικής υγιεινής πριν από περίπου 40 χρόνια με τα λιποσωματικά γαλακτώματα, που αποτελούν «δυναμικά οχήματα» για την ελεγχόμενη μεταφορά και αποδέσμευση καλλυντικών συστατικών και προϊόντων προσωπικής περιποίησης. Έκτοτε, οι εφαρμογές της νανοτεχνολογίας και των νανοϋλικών εντοπίζονται σε πληθώρα καλλυντικών προϊόντων, συμπεριλαμβανομένων των προϊόντων περιποίησης μαλλιών, των νανοκρυστάλλων, των δενδριμερών και των αντηλιακών προϊόντων [20]. Όσον αφορά στα αντηλιακά προϊόντα, για παράδειγμα, η εφαρμογή της νανοτεχνολογίας εντοπίζεται στη χρήση νανο – φίλτρων UV και νανοχρωστικών ουσιών, κατάλληλα διαμορφωμένων, ώστε να παραμένουν στην επιφάνεια του δέρματος.

Μία άλλη εφαρμογή της νανοτεχνολογίας στον κλάδο των καλλυντικών αποτελεί η χρήση νανοσωματιδίων στοιχείων του φυσικού περιβάλλοντος, όπως το διοξείδιο του τιτανίου, το οξείδιο του ψευδαργύρου, το αλουμίνιο, το ασήμι, το διοξείδιο του πυριτίου, το φθοριούχο ασβέστιο και ο χαλκός.

Επιπρόσθετα, νανο – καλλυντικά προϊόντα, που κυκλοφορούν στην αγορά αποτελούν οι κρέμες σμίλευσης, μαυρίσματος και απολέπισης σώματος, τα διάφορα είδη make – up, τα είδη καθαρισμού και φροντίδας της επιδερμίδας των μωρών, τα αποσμητικά σώματος, οι οδοντόκρεμες με νανοσωματίδια από ασήμι, τα σαπούνια, οι κρέμες προσώπου κ.α.

Ακολούθως, παρατίθενται αναλυτικά τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα χρήσης της νανοτεχνολογίας στον τομέα των καλλυντικών:

#### Πλεονεκτήματα

- Με τη χρήση της νανοτεχνολογίας στα καλλυντικά, τα αρώματα διαρκούν περισσότερο, ενώ τα αντηλιακά και οι αντιγηραντικές κρέμες καθίστανται δραστικότερα,

- οι διεργασίες παρασκευής σκευασμάτων περιποίησης της επιδερμίδας σε βιομηχανική κλίμακα βελτιστοποιούνται,
- αποτρέπεται η αλλαγή του χρώματος και της πτώσης των μαλλιών, ενώ τα ενεργά συστατικά τους, όπως οι βιταμίνες και τα αντιοξειδωτικά προστατεύονται,
- αυξάνεται η προστασία από την UV ακτινοβολία,
- το μικρό μέγεθος των νανοσωματιδίων ή νανοϊνών σε συνδυασμό με την μεγάλη διεπιφάνεια επιτρέπει την αποτελεσματικότερη μεταφορά του ενεργού συστατικού στο δέρμα,
- επιπλέον, το ενδιαφέρον για τα νανογαλακτώματα είναι αυξανόμενο, λόγω των επιδράσεων των βιοδραστικών συστατικών τους. Για παράδειγμα τα νανογαλακτώματα μπορεί να μειώσουν την διαδερμική απώλεια νερού (TEWL), ενισχύοντας την ικανότητα του δέρματος να δρα ως φραγμός. Τα νανογαλακτώματα είναι απολύτως συμβατά με τη βιομηχανία των καλλυντικών, καθώς δεν έχει παρατηρηθεί κανένας εγγενής σχηματισμός κρέμας με καθίζηση, κροκίδωση, ή συνένωση στα μακρογαλακτώματα.

#### Μειονεκτήματα

- Τα μικρότερα σωματίδια είναι χημικά πιο δραστικά και παράγουν μεγαλύτερες ποσότητες δραστικών μορφών οξυγόνου,
- μπορεί να προκαλέσουν οξειδωτικό στρες, φλεγμονή και ως αποτέλεσμα βλάβη στις πρωτεΐνες, τις μεμβράνες και το DNA,
- τα νανοϋλικά έχουν αποδειχθεί τοξικά για τα ανθρώπινα κύτταρα, αυξάνοντας το οξειδωτικό στρες και προκαλώντας το θάνατο των κυττάρων. Συγκεκριμένα τα νανοσωματίδια διοξειδίου του τιτανίου και τα εισπνεόμενα πολύ μικρά σωματίδια έχουν αποδειχθεί τοξικά για τον ανθρώπινο οργανισμό [21].

Σε κάθε περίπτωση, οι μοναδικές ιδιότητες των νανοϋλικών υποδεικνύουν ότι σταδιακά θα μπορούσαν να μεταμορφώσουν την καλλυντική βιομηχανία και την καθημερινότητα, εν γένει. Η τάση της αγοράς για δημιουργία θεραπευτικών καλλυντικών, θα οδηγήσει μελλοντικά στην διαρκή προσπάθεια για καλύτερη κατανόηση των σύγχρονων συστατικών και των τεχνικών αξιολόγησής τους [22].

## **2.4 Μέθοδοι Εγκλεισμού**

Ο εγκλεισμός ενεργών ουσιών σε νανοδομές μπορεί να πραγματοποιηθεί γενικά με δύο τρόπους, είτε με ενσωμάτωση του δραστικού συστατικού σε διάλυμα της μήτρας (συνήθως πολυμερικής φύσεως) και ταυτόχρονο σχηματισμό νανοσωματιδίων, είτε με εγκλεισμό του κατά το σχηματισμό των σωματιδίων.

Ανάλογα με το μέσο στο οποίο παράγονται οι νανοδομές, οι τεχνικές εγκλεισμού ουσιών σε νανοσωματίδια ή νανοϊνες, μπορούν να καταταχθούν σε δύο κύριες κατηγορίες: τις μεθόδους υγρού συνεχούς μέσου και τις μεθόδους όπου το συνεχές μέσο είναι ο αέρας.

Στην κατηγορία υγρού συνεχούς μέσου, βασικό στοιχείο είναι ο σχηματισμός ενός γαλακτώματος ή διασποράς μεταξύ δυο μη αναμίξιμων φάσεων. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν:



- Ο Διαχωρισμός Φάσεων Κolloειδών Διαλυμάτων, όπου ένα ομογενές διάλυμα πολυμερούς (της μήτρας), στο οποίο βρίσκεται διεσπαρμένη η ενεργός ουσία, διαχωρίζεται υπό την επίδραση μεταβολής στη θερμοκρασία, στο pH ή με προσθήκη ουσιών, σχηματίζοντας μικρο – νανοκάψουλες.
- Η Γαλακτωματοποίηση – Εξάτμιση του Διαλύτη, όπου η οργανική φάση που αποτελείται από το διάλυμα της ενεργούς ουσίας και του πολυμερούς, διασπείρεται σε μια συνεχή υδατική φάση που περιέχει το σταθεροποιητή και αφήνεται να εξατμιστεί ο διαλύτης του πολυμερούς.
- Η Δικτύωση σε Αιώρημα, όπου η ενεργός ουσία και το πολυμερές διαλύονται σε νερό (υδατική φάση), αναμιγνύονται με μια ελαιώδη φάση που περιέχει το σταθεροποιητή και προστίθεται ένα μέσο δικτύωσης για τη σκλήρυνση των σταγόνων του πολυμερούς.

Στην κατηγορία αερίου συνεχούς μέσου, πραγματοποιείται η εκνέφωση μιας υγρής φάσης. Τεχνικές, που ανήκουν στην κατηγορία αυτή αποτελούν η φυγοκεντρική εκβολή, η ξήρανση με εκνέφωση και ο **ηλεκτροστατικός μικρο – νανοεγκλεισμός** (Electrospraying / **Electrospinning**).

Η επιλογή της μεθόδου πραγματοποιείται με κριτήριο την εφαρμογή για την οποία προορίζονται οι μικρο/νανο – δομές, το είδος της προς εγκλεισμό ουσίας και τα χαρακτηριστικά που τους αποδίδει η κάθε μέθοδος [13]. Έτσι, ανάλογα με την εκάστοτε μέθοδο θα προκύψουν κάψουλες, σωματίδια ή ίνες διαφορετικής κλίμακας μεγέθους, ενώ οι συνθήκες παραγωγής των σωματιδίων (ή ινών), όπως η συγκέντρωση του σταθεροποιητή, η θερμοκρασία ή η συγκέντρωση της μήτρας επίσης επηρεάζουν τις τελικές δομές.

#### 2.4.1 Φυγοκεντρική Εκβολή (*Extrusion*)

Η εκβολή αποτελεί μία πολύ συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδο εξαιτίας της ευκολίας της, του χαμηλού της κόστους και των ομαλών συνθηκών σύνθεσης, που εξασφαλίζουν υψηλή βιωσιμότητα των προϊόντων της διεργασίας [23], [24]. Μία παραλλαγή της εκβολής αποτελεί η φυγοκεντρική εκβολή, που είναι μια διεργασία συνεκβολής. Κατά την φυγοκεντρική εκβολή εκβάλλονται ταυτόχρονα από δύο έκκετρα ακροφύσια η ενεργός ουσία και το διάλυμα ή το τήγμα του πολυμερούς, που την περιβάλλει. Όταν το σύστημα περιστρέφεται, το εξωθούμενο υλικό μετατρέπεται σε σταγονίδια, που σχηματίζουν κάψουλες [25].

#### 2.4.2 Ξήρανση με Εκνέφωση (*Spray Drying*)

Η ξήρανση με εκνέφωση αποτελεί μία συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδο μικροεγκλεισμού. Περιλαμβάνει την διασπορά του υλικού, που βρίσκεται στον πυρήνα και τη διαμόρφωση ενός γαλακτώματος ή διασπειρώματος. Ακολούθως, το υγρό ομογενοποιείται και το προκύπτον διάλυμα ψεκάζεται μέσω ειδικού ακροφυσίου και ρεύματος θερμού αέρα, προκαλώντας ταχεία εξάτμιση του διαλύτη για να σχηματιστούν τα επιθυμητά σωματίδια. Στη μέθοδο αυτή, η τροφοδοσία προϊόντος, η ροή αερίου και η θερμοκρασία πρέπει να ελέγχονται. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι ότι δύναται να αποτελέσει σύστημα συνεχούς λειτουργίας, είναι οικονομική και ευέλικτη, η ενεργειακή κατανάλωσή της είναι 6 έως 10 φορές χαμηλότερη από αυτήν της ξήρανσης με κατάψυξη και παράγει υψηλά ποιοτικά προϊόντα. Το μειονέκτημα της είναι οι υψηλές θερμοκρασίες, που αναπτύσσει, οι οποίες μπορεί να καταστρέψουν ορισμένα βιοδραστικά συστατικά, γι' αυτό και χρησιμοποιείται περισσότερο σε θερμοσταθερά συστήματα.

Η ξήρανση με εκνέφωση ή ξήρανση με ψεκασμό είναι η διαδικασία, που χρησιμοποιείται κατά βάση στη φαρμακοβιομηχανία και στη βιομηχανία τροφίμων, για την επεξεργασία των μητρών προς παραγωγή ξηρών σκονών, κόκκων και σφαιριδίων από διαλύματα και αιωρήματα πολυσακχαριτών. Είναι μία πολύ ευπροσάρμοστη τεχνική και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για θερμοανθεκτικά τρόφιμα και φάρμακα, διαλυτά ή αδιάλυτα στο νερό και υδρόφιλα ή υδρόφοβα πολυμερή. Είναι μια διαδικασία, που περιλαμβάνει ένα μόνο στάδιο, είναι φθηνή, παράγει μικρού μεγέθους σωματίδια και μπορεί να αναδιαμορφώσει τα σωματίδια υπό τη μορφή εναιωρημάτων, καψουλών ή δισκίων. Η μέθοδος αυτή θεωρείται γρήγορη, απλή και αποτελεσματική και βασίζεται στην ξήρανση των εκνεφομένων σταγονιδίων από ένα ρεύμα θερμού αέρα [25], [26], [17].

#### 2.4.3 Ηλεκτροστατική Ινοποίηση(*Electrospinning*)

Η μέθοδος του ηλεκτροστατικού εγκλεισμού μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή είτε μικρο- νανοσωματιδίων μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού (*electrospraying*) είτε μικρο – νανοϊνών με εφαρμογή της ηλεκτροστατικής ινοποίησης (*electrospinning*).

Η μέθοδος της **ηλεκτροστατικής ινοποίησης (*electrospinning* ή *electrostatic spinning*)** εφαρμόστηκε για πρώτη φορά στις αρχές της δεκαετίας του 1930. Το *electrospinning*, λοιπόν, αποτελεί μία σχετικά παλιά μέθοδο εγκλεισμού, αλλά το ενδιαφέρον για αυτήν έχει αναζωπυρωθεί τα τελευταία χρόνια, λόγω της ανάπτυξης νέων νανοτεχνολογιών.

Είναι μία αποδοτική, απλή, φθηνή και ευέλικτη τεχνική, που χρησιμοποιείται για την παραγωγή πολύ λεπτών ινών (νανοστοιχεία μίας διάστασης), με μέσες διαμέτρους μεταξύ μερικών δεκάδων νανομέτρων έως λίγων μικρομέτρων (3 έως 5000 νανόμετρα). Οι ίνες αυτές παρασκευάζονται από διαλύματα ή τήγματα συνθετικών πολυμερών, φυσικά απαντώμενων βιοπολυμερών, *sol – gels* και σύνθετων υλικών [27], [28], [29] και συχνά περιέχουν ενεργά συστατικά, όπως φάρμακα, αντιοξειδωτικές και αντιβακτηριακές ουσίες, αρώματα και γεύσεις [30], [31] σε μορφή διαλυμάτων, γαλακτωμάτων ή διασπορών [32], [33].

Τα βιοπολυμερή είναι βιοαποικοδομήσιμα φυσικά υλικά, που παρουσιάζουν βιοδιαθεσιμότητα και βιοσυμβατότητα, ενώ παράλληλα έχουν τα απαραίτητα χαρακτηριστικά, όπως τη συγκεκριμένη ιξωδοελαστικότητα, την ηλεκτρική αγωγιμότητα και την επιφανειακή τάση, που τα καθιστούν υλικά ιδανικά για τη μελέτη της κινητικής αποδέσμευσης ουσιών και την παραγωγή ινών με τη μέθοδο του *electrospinning* [34].

Οι νανοΐνες αυτές, βρίσκονται στο επίκεντρο του ενδιαφέροντος λόγω των μοναδικών τους ιδιοτήτων, όπως η πολύ μεγάλη επιφάνεια ανά μονάδα όγκου, η αποτελεσματικότητα στον εγκλεισμό και τα χαρακτηριστικά που τους προσδίδει η ελεγχόμενη αποδέσμευση, το ελάχιστο βάρος, το ρυθμιζόμενο πορώδες και η ευελιξία στο σχεδιασμό για συγκεκριμένες φυσικές και χημικές εφαρμογές. Ακόμη, είναι ιδανικές για την προσομοίωση του βιολογικού περιβάλλοντος, καθώς έχουν μέγεθος της ίδιας τάξης με αυτό των βιολογικών μορίων [35], [5]. Επιπροσθέτως, δύναται να περιέχουν ενεργά συστατικά, τα οποία έχουν πληθώρα χρήσιμων εφαρμογών σε πολλούς διαφορετικούς τομείς [36].

Τα **πλεονεκτήματα της ηλεκτροστατικής ινοποίησης (*electrospinning*)**, έναντι των άλλων τεχνικών εγκλεισμού είναι τα παρακάτω:

- Αποτελεί μία μέθοδο πιο απλή και ευέλικτη με μεγαλύτερη απόδοση εγκλεισμού [29].

- Παράγει πολύ λεπτές ίνες μεγέθους μερικών νανομέτρων με μεγάλη επιφάνεια.
- Υπάρχει η δυνατότητα παραγωγής νανοϊνών σε μεγάλη κλίμακα [22].
- Σε σύγκριση με τη μέθοδο της εκβολής, το διάλυμα δεν θερμαίνεται κατά τη δημιουργία των ινών, με αποτέλεσμα τα όποια φαινόμενα υποβάθμισης των ενεργών συστατικών από τη θερμότητα, να περιορίζονται [37], [38].

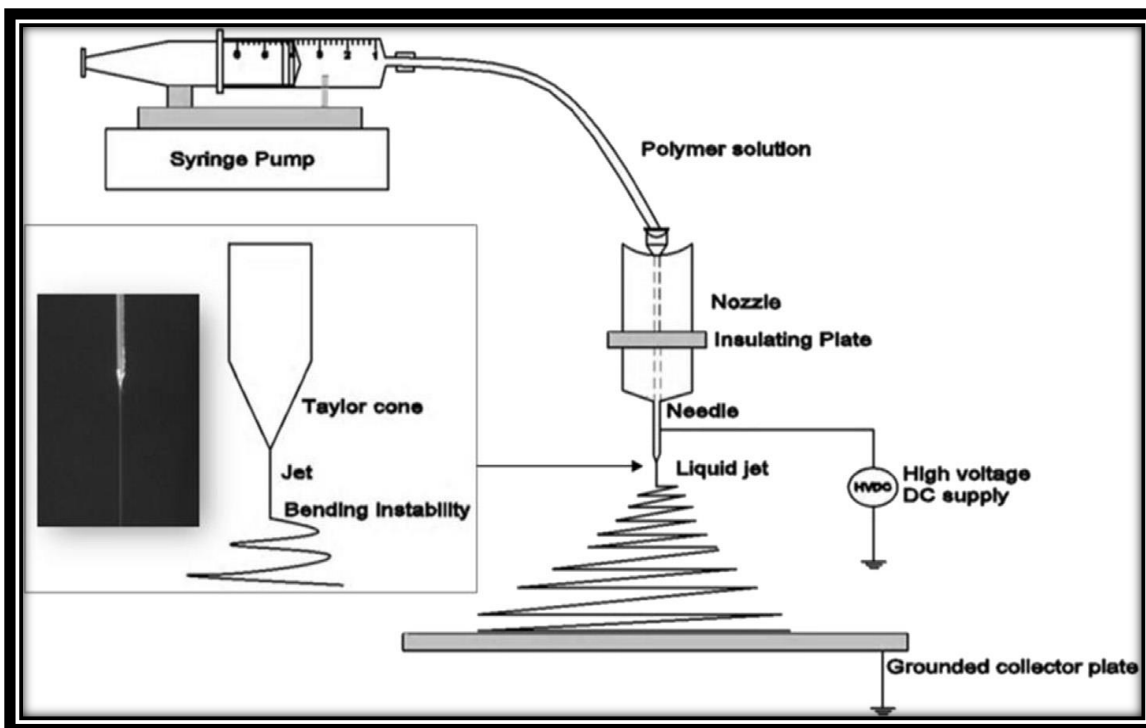
Λόγω του συνεχώς αυξανόμενου ενδιαφέροντος για την νανοτεχνολογία και των μοναδικών τους ιδιοτήτων, οι νανοϊνες που παράγονται με τη μέθοδο της ηλεκτροστατικής ινοποίησης αποτελούν πολλά υποσχόμενους παράγοντες για χρήση σε πληθώρα τομέων, όπως τα καλλυντικά, οι επιστήμες υγείας γενικά και συγκεκριμένα η φαρμακευτική (επιθέματα επούλωσης πληγών, μεταεγχειρητική τοπική χημειοθεραπεία), η βιοτεχνολογία, η κυτταρική μηχανική και η βιοϊατρική, τα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης ουσιών, τα λειτουργικά τρόφιμα, τα υφάσματα, η συσκευασία προϊόντων, η κατάλυση, η μηχανική, το περιβάλλον και οι ενεργειακές εφαρμογές. Οι εφαρμογές αυτές έχουν γίνει, ωστόσο, κατά βάση σε εργαστηριακό επίπεδο. Ως εκ τούτου, η αναγωγή της χρήσης των νανοϊνών από την εργαστηριακή στη βιομηχανική κλίμακα αποτελεί μελλοντική πρόκληση [27], [31], [39].

#### Περιγραφή της διάταξης

Η τυπική κάθετη διάταξη της ηλεκτροστατικής ινοποίησης με μία βελόνα παροχής παρουσιάζεται στην Εικόνα 1. Τα τρία βασικά εξαρτήματά του είναι:

- μία βελόνα από ανοξείδωτο χάλυβα με αμβλύ άκρο ή ένας τριχοειδής σωλήνας,
- μία αντλία, που ο ρόλος της είναι να μετακινεί τη σύριγγα τροφοδοσίας, που περιέχει το προς ινοποίηση διάλυμα,
- ένα τροφοδοτικό – πηγή παροχής υψηλής τάσης και
- ένας γειωμένος συλλέκτης των ινών, που παράγονται.

Αρχικά, το πολυμερικό διάλυμα ή τήγμα τοποθετείται στην σύριγγα. Η βασική αρχή της ηλεκτροστατικής ινοποίησης είναι η εφαρμογή ισχυρού ηλεκτρικού πεδίου. Κατά την διάρκεια της διεργασίας, εφαρμόζεται υψηλή τάση μεταξύ της σύριγγας και του συλλέκτη της ουσίας και το εκάστοτε διάλυμα ή τήγμα, πολυμερούς κατά βάση ουσίας, φορτίζεται ηλεκτρικά. Με την εφαρμογή μεγάλης τάσης (1 έως 30 kV), η σταγόνα του πολυμερούς που βρίσκεται στην άκρη της βελόνας ηλεκτρίζεται σε μεγάλο βαθμό και τα επαγωγικά φορτία κατανέμονται ομοιόμορφα σε όλη την επιφάνειά της. Ακολούθως, λόγω του ηλεκτροστατικού πεδίου, η σταγόνα μετατρέπεται από σφαιρικό σχήμα σε έναν κωνικό σχηματισμό, που ονομάζεται «κώνος Taylor». Όταν η τάση ξεπεράσει μία καθορισμένη για την κάθε ουσία τιμή, η ηλεκτρική δύναμη «υπερνικά» την επιφανειακή τάση της σταγόνας και ανάλογα με την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου από την άκρη της βελόνας εγχύεται ένας πίδακας διαλύματος. Εξαιτίας της αλληλεπίδρασης του πίδακα, του εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου και των δυνάμεων εξώθησης στο εσωτερικό του θαλάμου, ο πίδακας υποβάλλεται σε κάμψη και αποκτά πιο λεπτή μορφή. Καθώς ο πίδακας κινείται προς τον μεταλλικό συλλέκτη στόχο (αντίθετο ηλεκτρόδιο), ο διαλύτης εξατμίζεται και η ταχύτητα που αναπτύσσεται οδηγεί στην εναπόθεση ενός στρώματος πολύ λεπτών πολυμερικών ινών στο συλλέκτη [40].



Εικόνα 1 : Διάταξη της ηλεκτροστατικής ινοποίησης: syringe pump: αντλία της σύριγγας, needle: βελόνα, liquid jet: υγρός πίδακας, high voltage DC supply: παροχή υψηλής τάσης, grounded collector plate: γειωμένος επίπεδος συλλέκτης [16]

Σημειώνεται ότι, στην παραπάνω Εικόνα (Εικόνα 1), παρουσιάζεται η διάταξη για βελόνα, που τοποθετείται κάθετα, αφήνοντας το διάλυμα να στάζει με τη βοήθεια της βαρύτητας, προς τον συλλέκτη που βρίσκεται από κάτω. Σε άλλες διατάξεις, η βελόνα είτε τοποθετείται οριζόντια και η αντλία χρησιμοποιείται για ν' αρχίσει να ρέει το διάλυμα, είτε στρέφεται σε καθορισμένη γωνία, ώστε να ελέγχεται η ροή.

Η μέθοδος της ηλεκτροστατικής ινοποίησης και η δημιουργία των πολυμερικών ινών εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες. Συγκεκριμένα, εξαρτώνται από:

α. τις παραμέτρους, που σχετίζονται με τις ιδιότητες του διαλύματος, όπως η συγκέντρωση, το ιξώδες, το μοριακό βάρος, η επιφανειακή τάση, η φύση του διαλύτη και η αγωγιμότητα και

β. τις παραμέτρους, που σχετίζονται με τη συσκευή π.χ. ρυθμός ροής, ισχύς του επιβαλλόμενου ηλεκτρικού πεδίου, ογκομετρική παροχή του διαλύματος, απόσταση βελόνας – συλλέκτη, θερμοκρασία, υγρασία και ροή αέρα εντός του θαλάμου,

οι οποίες διαμορφώνονται – ρυθμίζονται και επηρεάζουν τις ιδιότητες των ινών, όπως η διάμετρος, η ομοιομορφία, το πορώδες ή ακόμη και τα διάφορα ελαττώματά τους [41], [42].

Ως εκ τούτου, το μέγεθος των νανοϊνών, που παράγονται και επομένως η αναλογία επιφάνειας προς τον όγκο και το πορώδες τους μπορούν να ελεγχθούν μεταβάλλοντας:

- i. τη σύσταση του διαλύματος (αλλάζοντας το είδος του πολυμερούς, τη συγκέντρωσή του ή το είδος του διαλύτη),
- ii. τις ιδιότητες του διαλύματος (μεταβάλλοντας το pH, τη θερμοκρασία και την ιοντική ισχύ),

- iii. τις παραμέτρους της συσκευής της ηλεκτροστατικής ινοποίησης (μεταβάλλοντας την επιβαλλόμενη τάση, την απόσταση πηγής και επιφάνειας συλλογής και την σχετική υγρασία του θαλάμου) [43].

#### Μέθοδοι Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης

Προκειμένου να αυξηθεί η χρησιμότητα της ηλεκτροστατικής ινοποίησης και να υπάρξει μεγαλύτερη προσαρμοστικότητα των εκάστοτε νανοϊνών που παράγονται με την εν λόγω τεχνική, έχει πραγματοποιηθεί πληθώρα προσπαθειών και μελετών σχετικά με την τροποποίηση του εξοπλισμού της συσκευής. Έτσι, έχουν αναπτυχθεί πολλές διαφορετικές μέθοδοι ηλεκτροστατικής ινοποίησης, με αλλαγές είτε στην σύριγγα και τα προς ινοποίηση υγρά, είτε στο συλλέκτη της ουσίας.

Στις μεθόδους ηλεκτροστατικής ινοποίησης, που έχει πραγματοποιηθεί τροποποίηση στη σύριγγα ανήκουν μεταξύ άλλων και: η ομοαξονική ηλεκτροστατική ινοποίηση (coaxial electrospinning), η ηλεκτροστατική ινοποίηση πολλαπλών βελονών (multi – nozzle electrospinning), η ηλεκτροστατική ινοποίηση πολλαπλών στρωμάτων (multilayer electrospinning), η ηλεκτροστατική ινοποίηση ανάμιξης (mixing electrospinning) και η ηλεκτροστατική ινοποίηση πολλαπλών εγχύσεων (multi jet electrospinning). Η ομοαξονική ηλεκτροστατική ινοποίηση δημιουργεί ίνες με δομή πυρήνα – μήτρας. Με την ηλεκτροστατική ινοποίηση πολλαπλών στρωμάτων, δημιουργούνται στρώματα, που αποτελούνται από ίνες διαφορετικού πολυμερούς, ενώ με την ηλεκτροστατική ινοποίηση ανάμιξης, παράγεται στρώμα ινών, που έχουν προκύψει από διαφορετικά μεταξύ τους διαλύματα. Η ηλεκτροστατική ινοποίηση πολλαπλών βελονών και η ηλεκτροστατική ινοποίηση πολλαπλών εγχύσεων, επιτρέπουν την παραγωγή περισσότερων νανοϊνών με καθορισμένη διάμετρο και μορφολογία. Επιπλέον, λειτουργικές νανοϊνες, μπορούν να παραχθούν με ενσωμάτωση λειτουργικών συστατικών ή νανοσωματιδίων στην μήτρα της ίνας [5], [22], [30], [44], [45].

Με την κλασική διάταξη της ηλεκτροστατικής ινοποίησης, οι ίνες συνήθως εναποτίθενται με τυχαίο προσανατολισμό στην επιφάνεια επίπεδου συλλέκτη. Προκειμένου, να διευρυνθούν οι εφαρμογές της μεθόδου και να λαμβάνονται με αυτήν ευθυγραμμισμένες πολυμερικές ίνες, τα τελευταία χρόνια, έχουν πραγματοποιηθεί τροποποιήσεις στο συλλέκτη. Έτσι, έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι ηλεκτροστατικής ινοποίησης, που κάνουν χρήση περιστρεφόμενου κυλινδρικού συλλέκτη των ινών ή συλλέκτη πλαισίου, συλλέκτη με μορφή δίσκου, που μοιάζει με τροχό και συλλέκτη τύπου βοηθητικού ηλεκτροδίου ηλεκτρικού πεδίου [46], [47], [48].

#### 2.4.3.1 Ομοαξονική ηλεκτροστατική ινοποίηση – Coaxial electrospinning

Από τις διάφορες μεθόδους ηλεκτροστατικής ινοποίησης, στην παρούσα διπλωματική εργασία, χρησιμοποιήθηκε αυτή της **ομοαξονικής ηλεκτροστατικής ινοποίησης**.

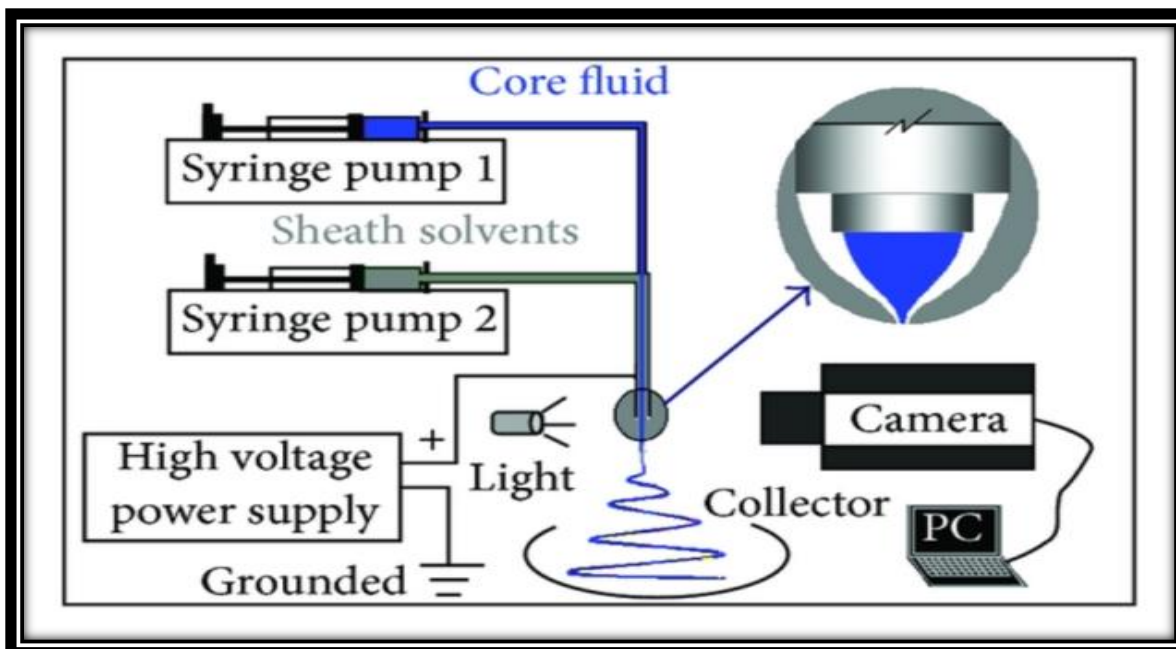
Η **ομοαξονική ηλεκτροστατική ινοποίηση** αποτελεί μία καινούρια, προηγμένη μέθοδο μικροεγκλεισμού και νανοεγκλεισμού. Με τη μέθοδο αυτή, οι διάφορες βιοδραστικές ουσίες δύναται να ενθυλακώνονται σε μία πολυμερική συνήθως μήτρα και έτσι επιτυγχάνεται η ομαλή απελευθέρωσή τους στον επιθυμητό χρόνο [9], [49].

Τα **πλεονεκτήματα της ομοαξονικής ηλεκτροστατικής ινοποίησης**, έναντι άλλων τεχνικών ηλεκτροστατικής ινοποίησης, είναι τα κάτωθι:

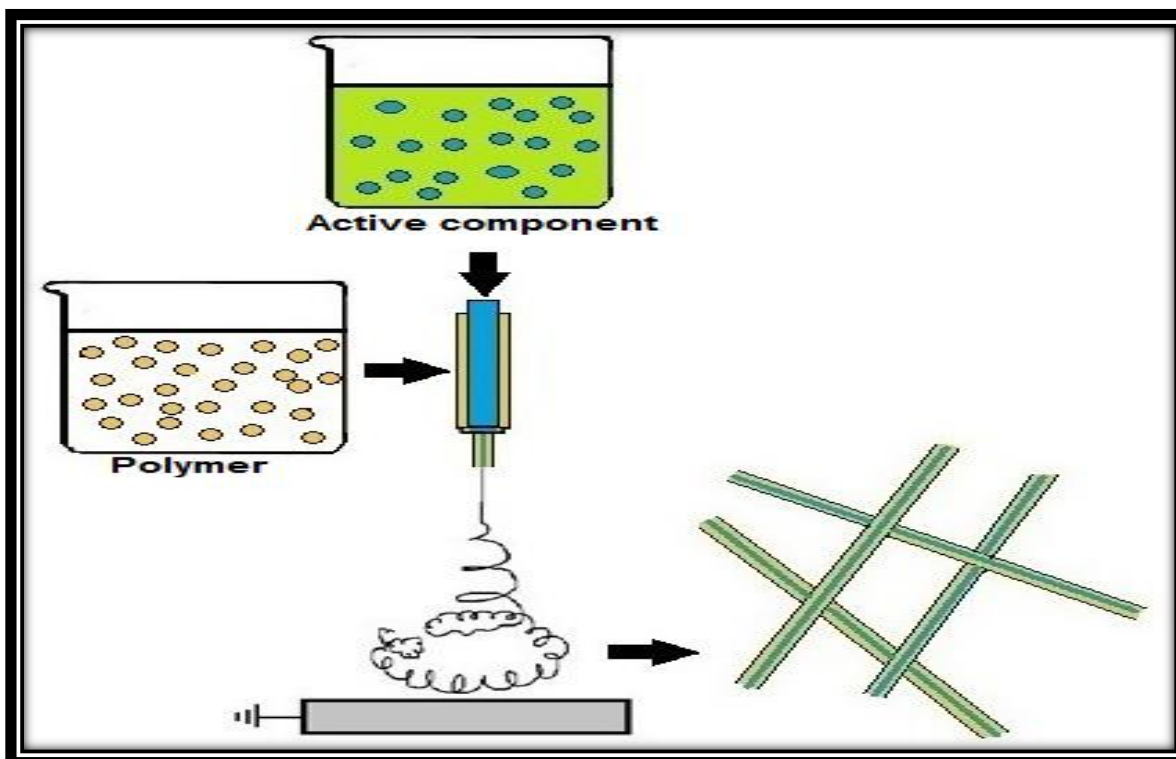
- Η δομή μήτρας – εγκλεισμένης ουσίας συμβάλλει στην προστασία των δραστικών συστατικών από τους εξωτερικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες [9].
- Αποτελεί μία ευέλικτη τεχνική, που επιτρέπει την επιλογή διαφορετικών, αναμίξιμων ή μη ουσιών για τον συνδυασμό μήτρας – εγκλεισμένη ουσία.
- Παρουσιάζει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα εγκλεισμού (μεγαλύτερο ποσοστό εγκλεισμού).
- Είναι αποτελεσματική μέθοδος στον εγκλεισμό υδατοδιαλυτών ουσιών, που δεν μπορούν να σχηματίσουν ίνες με την κλασική τεχνική της ηλεκτροστατικής ινοποίησης [5].
- Προστατεύει τα βιοενεργά συστατικά, από την αλλοίωση κατά την διεξαγωγή της διεργασίας, καθώς το ηλεκτρικό πεδίο που εφαρμόζεται, δημιουργεί μηδαμινές βιολογικές παρενέργειες.
- Επιτρέπει τον έλεγχο του μεγέθους των ινών (ομοιόμορφη κατανομή μεγέθους αυτών).
- Αποτελεί μέθοδο με επαναληψιμότητα.

### Περιγραφή της διάταξης

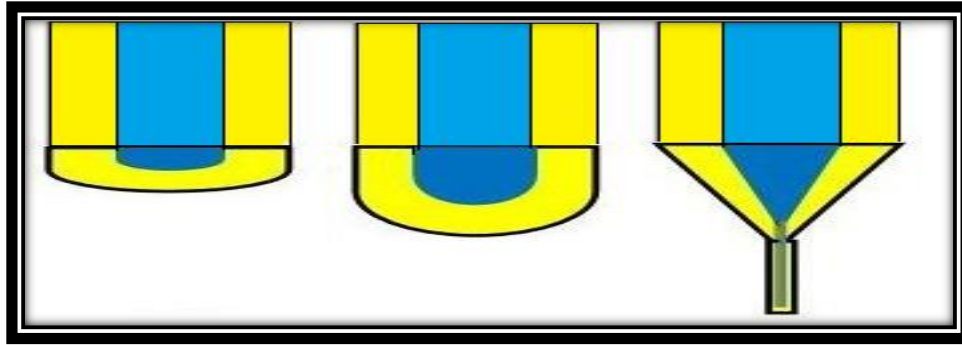
Η Εικόνα 2 παρουσιάζει μία τυπική πειραματική διάταξη της ομοαξονικής ηλεκτροστατικής ινοποίησης. Η εν λόγω μέθοδος, διαφοροποιείται από την κλασική μονοαξονική διαδικασία ηλεκτροστατικής ινοποίησης, καθώς διαθέτει μία διπλή, ομοαξονική, τριχοειδή βελόνα, που εγχύει τα δύο υγρά ανεξάρτητα το ένα από το άλλο, δημιουργώντας δομή μήτρας – πυρήνα. Το βασικό εξάρτημα της διάταξης είναι ένα ομοαξονικό ακροφύσιο που αποτελείται από μία εξωτερική και μία εσωτερική βελόνα. Δύο αναμίξιμα ή μη αναμίξιμα υγρά, διοχετεύονται στην εξωτερική και την εσωτερική βελόνα αντίστοιχα και η ογκομετρική παροχή τους ελέγχεται από δύο αντλίες. Ένας συλλέκτης των παραγόμενων ινών, βρίσκεται απέναντι από το ακροφύσιο σε μία συγκεκριμένη απόσταση. Μεταξύ του ηλεκτροδίου και του ακροφυσίου εφαρμόζεται τάση από 1 έως 30 kV. Υπό την αυξανόμενη ένταση του ηλεκτρικού πεδίου, δημιουργείται ο «κώνος Taylor», στην άκρη του ακροφυσίου και ένας πίδακας υγρού, που δημιουργείται από το εσωτερικό και το εξωτερικό υγρό, εγχύεται απ' αυτό (το ακροφύσιο) και συλλέγεται στον μεταλλικό συλλέκτη (Εικόνες 3 και 4). Μία πηγή φωτός και μία κάμερα, χρησιμοποιούνται συνέχεια, ώστε να ελέγχεται η διαδικασία [9], [49].



Εικόνα 2: Ομοαξονική ηλεκτροστατική ινοποίηση (coaxial electrospinning) : Core fluid: μήτρα, Sheath fluid: εγκλεισμένη ουσία, Syringe Pump 1,2: Σύριγγες 1,2 και οι αντλίες τους, High voltage power supply: Παροχή υψηλής τάσης, Collector: Συλλέκτης ινών, Light: Φωτεινή πηγή, Camera: Κάμερα καταγραφής συνδεδεμένη με υπολογιστή [50]



Εικόνα 3: Σχηματική απεικόνιση της Ομοαξονικής ηλεκτροστατικής ινοποίησης [51]



Εικόνα 4 : Σχηματική απεικόνιση του σχηματισμού δομής μήτρας - εγκλεισμένης ουσίας υπό τη δράση ηλεκτροστατικών δυνάμεων [51]

### Παράμετροι της διεργασίας

Οι πειραματικές παράμετροι της ηλεκτροστατικής ινοποίησης είναι ιδιαίτερα σημαντικές για την κατανόηση της μεθόδου και της διαδικασίας μετατροπής των διαλυμάτων σε νανοϊνές. Οι παράμετροι αυτές μπορούν να χωριστούν στις εξής κατηγορίες:

- Σχετικές με τα διαλύματα που χρησιμοποιούνται παράμετροι,
- σχετικές με τη διεργασία παράμετροι και
- σχετικές με το περιβάλλον του πειράματος παράμετροι.

Οι παράμετροι αυτές επηρεάζουν την μορφολογία των ινών. Ως εκ τούτου, ο σωστός έλεγχος τους, οδηγεί στην δημιουργία νανοϊνών με επιθυμητή μορφολογία.

### Επίδραση των χρησιμοποιούμενων διαλυμάτων στις παραγόμενες νανοϊνές

Οι ιδιότητες των ουσιών, που χρησιμοποιούνται ως εσωτερικό και εξωτερικό ρευστό στην ηλεκτροστατική ινοποίηση επιδρούν σημαντικά στην σταθερότητα του κώνου Taylor και ως εκ τούτου και του εγχυόμενου πίδακα. Οι σημαντικότερες παράμετροι που αφορούν στα χρησιμοποιούμενα υλικά και συντελούν στη διαμόρφωση του εκάστοτε αποτελέσματος της ηλεκτροστατικής ινοποίησης είναι η συγκέντρωση, το μοριακό βάρος, το ιξώδες, η διηλεκτρική σταθερά, η ηλεκτρική αγωγιμότητα και η επιφανειακή / διεπιφανειακή τάση [52]. Αναλυτικότερα:

#### **Συγκέντρωση**

Η συγκέντρωση των υγρών, που χρησιμοποιούνται, επηρεάζει τη διαδικασία του εγκλεισμού με ποικίλους τρόπους. Αρχικά, οι συγκεντρώσεις της μήτρας και της εγκλεισμένης ουσίας διαμορφώνουν το ιξώδες τους (των δύο υγρών), την ηλεκτρική τους αγωγιμότητα και την διεπιφανειακή τους τάση. Εν γένει, η αλλαγή της συγκέντρωσης σε ένα οργανικό διάλυμα μπορεί να επιδράσει σημαντικά στο ιξώδες του, αλλά όχι στην ηλεκτρική του αγωγιμότητα. Αντιθέτως, σε ένα υδατικό ή ανόργανο διάλυμα, η συγκέντρωση των υδατοδιαλυτών συστατικών (και κυρίως των αλάτων) μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την αγωγιμότητα του, αλλά όχι το ιξώδες του. Στις περισσότερες περιπτώσεις, η αλλαγή της συγκέντρωσης του υγρού δεν παρουσιάζει σημαντική επίδραση στην επιφανειακή του τάση.

Ωστόσο, το σημαντικότερο, όσον αφορά στην ηλεκτροστατική ινοποίηση, είναι η επίδραση της συγκέντρωσης των διαλυμάτων στον κώνο Taylor που δημιουργείται και κατ' επέκταση στη διαμόρφωση των νανοϊνών και στο προκύπτον σύστημα εγκλεισμού. Συγκεκριμένα, η

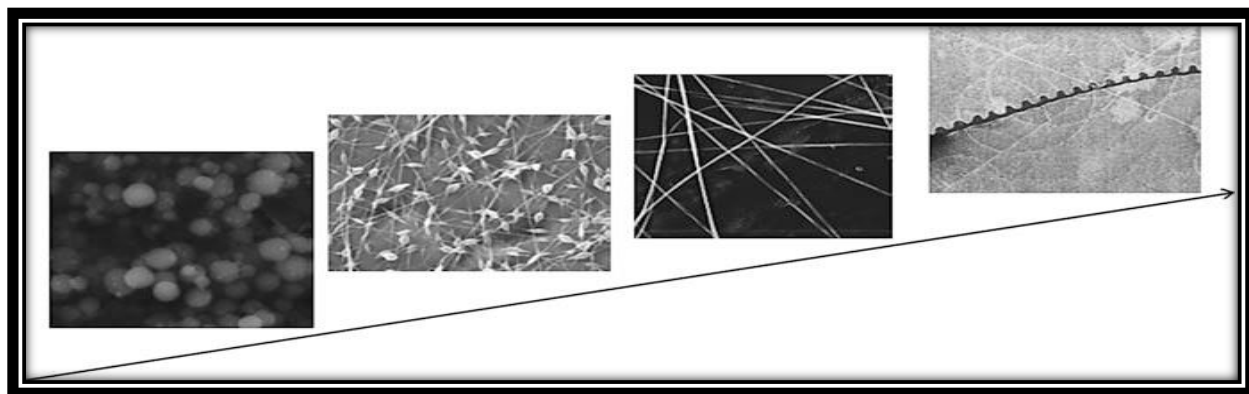


διατήρηση της συγκέντρωσης της μήτρας εντός ενός καθορισμένου εύρους τιμών, συντελεί στη δημιουργία ενός σταθερού συστήματος εγκλεισμού στην ηλεκτροστατική ινοποίηση. Έτσι:

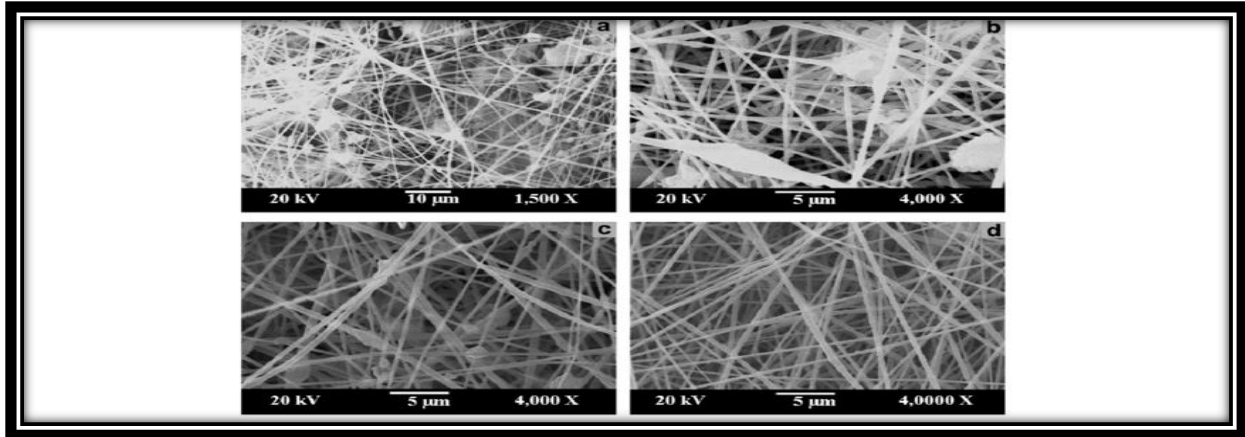
- i. εάν η συγκέντρωση της πολυμερικής μήτρας είναι πολύ χαμηλή, ο εγκλεισμός συντελείται με μεγαλύτερη δυσκολία. Δημιουργούνται μικρο ή νανοσφαιρίδια (electrospraying) αντί για μικρο ή νανοϊνες (electrospinning), εξαιτίας του χαμηλού ιξώδους και της υψηλής επιφανειακής τάσης του διαλύματος,
- ii. εάν η συγκέντρωση είναι λίγο μεγαλύτερη, δημιουργείται ένα μίγμα ινών και ανομοιογενών συσσωματωμάτων (αστοχίες – beads),
- iii. εάν η συγκέντρωση είναι η κατάλληλη θα δημιουργηθεί στρώμα νανοϊνών, ιδανικής μορφολογίας. Κατά κανόνα, δεδομένης της κατάλληλης συγκέντρωσης διαλύματος, όσο αυτή αυξάνεται, αυξάνεται και η διάμετρος των νανοϊνών,
- iv. εάν η συγκέντρωση είναι πολύ μεγάλη, καθίσταται δύσκολη η διαμόρφωση σταθερού κώνου και πίδακα. Δεν παράγονται νανοϊνες, αλλά «ταινίες» ελικοειδούς μορφής [53], [54], [55], [56].

Τέλος, η συγκέντρωση του υγρού επηρεάζει το πάχος της μήτρας, το μέγεθος των παραγομένων ινών ή σωματιδίων και την αναλογία πάχους εγκλεισμένης ουσίας – μήτρας.

Στις παρακάτω Εικόνες 5 και 6, που έχουν προκύψει από ανάλυση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM), παρουσιάζεται η διαφορετική μορφολογία του προϊόντος της ηλεκτροστατικής ινοποίησης, ανάλογα με την εκάστοτε συγκέντρωση για τις περιπτώσεις i – iv και (a) – (d) αντίστοιχα.



Εικόνα 5: Φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM) για πειράματα με διαφορετικές συγκεντρώσεις - Περιπτώσεις συγκέντρωσης i – iv [55]



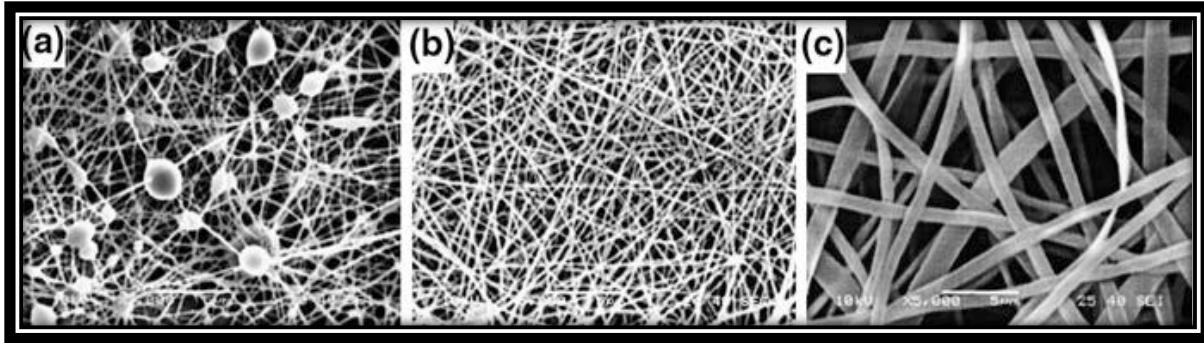
Εικόνα 6: Φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM) νανοϊνών του πολυμερούς PAN με τάση 20 kV και συγκέντρωση πολυμερούς αντίστοιχα: (a): 8 wt%, (b): 10 wt%, (c): 12 wt%, (d): 14 wt% [40]

### **Μοριακό βάρος**

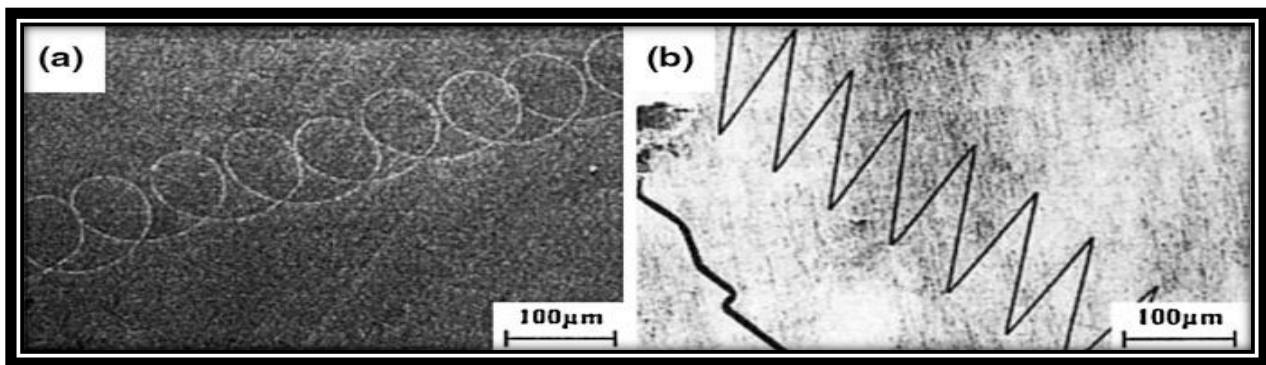
Το μοριακό βάρος των χρησιμοποιούμενων ουσιών, έχει επίσης σημαντική επίδραση στην μορφολογία των παραγόμενων νανοϊνών. Κατά κανόνα, το μοριακό βάρος επιδρά στο ιξώδες των διαλυμάτων, δηλαδή στον διακλαδισμό των (πολυμερικών) αλυσίδων τους. Αναλυτικότερα :

- Η χρήση ουσιών χαμηλού μοριακού βάρους, οδηγεί στη δημιουργία ανομοιογενών συσσωματωμάτων (αστοχίες - beads) και όχι ινών ιδανικής μορφολογίας.
- Η χρήση ουσιών μεγαλύτερου μοριακού βάρους, οδηγεί στη δημιουργία νανοϊνών ιδανικής μορφολογίας. Συνήθως, στην ηλεκτροστατική ινοποίηση χρησιμοποιούνται πολυμερή υψηλού μοριακού βάρους, καθώς συμβάλλουν στη δημιουργία ιδανικών επικαλύψεων και εμπλοκών (entanglements), που παίζουν καθοριστικό ρόλο στην παραγωγή, ομοιόμορφων νανοϊνών χωρίς ανομοιογένειες και αστοχίες (bead-free). Η δημιουργία ινών από μόρια χαμηλού μοριακού βάρους, αποτελεί μεγάλη πρόκληση [29].
- Η χρήση ουσιών πολύ μεγάλου μοριακού βάρους, θα οδηγήσει στη δημιουργία μικροταινιών – ελικοειδών ινών και όχι νανοϊνών, εκτός κι αν η συγκέντρωση των χρησιμοποιούμενων διαλυμάτων είναι χαμηλή.

Ωστόσο, το μοριακό βάρος δεν είναι πάντα καθοριστικός παράγοντας των αποτελεσμάτων της ηλεκτροστατικής ινοποίησης. Υπάρχουν και oligομερή, που παρουσιάζουν επαρκείς διαμοριακές αλληλεπιδράσεις [29], [57], [58]. Στις Εικόνες 7 και 8, παρουσιάζονται οι παραγόμενες δομές για διαφορετικά μοριακά βάρη των ουσιών.



Εικόνα 7: Προκύπτουσα δομή ινών καθορισμένης συγκέντρωσης για διαφορετικά μοριακά βάρη - (a) MB: 9.000–10.000 g/mol, (b) MB: 13.000–23.000 g/mol, (c) MB: 31.000–50.000 g/mol [57]



Εικόνα 8: Φωτογραφίες SEM για ελικοειδείς μικροτανίες - MB:  $9 \times 10^6$  g/mol [58]

### Ιξώδες

Το ιξώδες των διαλυμάτων, που χρησιμοποιούνται στην ηλεκτροστατική ινοποίηση είναι από τους πιο κρίσιμους παράγοντες καθορισμού της μορφολογίας των ινών. Κατά βάση το ιξώδες των διαλυμάτων μπορεί να ρυθμιστεί με ρύθμιση της συγκέντρωσης του (πολυμερικού) διαλύματος, που χρησιμοποιείται ως μήτρα. Άλλωστε, το ιξώδες, η συγκέντρωση του πολυμερούς που χρησιμοποιείται και το μοριακό βάρος τους είναι ιδιότητες αλληλένδετες. Συγκεκριμένα, :

- όταν το ιξώδες είναι πολύ χαμηλό, βασικότερος παράγοντας είναι η επιφανειακή τάση, που οδηγεί στην παραγωγή ασυνεχών νανοϊνών και μορφολογιών με ανομοιογένειες και συσσωματώματα (αστοχίες – beads),
- όταν το ιξώδες είναι μεγαλύτερο προκύπτουν ιδανικές νανοΐνες και
- όταν το ιξώδες είναι πολύ μεγάλο παρατηρείται βίαιη έγχυση από το ακροφύσιο [59], [60].

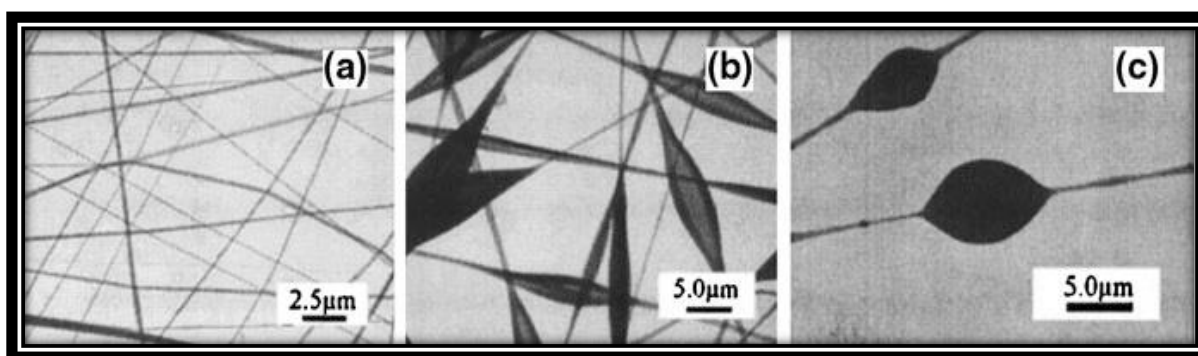
Κατά τη διεργασία της ομοαξονικής ηλεκτροστατικής ινοποίησης, η μήτρα μεταφέρει την ηλεκτρική καταπόνηση λόγω του ιξώδους της, οδηγώντας το μεγαλύτερο μέρος του υγρού σε σχηματισμό σταθερού κώνου Taylor και ως εκ τούτου σε σταθερή έγχυση πίδακα. Στην περίπτωση της εσωτερικής ροής οδήγησης, το ηλεκτρικό φορτίο διανέμεται στην διαχωριστική επιφάνεια των δύο ρευστών (μήτρας και εγκλεισμένης ουσίας). Εδώ, το ιξώδες δεν παίζει σημαντικό ρόλο στην έκβαση της διαδικασίας. Ωστόσο, στην περίπτωση της εξωτερικής ροής οδήγησης, το ηλεκτρικό φορτίο διανέμεται στην εξωτερική επιφάνεια του πίδακα και η

ηλεκτρική δύναμη εφαρμόζεται κυρίως στο εξωτερικό υγρό. Προκειμένου να δημιουργηθεί ένας ομόκεντρος διστρωματικός πίδακας, το ιξώδες της μήτρας πρέπει να βρίσκεται εντός ενός συγκεκριμένου εύρους τιμών, ώστε να μεταφέρει αποτελεσματικά την ηλεκτρική καταπόνηση στο εσωτερικό υγρό και από εκεί στο σύνολο του υγρού με ιξώδη διάχυση (viscous diffusion). Ωστόσο, στην περίπτωση που το εξωτερικό υγρό δεν είναι αρκούντως ιξώδες, δημιουργούνται δύνες (recirculations) στην άκρη του ακροφυσίου, που αποτρέπουν το σχηματισμό ενός σταθερού κώνου (και την επακόλουθη σταθερή έγχυση πίδακα υγρού). Από την άλλη αν το ιξώδες της μήτρας είναι πολύ μεγάλο, απαιτείται μεγάλο ηλεκτρικό πεδίο, ικανό να «υπερνηκίσει» το ιξώδες και να ωθήσει το υγρό στο να δημιουργήσει έναν σταθερό κώνο. Ένα σημείο στο πάνω μέρος του κώνου Taylor ονομάζεται «σημείο επιτάχυνσης», καθώς σε εκείνο το σημείο το εσωτερικό υγρό αρχίζει να επιταχύνεται από τη δύναμη του πεδίου που το έλκει. Η απόσταση μεταξύ του «σημείου επιτάχυνσης» και της κορυφής του κώνου Taylor ονομάζεται «απόσταση επιτάχυνσης». Όσο μεγαλύτερη είναι η «απόσταση επιτάχυνσης, τόσο πιο σταθερός είναι ο κώνος που προκύπτει.

Σημειώνεται, τέλος ότι το ιξώδες του διαλύματος μπορεί να ρυθμιστεί με την προσθήκη χημικών ουσιών, αναμίξιμων με τον διαλύτη [61].

### **Επιφανειακή τάση**

Η επιφανειακή τάση είναι άλλος ένας σημαντικός παράγοντας της ηλεκτροστατικής ινοποίησης, καθώς καθορίζει την ιδανική συγκέντρωση και το είδος του διαλύτη του διαλύματος. Η επιφανειακή τάση του εκάστοτε διαλύτη είναι διαφορετική. Γενικά, όταν η συγκέντρωση παραμένει σταθερή, με μείωση της επιφανειακής τάσης, οι ανομοιογενείς με συσσωματώματα νανοϊνες, μετατρέπονται σε συνεχείς, ομαλές ίνες [55], [62]. Στην Εικόνα 9, παρουσιάζεται η επίδραση της επιφανειακής τάσης διαφορετικών διαλυτών σε ουσία καθορισμένης συγκέντρωσης.



Εικόνα 9: Φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου διέλευσης (TEM) νανοϊνών διαλύματος PVP, συγκέντρωσης 4 wt% με διαλύτες : (a)αιθανόλη (b)MC (c)DMF [55]

### **Διηλεκτρική σταθερά και ηλεκτρική αγωγιμότητα**

Η διηλεκτρική σταθερά (ή επιτρεπτότητα) αντιπροσωπεύει την ικανότητα του υλικού να συγκεντρώνει ηλεκτρική ροή. Υπολογίζεται από το λόγο της χωρητικότητας ενός πυκνωτή, που γεμίζει από το δεδομένο υλικό προς την χωρητικότητα ενός πανομοιότυπου πυκνωτή σε κενό. Η ηλεκτρική αγωγιμότητα  $K$  εκφράζει την ικανότητα του υλικού να «φιλοξενήσει» το ηλεκτρικό φορτίο. Υπολογίζεται από το λόγο της πυκνότητας ρεύματος προς την πυκνότητα του

ηλεκτρικού πεδίου. Η ηλεκτρική αγωγιμότητα ενός διαλύματος καθορίζεται κατά βάση από το είδος του διαλύματος, τον τύπο του διαλύτη και την παρουσία άλατος. Ο ηλεκτρικός χρόνος χαλάρωσης  $t_e$  ορίζεται ως συνάρτηση της διηλεκτρικής σταθεράς και της ηλεκτρικής αγωγιμότητας  $t_e = \epsilon_0 / K$ , όπου  $\epsilon_0$  είναι η διηλεκτρική σταθερά του κενού.

Στην Ομοαξονική Ηλεκτροστατική Ινοποίηση (coaxial electrospinning), τόσο η μήτρα όσο και η εγκλεισμένη ουσία υποβάλλονται σε αυξανόμενο ηλεκτρικό πεδίο. Οι ηλεκτρικές ιδιότητες υποδεικνύουν τις επιβαλλόμενες ηλεκτροδυναμικές τάσεις. Συνήθως το υγρό με τον μικρότερο χρόνο χαλάρωσης θεωρείται το «κυρίαρχο» ρευστό, που οδηγεί τα δύο ρευστά στη δημιουργία σταθερού κώνου Taylor [63].

Το κυρίαρχο αυτό ρευστό μεταφέρει την ηλεκτρική τάση στο άλλο ρευστό μέσω του ιξώδους. Στην περίπτωση της εξωτερικής ροής οδήγησης, το ηλεκτρικό φορτίο συσσωρεύεται ως επί το πλείστον στο εξωτερικό της μήτρας, στην περίπτωση της εσωτερικής ροής οδήγησης το ηλεκτρικό φορτίο συσσωρεύεται ως επί το πλείστον στην επιφάνεια μεταξύ της μήτρας και της εγκλεισμένης ουσίας. Η ηλεκτρική αγωγιμότητα του εσωτερικού υγρού μπορεί να ρυθμίζεται, ώστε να επιτευχθεί η σταθερότητα του κώνου. Φυσικά, η θεωρία του «κυρίαρχου» ρευστού είναι σημαντική μόνο για την περίπτωση μη αναμίξιμων υγρών. Είναι πολύ ευκολότερο να επιτευχθεί η σταθερότητα του κώνου στην περίπτωση που τα δύο υγρά (η μήτρα και η εγκλεισμένη ουσία) είναι μερικώς ή ολικώς αναμίξιμα.

Προφανώς, η ηλεκτρική αγωγιμότητα των διαλυμάτων μπορεί να αυξηθεί με χρήση ιοντικών αλάτων, όπως τα  $\text{NaCl}$  και  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Μπορεί επίσης να αυξηθεί με χρήση οργανικών οξέων ως διαλύτες. Πιο συγκεκριμένα:

- Με τη χρήση ιοντικών αλάτων (και την επακόλουθη αύξηση της αγωγιμότητας των διαλυμάτων) στο πολυμερικό διάλυμα, παράγονται λεπτότερες νανοϊνες, χωρίς μορφολογίες ανομοιογενών συσσωματωμάτων (αστοχίες – beads), με μικρή διάμετρο, μεταξύ 200 και 1000 nm [64], [65],
- τα περισσότερα πολυμερικά διαλύματα παρουσιάζουν μικρή αγωγιμότητα, με εξαίρεση μερικά, που περιέχουν διηλεκτρικά υλικά και φορτισμένα ιόντα, τα οποία (πολυμερικά διαλύματα) δημιουργούν πολύ ευκολότερα ευθυγραμμισμένες ίνες [40].

#### Επίδραση των παραμέτρων της διεργασίας στις παραγόμενες νανοϊνες

Η επιβαλλόμενη τάση και η ογκομετρική παροχή αποτελούν τις δύο σημαντικότερες παραμέτρους, που σχετίζονται με το μέγεθος της δημιουργούμενης σταγόνας, με την σταθερότητα του κώνου, από τον οποίο εγχύεται ο πίδακας, με το πάχος των δημιουργούμενων ινών και με άλλα σχετικά με την απόδοση της διεργασίας χαρακτηριστικά. Σημαντικό ρόλο, ωστόσο, στα παραπάνω χαρακτηριστικά παίζει και η απόσταση του ακροφυσίου από τον συλλέκτη των ινών.

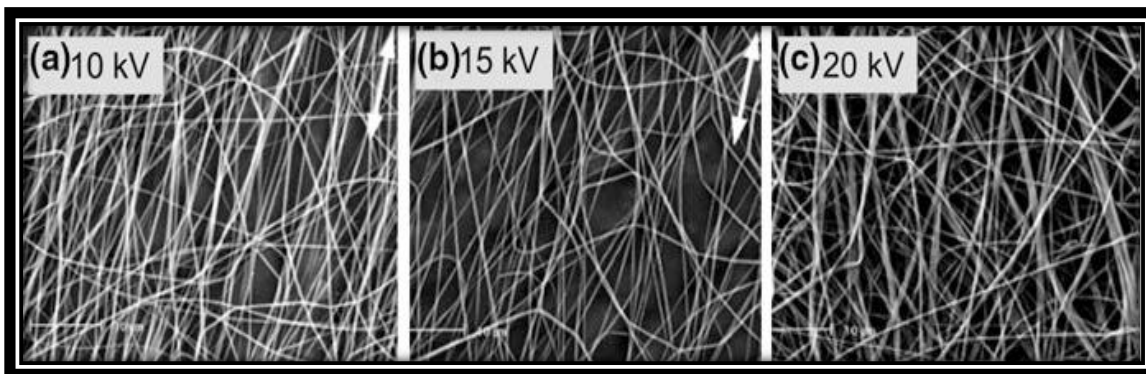
#### **Επιβαλλόμενη τάση**

Η επιβαλλόμενη τάση στην ηλεκτροστατική ινοποίηση είναι από τις κρισιμότερες παραμέτρους. Με την σταδιακή αύξηση της επιβαλλόμενης τάσης μπορούν να παρατηρηθούν κατά σειρά οι εξής σχηματισμοί στην άκρη του ακροφυσίου:

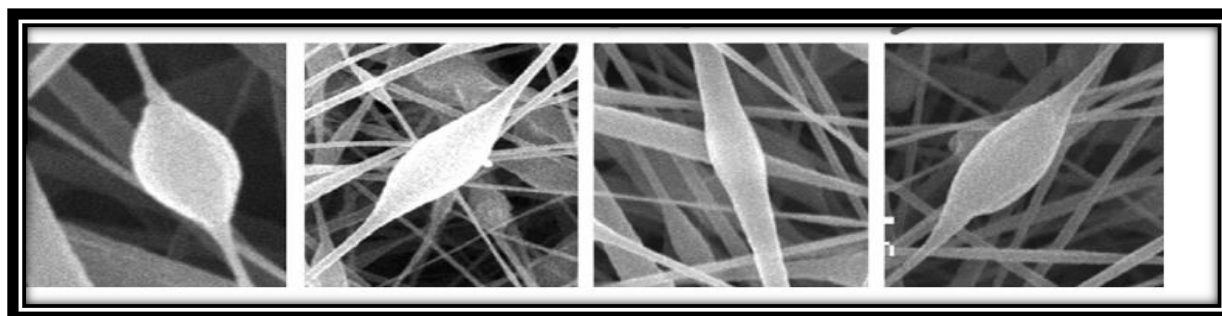
- i. σταδιακό στάξιμο υγρού
- ii. στάξιμο υγρού με τάση για δημιουργία κώνου

- iii. δημιουργία σταθερής σταγόνας στο ακροφύσιο
- iv. δημιουργία κώνου Taylor
- v. έγχυση μικρού, ασταθούς πίδακα από κώνο Taylor και
- vi. συνεχόμενη έγχυση πίδακα από τον κώνο Taylor.

Κατά τη συνεχόμενη έγχυση πίδακα, ο κώνος Taylor, που δημιουργείται από τη μήτρα και την εγκλεισμένη ουσία έχει συνήθως συμμετρικό σχήμα και από την άκρη του εκτοξεύεται ο επιθυμητός συνδυασμός ουσιών. Αναλόγως με τις ιδιότητες και την ογκομετρική παροχή μήτρας και εγκλεισμένης ουσίας ο κώνος, που εγχύει το προϊόν, διατηρείται σταθερός μόνο σε ορισμένο εύρος επιβαλλόμενης τάσης. Στο εύρος αυτό, το μέγεθος των σχηματιζόμενων σταγόνων, που έπειτα γίνονται ίνες μειώνεται όσο αυξάνεται η επιβαλλόμενη τάση. Στις Εικόνες 10 και 11, παρουσιάζονται οι διαφορές στη μορφολογία των προκύπτουσων νανοϊνών για διαφορετική επιβαλλόμενη τάση.



Εικόνα 10: Φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM) διαλύματος PSF συγκέντρωσης 20% για διαφορετική επιβαλλόμενη τάση σε κάθε περίπτωση [66]



Εικόνα 11: Επίδραση της επιβαλλόμενης τάσης στη μορφολογία ανομοιογενών συσσωματωμάτων νανοϊνών του πολυμερούς PAN. Η τάση αυξάνεται αντίστοιχα από αριστερά προς τα δεξιά [40]

Ωστόσο, η επίδραση της επιβαλλόμενης τάσης στη διάμετρο των νανοϊνών είναι σχετικά αμφιλεγόμενη. Έτσι, μπορεί η επιβαλλόμενη τάση να επηρεάζει τη διάμετρο των ινών, αλλά το ποσοστό επιρροής της εξαρτάται από τη συγκέντρωση του πολυμερικού διαλύματος και την απόσταση μεταξύ του ακροφυσίου και του συλλέκτη [53],[67], [68].

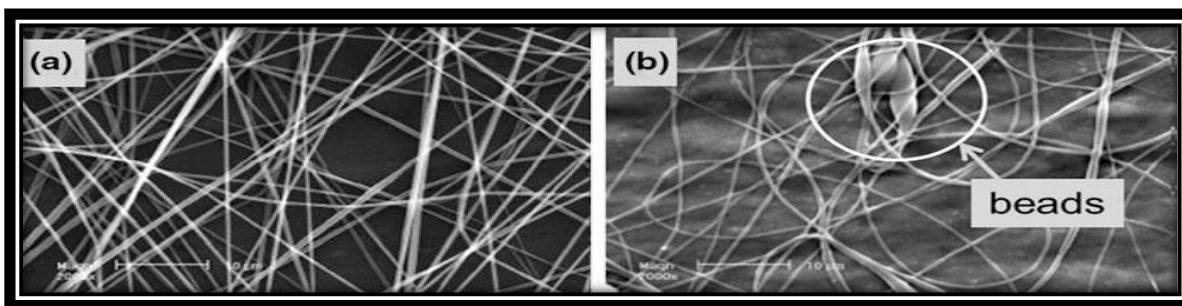
### **Ογκομετρική παροχή**

Εκτός από την επιβαλλόμενη τάση, η ογκομετρική παροχή της μήτρας και της εγκλεισμένης ουσίας, που βρίσκονται μέσα στις σύριγγες, παίζουν επίσης πολύ σημαντικό ρόλο στο μέγεθος

της σταγόνας που δημιουργείται, στη σταθερότητα του κώνου και σε αυτήν του πίδακα. Για να επιτευχθεί η σταθερότητα του κώνου και να δημιουργηθούν ίνες με σταθερή δομή, υπάρχουν συγκεκριμένοι συνδυασμοί παροχής των δύο ρευστών. Έτσι, :

- αύξηση της εσωτερικής ογκομετρικής παροχής και μείωση της εξωτερικής, οδηγεί στην αύξηση του εύρους τιμών της επιβαλλόμενης τάσης,
- με μείωση της παροχής μειώνεται το μέγεθος της σταγόνας, γεγονός που εξηγείται από το ότι χρειάζεται λιγότερη ηλεκτρική ενέργεια για να υπερνικήσει τις υδροδυναμικές τάσεις που αναπτύσσονται σε χαμηλότερες ροές των ρευστών,
- πολύ υψηλή ογκομετρική παροχή, οδηγεί στην δημιουργία μορφολογιών με ανομοιογενή συσσωματώματα (αστοχίες – beads), με μεγάλες διαμέτρους, λόγω του μικρού χρόνου εξάτμισης του διαλύτη μέχρι να φτάσει η ουσία το συλλέκτη και των μικρών δυνάμεων παραμόρφωσης. Γενικά, ενδείκνυται η χρήση σχετικά μειωμένης ογκομετρικής παροχής, ώστε το πολυμερικό διάλυμα να διαθέτει επαρκή χρόνο για να πολωθεί [61], [69].

Στην Εικόνα 12, παρουσιάζεται η διαφορετική μορφολογία των ινών για διαφορετική ογκομετρική παροχή.



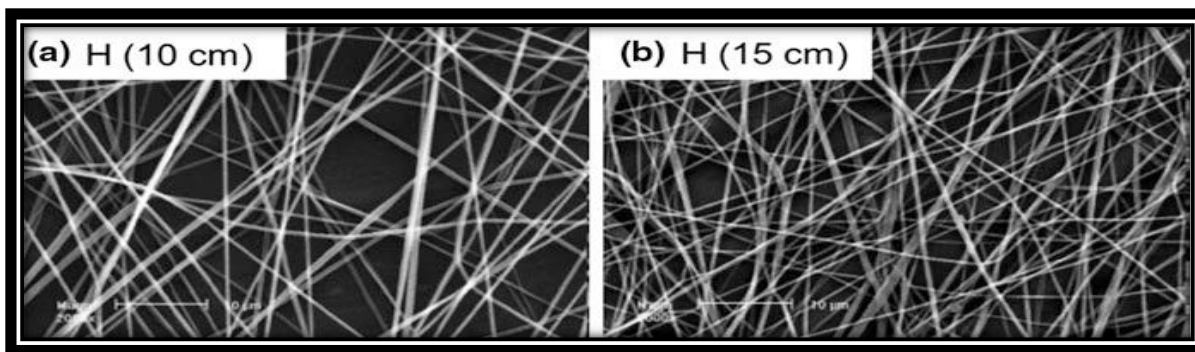
Εικόνα 12: Φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM) νανοϊνών συγκέντρωσης 20%, με επιβαλλόμενη τάση 10 kV. Η ογκομετρική παροχή στην Εικόνα (b) είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτήν στην (a), γι' αυτό παρατηρούνται διαμορφώσεις ανομοιογενών συσσωματωμάτων (αστοχίες - beads) [66]

#### **Απόσταση μεταξύ του ακροφυσίου και του συλλέκτη**

Έχει βρεθεί ότι η απόσταση μεταξύ του ακροφυσίου και του συλλέκτη μπορεί επίσης να επηρεάζει τη μορφολογία των ινών και τη διάμετρό τους [60]. Συγκεκριμένα, :

- όταν η απόσταση του ακροφυσίου και του συλλέκτη είναι πολύ μικρή, ο χρόνος δεν επαρκεί, ώστε οι ίνες να στερεοποιηθούν πριν φτάσουν το στόχο (συλλέκτη),
- όταν η απόσταση είναι πολύ μεγάλη, παρατηρούνται διαμορφώσεις ανομοιογενών συσσωματωμάτων (αστοχίες – beads),
- η ιδανική απόσταση είναι απαραίτητη, καθώς η εξάτμιση του διαλύτη, που σχετίζεται άμεσα με αυτήν, αποτελεί καθοριστικό παράγοντα στη διαμόρφωση των επιθυμητών ινών [66].

Στην Εικόνα 13, παρουσιάζεται η διαφορετική μορφολογία των νανοϊνών για διαφορετική κάθε φορά απόσταση του ακροφυσίου από το συλλέκτη.

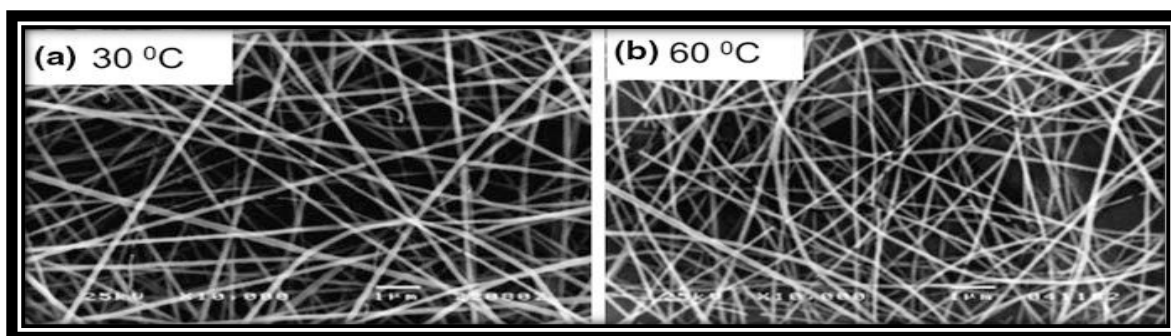


Εικόνα 13: Φωτογραφίες SEM για διαφορετικές αποστάσεις του ακροφυσίου από το συλλέκτη - (a) Απόσταση: 10 cm - Διάμετρος ινών:  $438 \pm 72$  nm, (b) Απόσταση: 15 cm - Διάμετρος ινών:  $368 \pm 79$  nm [66]

### Επίδραση του περιβάλλοντος του πειράματος στις παραγόμενες νανοΐνες

Οι περιβαλλοντικές συνθήκες εντός του θαλάμου ινοποίησης, όπως η θερμοκρασία, η υγρασία και η ταχύτητα του αέρα, μπορεί επίσης να επηρεάσουν τη διάμετρο των ινών και τη μορφολογία τους, ενώ ελέγχουν σε μεγάλο βαθμό την εξάτμιση του διαλύτη [70], [16]. Κάποιες φορές, ακόμη και το υλικό από το οποίο έχει κατασκευαστεί ο συλλέκτης, μπορεί να επηρεάζει τη μορφολογία των παραγόμενων νανοϊνών [16].

Όσον αφορά στη θερμοκρασία, η αυξημένη θερμοκρασία ευνοεί τη δημιουργία περισσότερο δαιδαλώδους συστήματος λεπτότερων νανοϊνών. Στην Εικόνα 14, παρουσιάζεται η διαφορά της μορφολογίας των νανοϊνών για διαφορετικές θερμοκρασίες.



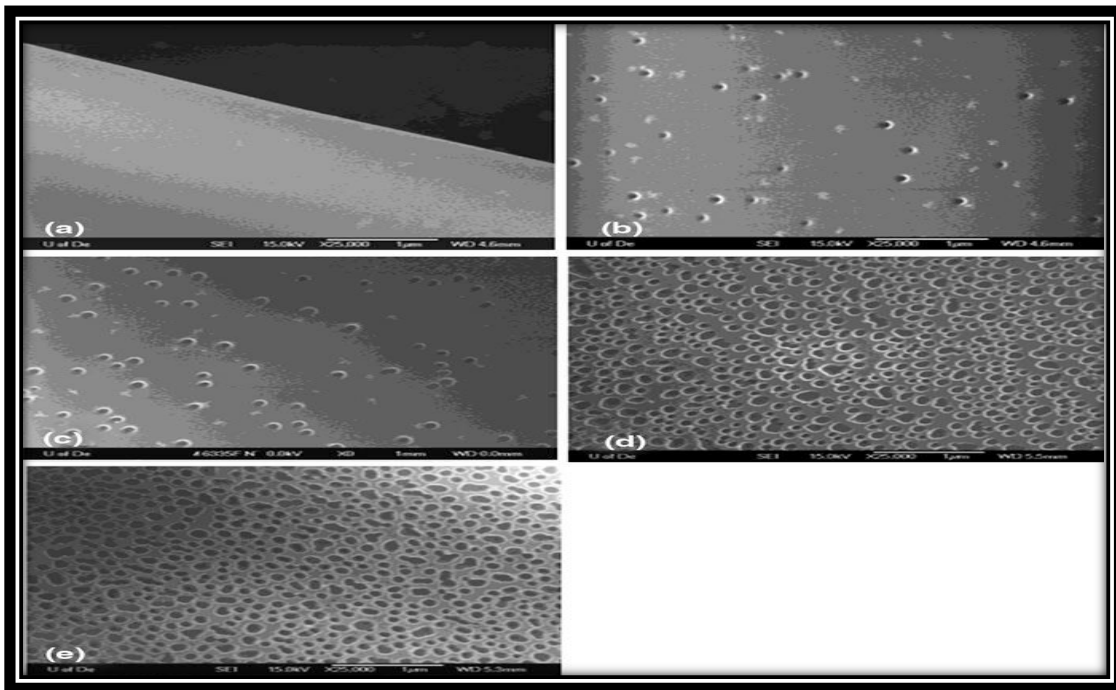
Εικόνα 14: Φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM) για νανοΐνες σε διαφορετικές θερμοκρασίες - (a) Θερμοκρασία: 30 °C - Διάμετρος ινών: 98 nm (b) Θερμοκρασία: 60 °C - Διάμετρος ινών: 90 nm

Όσον αφορά στην υγρασία:

- Η απουσία υγρασίας ή η ελάχιστη υγρασία στο θάλαμο της ηλεκτροστατικής ινοποίησης, μπορεί να αυξήσει την ταχύτητα εξάτμισης του διαλύτη και να οδηγήσει στην ολική του εξάτμιση.
- Η υψηλή υγρασία ενδέχεται να μειώσει τις επιβαλλόμενες στον πίδακα τάσεις, γεγονός που οδηγεί στη διαμόρφωση ασυνεχών ινών μεγάλης διαμέτρου [71], [72].
- Ιδανικά, η υγρασία εντός του θαλάμου, πρέπει να είναι λιγότερη από 35% [73].



Στην Εικόνα 15, παρουσιάζονται οι διαφορές των προκυπτουσών νανοϊνών, για διαφορετική υγρασία στον θάλαμο της ηλεκτροστατικής ινοποίησης.



Εικόνα 15: Φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM) της επιφανειακής μορφολογίας νανοϊνών του πολυμερούς PS για υγρασία θαλάμου: (a) <math>< 25\%</math>, (b) 31–38 %, (c) 40–45 %, (d) 50–59 %, (e) 60–72 %

Συμπερασματικά, μολονότι η μέθοδος της Ομοαξονικής Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης, αποτελεί μία πολλά υποσχόμενη μέθοδο με προοπτικές, απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση της τεχνολογίας της προκειμένου να αναπτυχθεί. Σε πειραματικό επίπεδο οι περισσότερες έρευνες και τα πειράματα, που έχουν γίνει για τη μέθοδο της Ομοαξονικής Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης, βασίζονται στην εμπειρία των εκάστοτε πειραματιστών, σε συγκεκριμένους συνδυασμούς υλικών και σε εμπειρική επιλογή των παραμέτρων της διεργασίας. Η αξιόπιστη και επαναλήψιμη κατασκευή νανοϊνών με την εν λόγω τεχνική, δυσχεραίνεται λόγω της έλλειψης ενός συστηματικού τρόπου ελέγχου της διαδικασίας και τυποποιημένων πρωτοκόλλων. Επιπλέον, η μαζική παραγωγή νανοϊνών παρεμποδίζεται λόγω του ότι δεν έχει βρεθεί κάποια αρκετά αποτελεσματική μέθοδος συλλογής της παραγόμενης ουσίας από τον συλλέκτη, ούτε έχει σχεδιασθεί ένα αρκετά παραγωγικό ακροφύσιο.

Μελλοντικά, απαιτείται η διεξαγωγή ενδεδειγμένων πειραματικών, θεωρητικών και αριθμητικών μελετών, προκειμένου να κατανοηθεί καλύτερα η φύση της εν λόγω μεθόδου και να προκύψουν ποσοτικά στοιχεία για τον έλεγχο της διεργασίας [74].

## 2.5 Σύγχρονες τάσεις στα καλλυντικά προϊόντα

Η δημιουργία ακόμη πιο καινοτόμων προϊόντων, αποτελεί την σύγχρονη πρόκληση της βιομηχανίας καλλυντικών. Τα καλλυντικά προϊόντα, σε αντίθεση με τα φαρμακευτικά σκευάσματα, στοχεύουν στην διείσδυση στην άμεση επιφάνεια (immediate surface) του δέρματος [75], [76].

Οι επιστήμονες, προκειμένου να αποφευχθεί η αλόγιστη χρήση χημικών συστατικών στα καλλυντικά, που έχουν συχνά επιβλαβείς συνέπειες για την ανθρώπινη υγεία, ανέτρεξαν στην αναζήτηση εναλλακτικών λύσεων [77].

Έτσι, μία σύγχρονη τάση στη βιομηχανία συντήρησης των καλλυντικών αποτελεί η αντικατάσταση των κλασικών χημικών συστατικών από φυσικά, που είναι σαφώς ασφαλέστερη, αλλά και αποτελεσματική ενάντια στους μικροοργανισμούς. Η ενέργεια αυτή, εκτός της μείωσης ή ακόμη και της ελαχιστοποίησης της χρήσης των κλασικών χημικών συντηρητικών στοχεύει και στη δημιουργία καλλυντικών με βελτιωμένες δερμοκαλλυντικές ιδιότητες [78], [79].

Τα φυσικά ή φυτικά αυτά εκχυλίσματα και τα προϊόντα που προκύπτουν από αυτά έχουν ενσωματωθεί συχνά σε μορφή γαλακτώματος σε φαρμακευτικά και καλλυντικά σκευάσματα καθώς παρουσιάζουν πληθώρα ευεργετικών και θεραπευτικών ιδιοτήτων. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα των οργανικών καλλυντικών, έναντι των συμβατικών, είναι ότι είναι προϊόντα ασφαλή τόσο για τον άνθρωπο όσο και για το περιβάλλον, καθώς δεν περιέχουν τοξικά χημικά και δεν απαιτούν πειράματα σε ζώα, ενώ η αποτελεσματικότητά τους είναι εξίσου ικανοποιητική με αυτή των συμβατικών φαρμάκων [80].

Τα φυσικά προϊόντα, πρέπει να πληρούν τις διεθνείς προδιαγραφές ποιότητας και ασφάλειας. Το καθοριστικό βήμα για την επίτευξη του στόχου αυτού αποτελεί η ενδελεχής μελέτη με σκοπό την πρόβλεψη των φυσικών, φυσικοχημικών, χημικών και μικροβιολογικών αλλαγών, που μπορεί να προκύψουν από την παραγωγή του προϊόντος μέχρι την λήξη αυτού [77], [81], [82].

Η μικροβιακή μόλυνση, αρχικά, μπορεί να καταστρέψει τη φύση των καλλυντικών και να δημιουργήσει μόλυνση του δέρματος. Τα καλλυντικά, μετά το άνοιγμα έχουν περισσότερες πιθανότητες μικροβιακής μόλυνσης, καθώς η χρήση τους από τον καταναλωτή μπορεί να είναι λανθασμένη [83]. Φυσικά, τα καλλυντικά προϊόντα δεν αναμένεται να είναι ασηπτικά, καθώς παρασκευάζονται από πρώτες ύλες, που δεν έχουν αποστειρωθεί. Εντούτοις, πρέπει σαφώς να μην περιέχουν παθογόνους μικροοργανισμούς υψηλής μολυσματικότητας και το ολικό φορτίο ανά γραμμάριο αερόβιων μικροοργανισμών πρέπει να είναι χαμηλό. Οι μικροοργανισμοί που δεν επιτρέπεται να περιέχονται σε καλλυντικά σκευάσματα είναι οι εξής: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *Pseudomonas aeruginosa* και *Candida albicans* [84].

Οι καλλυντικές κρέμες, όπως και τα πάσης φύσεως υγρά, γαλακτώματα και αιωρήματα, είναι προϊόντα υψηλά επιδεκτικά σε μικροβιακή επιμόλυνση. Τα προϊόντα αυτά παρουσιάζουν συνήθως ουδέτερο ή κοντά στο ουδέτερο pH και φυλάσσονται σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος ή και σε λίγο υψηλότερες, ιδίως όταν προορίζονται για χώρες με θερμά κλίματα, ενώ περιέχουν θρεπτικά συστατικά και νερό. Επιπρόσθετα, κατά την παρασκευή τους

χρησιμοποιείται πληθώρα πρώτων υλών. Ως εκ τούτου αποτελούν περιβάλλον ευνοϊκό για την ανάπτυξη μικροοργανισμών, εκτός κι αν φυλάσσονται επαρκώς [85], [86].

Οι οργανοληπτικές ιδιότητες των καλλυντικών, έπειτα, είναι εξέχουσας σημασίας για τον καταναλωτή και όλες σχετίζονται με τη ρεολογική συμπεριφορά των καλλυντικών συστημάτων. Η όψη του προϊόντος, η επαλειψιμότητά του, η αίσθηση αυτού στο δέρμα και η δομή του πρέπει να ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις του καταναλωτή. Για τις διάφορες φάσεις της παραγωγής και για τον χειρισμό των καλλυντικών, όπως επίσης και για εξοικονόμηση ενέργειας, η συνεκτικότητα αποτελεί επίσης έναν πολύ σημαντικό παράγοντα [87].

Τα ρεολογικά χαρακτηριστικά, που καθορίζουν τις περισσότερες από τις οργανοληπτικές ιδιότητες δύναται να προσδιοριστούν με απλές ή ταλαντωτικές μετρήσεις διάτμησης. Οι ρεολογικές δοκιμές ταλάντωσης (Rheological oscillatory tests) χρησιμοποιούνται συχνά για να χαρακτηρίσουν και να ποσοτικοποιήσουν την ακαμψία και την ακεραιότητα των πολυφασικών ιξωδοελαστικών συστημάτων, όπως επίσης και την εσωτερική δομή αυτών. Οι συνηθέστερες εξεταζόμενες παράμετροι είναι:

- Το μέτρο αποθήκευσης  $G'$ , ένα μέγεθος υπολογισμού της ενέργειας παραμορφώσεως που αποθηκεύεται στο δείγμα κατά την διαδικασία διάτμησης αυτού, που υποδεικνύει την ελαστική συμπεριφορά του υλικού,
- το μέτρο απώλειας  $G''$ , ένα μέγεθος μέτρησης της ενέργειας παραμορφώσεως, που αποθηκεύεται στο δείγμα κατά την διαδικασία διάτμησης και υποδεικνύει την ιξώδη συμπεριφορά του υλικού,
- η γωνία φάσης  $\delta$ ,
- ο συντελεστής απωλειών  $\tan\delta = G''/G'$ , που υποδεικνύει την αναλογία του ιξώδους και του ελαστικού τμήματος της ιξωδοελαστικής συμπεριφοράς παραμόρφωσης και
- το σύνθετο ιξώδες  $\eta^*$ .

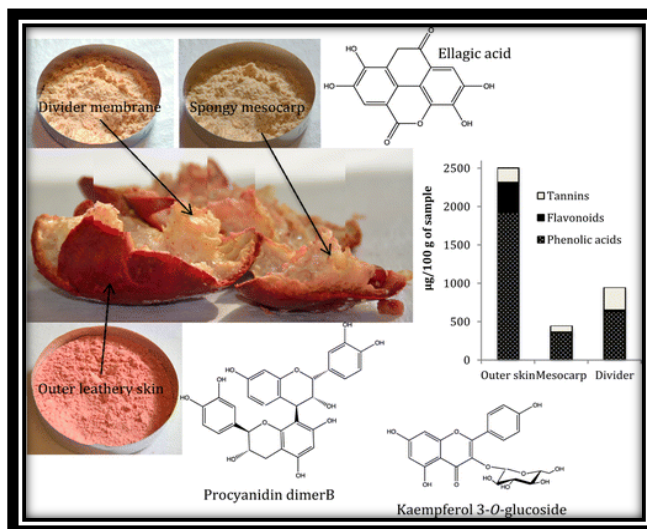
Επιπλέον, συνήθως πραγματοποιούνται και τρία είδη δυναμικών πειραμάτων σάρωσης συχνότητας; πλάτος σάρωσης, συχνότητα σάρωσης, ερπυσμός και δοκιμές ερπυσμού – ανάκαμψης [88].

Από τα διάφορα φυσικά συστατικά, που χρησιμοποιούνται στα καλλυντικά, στην εν λόγω διπλωματική εργασία, έγινε χρήση **ροδιού, Tea Tree Oil** και τροποποιημένης  **$\beta$  – κυκλοδεξτρίνης**.

### 2.5.1 Ρόδι

Η ροδιά (βοτανική ονομασία *Punica granatum*) είναι ένα καρποφόρο φυτό του γένους πουνική (Punica) της οικογένειας Lythraceae, μεγέθους θάμνου ή μικρού δέντρου, που αναπτύσσεται σε ύψος μεταξύ 5 και 8 μέτρων [89]. Στο βόρειο ημισφαίριο, το ρόδι καλλιεργείται από το Σεπτέμβριο μέχρι τον Φεβρουάριο, ενώ στο νότιο από το Μάρτη μέχρι τον Μάη. Η διάμετρος του είναι μεταξύ 5 και 12 εκατοστά, έχει σφαιρικό σχήμα και κόκκινο, σκληρό φλοιό. Στο εσωτερικό του περιέχει σπόρους κόκκινου ή λευκού χρώματος απ' τους οποίους φτιάχνεται η πούλπα του. Σε σύγκριση με την πούλπα του ροδιού, ο μη βρώσιμος φλοιός του περιέχει τουλάχιστον τριπλάσια ποσότητα πολυφαινόλων, συμπεριλαμβανομένων των κατεχινών, των συμπυκνωμένων ταννίνων και των γαλλοκατεχινών (Εικόνα 16) [90]. Το ρόδι αποτελεί ένα λειτουργικό τρόφιμο, εξαιρετικού επιστημονικού ενδιαφέροντος, λόγω των πολλαπλών

ευεργετικών του δράσεων στην ανθρώπινη υγεία [91]. Το υψηλό φαινολικό φορτίο του φλοιού του, καθιστά το ρόδι κατάλληλο για χρήση σε διατροφικά συμπληρώματα και καλλυντικά.



Εικόνα 16: Φλοιός ροδιού

## Φαινόλες

Τα τελευταία χρόνια, έχει παρουσιαστεί μεγάλο ενδιαφέρον για την απομόνωση βιοδραστικών ουσιών από επιλεγμένες φυσικές πηγές. Στις βιοδραστικές ουσίες που συνήθως απομονώνονται ανήκουν τα αντιοξειδωτικά. Στόχος είναι η αντικατάσταση των κοινών συνθετικών αντιοξειδωτικών ουσιών από τα αντιοξειδωτικά φυσικής προελεύσεως. Οι κυριότερες πηγές αντιοξειδωτικών είναι τα φρούτα και τα λαχανικά, τα δημητριακά, το κόκκινο κρασί, τα βιομηχανικά και αγροτικά υπολείμματα κ.α. Οι πολυφαινόλες φυτικής προελεύσεως, αποτελούν μία διακριτή ομάδα συστατικών με αντιοξειδωτική δράση, τα οποία αποτελούν δευτερογενή προϊόντα μεταβολισμού των περισσότερων ψηλών δέντρων [92].

Οι φαινολικές ενώσεις παρουσιάζουν αξιοσημείωτες αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντικαρκινικές, αντιγηραντικές, αντιμικροβιακές, αντιμεταλλαξογόνες και αντιϊικές ιδιότητες, παρέχοντας αντιοξειδωτικά ένζυμα στο ανθρώπινο σώμα [93]. Οι ιδιότητες αυτές καθιστούν τις πολυφαινόλες ουσίες ενδιαφέρουσες για τη θεραπεία πληθώρας ασθενειών, αλλά και για διάφορες εφαρμογές αντιγήρανσης στον τομέα των καλλυντικών .

Ωστόσο, λόγω της χαμηλής διαλυτότητας στο νερό και της έλλειψης σταθερότητας των πολυφαινολών σε συνθήκες παραγωγής φαρμακευτικών και καλλυντικών προϊόντων (θερμοκρασία, φως, pH) ή σε συνθήκες αποθήκευσης αυτών (φως, οξυγόνο), η χρήση τους είναι περιορισμένη.

Οι παράγοντες αυτοί (συνθήκες παραγωγής και αποθήκευσης) μειώνουν τις ευεργετικές για την υγεία ιδιότητες των ενώσεων αυτών και περιορίζουν τις πιθανές εφαρμογές τους στην παραγωγή λειτουργικών τροφίμων και φαρμακευτικών ή καλλυντικών προϊόντων.

Το γαλλικό οξύ είναι ένα υδροξυβενζοϊκό οξύ και τα παράγωγά του, συμπεριλαμβανομένων των τανίνων και των κατεχινών, βρίσκονται στα φρούτα (όπως το ρόδι), τα βότανα, το τσάι, το

κρασί κ.α. Η αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή δράση του, το καθιστούν χρήσιμο συστατικό στη βιομηχανία φαρμάκων, τροφίμων και καλλυντικών. Ωστόσο, η γρήγορη οξείδωσή του, μπορεί να οδηγήσει στην υποβάθμισή του [36]. Η μειωμένη, λοιπόν, σταθερότητα ή/και διαλυτότητα των ενώσεων αυτών, η οποία συχνά συνοδεύεται και από χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα, πρέπει να βελτιωθούν, ούτως ώστε οι ενώσεις αυτές να καταστούν κατάλληλες και αποτελεσματικές για χρήση σε εφαρμογές υγείας, διατροφής και καλλυντικών [92]. Έτσι, η σύγχρονη έρευνα επικεντρώνεται στη βελτίωση της σταθερότητας των πολυφαινόλων, η οποία επιτυγχάνεται αδιαμφισβήτητα με τον εγκλεισμό τους σε πολυμερικές μήτρες [94], [38].

### 2.5.2 *Tea tree oil*

Τα αιθέραια έλαια είναι ελαιώδη, αρωματικά υγρά, που αποτελούνται από πολύπλοκα μίγματα πτητικών μορίων. Είναι φυτικά προϊόντα, καθώς εκχυλίζονται από αρωματικά φυτά. Η εκχύλισή τους μπορεί να πραγματοποιηθεί με πολλές διαφορετικές μεθόδους, κλασσικές ή καινοτόμες. Λόγω της υδροφοβικής τους φύσεως και της πυκνότητάς τους, που συνήθως είναι μικρότερη από αυτή του νερού, συνήθως είναι λιπόφιλα, διαλύονται σε οργανικούς διαλύτες και δεν αναμιγνύονται με το νερό [95]. Ως φυσικά προϊόντα, έχουν ενδιαφέροντα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και αποτελούν προϊόντα υψηλής προστιθέμενης αξίας, που σέβονται το περιβάλλον. Έχουν, άλλωστε ποικίλες βιολογικές δράσεις και θεραπευτικές ιδιότητες (αντιβακτηριακές, αντιϊικές και αντιμυκητιακές) [96], [97].

Ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων, αναγνωρίζει τα αιθέραια έλαια ως ασφαλείς ουσίες σύμφωνα με τον Κώδικα Ομοσπονδιακών Κανονισμών, μερικές από τις οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως αντιβακτηριακά πρόσθετα [98], [99].

Τα αιθέραια έλαια παρουσιάζουν πληθώρα ενδιαφερουσών εφαρμογών. Χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία τροφίμων (ως συντηρητικά), στη γεωργία, στη βιομηχανία φαρμάκων (κατά των λοιμώξεων) και στη βιομηχανία καλλυντικών [95].

Τα συστατικά των αιθέραιων ελαίων είναι δευτερογενείς μεταβολίτες με ιδιαίτερο άρωμα. Ωστόσο, παρά τις δυνητικά πολλαπλές εφαρμογές τους, τα περισσότερα από τα αρωματικά αυτά μόρια, είναι ασταθή και ευαίσθητα εξαιτίας των βιοδραστικών τους συστατικών, όπως οι αλδεΐδες, οι κετόνες και τα τερπένια. Για την ακρίβεια, είναι πολύ εύκολη η αποσύνθεσή τους από περιβαλλοντικούς παράγοντες (οξείδωση, εξάτμιση, θέρμανση ή φως) αν χρησιμοποιούνται ως έχουν και δεν προστατεύονται από αυτούς. Η αποσύνθεση τους δεν προκαλεί αλλαγές μόνο στα βασικά τους χαρακτηριστικά, αλλά μπορεί και να οδηγήσει στη σύνθεση αλλεργιογόνων παραγόντων σε πολλές περιπτώσεις [100], [101], [102]. Οι σύγχρονες, καινοτόμες μέθοδοι αποτρέπουν τα μειονεκτήματα των συμβατικών τεχνικών, όπως τον κίνδυνο χημικής αλλοίωσης, την χρονοβόρα διαδικασία εκχύλισης και την υψηλή κατανάλωση ενέργειας.

Ο έλεγχος του ρυθμού εξάτμισης και της αποσύνθεσης είναι το βασικότερο βήμα για τη διατήρηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστών των αρωματικών υλικών. Ένας τρόπος για να επιτευχθεί αυτό είναι ο εγκλεισμός των αιθέραιων ελαίων σε σωματίδια ή λιποσώματα, που παρέχει τόσο σταθεροποίηση όσο και ελεγχόμενη αποδέσμευση των εγκλεισμένων συστατικών. Η προστασία αυτή δύναται να αυξήσει την περίοδο δράσης τους και να παρέχει σταδιακή αποδέσμευση. Άλλα πλεονεκτήματα του εγκλεισμού είναι η ευκολία στον χειρισμό

(π.χ. ενός σταθερού, στερεού εγκλεισμένου συστατικού έναντι ενός ασταθούς, πτητικού υγρού), η ασφάλεια (π.χ. με την επίτευξη της μειωμένης αναφλεξιμότητας), η αυξημένη εφαρμοστικότητα σε πληθώρα προϊόντων (π.χ. τα ικανά να διασπείρουν στο νερό σφαιρίδια, στα οποία έχουν εγκλειστεί αιθέραια έλαια, μπορούν εύκολα να χρησιμοποιηθούν σε σκευάσματα με βάση το νερό) και η ενισχυμένη αποτελεσματικότητα [95], [103]. Ως εκ τούτου, έχει αναπτυχθεί πληθώρα εφαρμογών εγκλεισμού με σκοπό τον εγκλεισμό βιομορίων, ενεργών μορίων και βιοδραστικών ενώσεων των αιθέριων ελαίων. Οι συχνότερα χρησιμοποιούμενες μήτρες για τον εγκλεισμό είναι τα πολυμερικά σωματίδια, τα λιποσώματα και τα στερεά νανοσωματίδια.

Από τα διάφορα είδη φυτών, μόνο το 10% περιέχουν αιθέραια έλαια και ονομάζονται αρωματικά φυτά. Οι οικογένειες στις οποίες μπορεί να ανήκουν είναι οι εξής : Lamiaceae, Lauraceae, Asteraceae, Rutaceae, Myrtaceae, Poaceae, Cupressaceae και Piperaceae [95].

Το Tea Tree Oil (ΤΤΟ) (Εικόνα 17) παρασκευάζεται μέσω απόσταξης με ατμό από τα φύλλα του αυστραλιανού φυτού *Melaleuca alternifolia* που ανήκει στην οικογένεια των φυτών μυρτιά (Myrtaceae). Το φυτό αυτό αναπτύσσεται γρήγορα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ήδη από τους πρώτους έξι μήνες της σποράς του. Έχει σχετική πυκνότητα μεταξύ 0,885 και 0,906, είναι ελάχιστα διαλυτό στο νερό και είναι αναμίξιμο με μη πολικούς διαλύτες [104]. Περιέχει περισσότερα από 100 συστατικά (κυρίως τερπενικούς υδρογονάνθρακες και τις αντίστοιχες αλκοόλες). Η τερπινέν – 4 – όλη (terpinen-4-ol), ένα μονοτερπένιο, αποτελεί το συστατικό του ΤΤΟ σε μεγαλύτερο ποσοστό (περισσότερο από 30%), το οποίο είναι υπεύθυνο για την αντιμικροβιακή και αντιφλεγμονώδη δράση του, ενώ το ΤΤΟ περιέχει επίσης μικρές ποσότητες (μέγιστη περιεκτικότητα 15%) από την 1,8 – κινεόλη, που προκαλεί ερεθισμούς στο δέρμα. Η αποθήκευση του ΤΤΟ μεταβάλλει τη σύστασή του, αυξάνοντας τα ποσοστά κινεόλης και μειώνοντας αυτά της τερπινέν – 4 – όλης. Για την εμπορική διάθεσή του, το ΤΤΟ παρασκευάζεται με τον χημειότυπο τερπινέν – 4- όλη [105].

Το ΤΤΟ υπήρξε πάντα γνωστό για την ευεργετική βιολογική του δράση. Είναι από τα πιο ισχυρά τονωτικά του ανοσοποιητικού συστήματος και βοηθάει στην γρήγορη και αποτελεσματική θεραπεία των περισσότερων ιογενών, βακτηριακών και μυκητιακών λοιμώξεων.

Έτσι, χρησιμοποιείται ως αντισηπτικό και αντιμυκητιακό (η τερπεν – 4 – όλη, συγκεκριμένα, αποτελεί ισχυρό παράγοντα ενάντια στους μικροοργανισμούς *Staphylococcus Aureus* (MRSA) και *Coagulansnegative Staphylococcus* (CoNS)) για την άμεση επούλωση και θεραπεία από κοψίματα, εγκαύματα και εκδορές, ενώ έχει γίνει πληθώρα μελετών σχετικά με τη θεραπευτική δράση του κατά της ακμής, της σμηγματορροϊκής δερματίτιδας, και της χρόνιας ουλίτιδας. Το ΤΤΟ παρουσιάζει, επιπρόσθετα, αντιοξειδωτική και αντιπρωτοζωική δράση όσον αφορά στις ασθένειες του δέρματος. Τα εγγενή αντιοξειδωτικά (δηλαδή το α – τερπινένιο, η α – τερπινενόλη και το γ – τερπινένιο) του, παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση, που κατατάσσεται με την εξής σειρά: α – τερπινένιο > α – τερπινολένιο > γ – τερπινένιο. Ακόμη, η αντικαρκινική του δράση έναντι των δερματικών παθήσεων είναι χαρακτηριστική, ενώ είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό κατά των στοματικών βακτηρίων και του υποτροπιάζοντα επιχειλίου έρπητα.

Στον Πίνακα 1 συγκεντρώνονται οι διάφορες δράσεις του ΤΤΟ.

Πίνακας 1: Ιδιότητες και δερματικές εφαρμογές του ΤΤΟ

Ιδιότητες και δερματικές εφαρμογές του ΤΤΟ
Αντιοξειδωτική δράση
Αντιβακτηριακή δράση
Αντιϊική δράση
Αντιμυκητιακή δράση
Αντιπρωτοζωική δράση
Αντικαρκινική δράση
Δερματολογικές εφαρμογές
Ρύθμιση της πομφού
Θεραπεία της ακμής
Επούλωση πληγών
Θεραπεία της σμηγματορροϊκής δερματίτιδας
Θεραπεία της χρόνιας ουλίτιδας

Η φύση του αυτή έχει οδηγήσει σε πληθώρα εφαρμογών του σε καλλυντικά προϊόντα, όπως σε αντισταθμιστικά, αποσμητικά, σαμπουάν και σαπούνια. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η χρήση του σε αντισταθμιστικές κρέμες και γαλακτώματα, που προορίζονται για τοπική χρήση, κατά των δερματικών παθήσεων [106], [107].



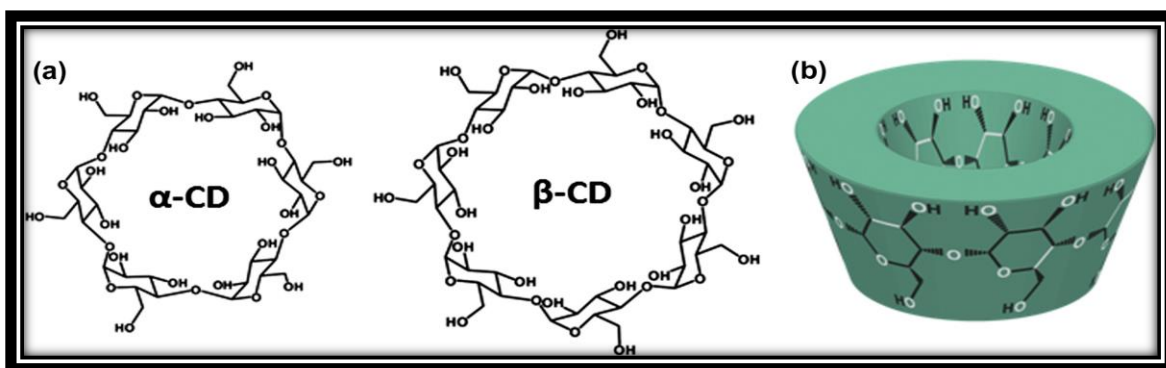
Εικόνα 17: Tea Tree Oil

### 2.5.3 Κυκλοδεξτρίνη

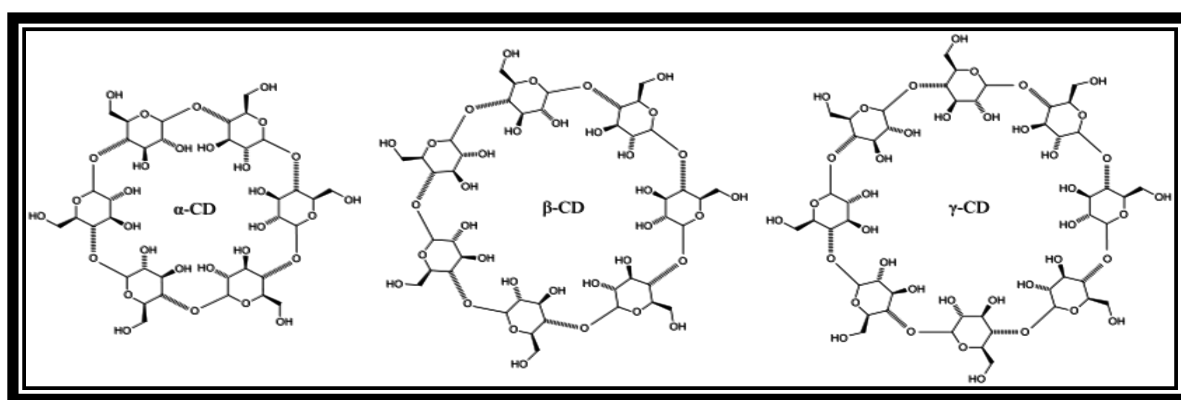
Η χρήση οργανικών διαλυτών αυξάνει τον κίνδυνο για αρνητικές συνέπειες όσον αφορά στο περιβάλλον, στην υγεία και στην ασφάλεια λόγω της εγγενούς τοξικότητας από τη χρήση πολλών οργανικών διαλυτών. Μία λύση για την αντιμετώπιση του προβλήματος αυτού σε

πληθώρα βιομηχανιών αποτελεί η παραγωγή νανοϊνών απο υδρόφιλα πολυμερή, που περιέχουν λιπόφιλα συστατικά, καθώς έτσι η τοξικότητα και η ανησυχία για τα υπολείμματα των βιομηχανιών θα μπορούσαν να αμβλυνθούν [28]. Τα πολυμερικά μικροσωματίδια και νανοσωματίδια έχουν μελετηθεί ενδελεχώς ως βιοδιασπώμενοι μεταφορείς για ελεγχόμενη μεταφορά και αποδέσμευση πληθώρας θρεπτικών ουσιών όπως φάρμακα, πρωτεΐνες και γονίδια [74].

Οι κυκλοδεξτρίνες είναι φυσικά απαντώμενοι, κυκλικοί, υδατοδιαλυτοί ολιγοσακχαρίτες και παράγονται από την ενζυματική μετατροπή του αμύλου. Αποτελούν ουσίες μη τοξικές, βιοαποικοδομήσιμες και φιλικές προς το περιβάλλον. Ανήκουν στα πολυμοριακά συστήματα, που έχουν μελετηθεί και εφαρμοστεί πολύ. Οι κυκλοδεξτρίνες έχουν 6, 7 ή 8 μονάδες γλυκοκυρανόζης στο μόριο τους και ονομάζονται αντίστοιχα α – β – ή γ – κυκλοδεξτρίνη [29].



Εικόνα 18 : (a) Χημική δομή α - και β - κυκλοδεξτρίνης (b) σχηματική απεικόνιση κυκλοδεξτρίνης [29]



Εικόνα 19 : Χημική δομή των τριών δομών κυκλοδεξτρίνης

Διαθέτουν, όπως φαίνεται στις Εικόνες 18 και 19, μοριακή δομή δακτυλίου. Έχουν υδρόφιλο εξωτερικό χαρακτήρα, γεγονός που τις καθιστά διαλυτές στο νερό, ενώ η υδροφοβική, λιπόφιλη κοιλότητά τους, επιτρέπει τον σχηματισμό συμπλόκων εγκλεισμού με υδροφοβικές



ενώσεις. Η πολική – μη πολική αλληλεπίδραση μεταξύ των πολικών μορίων του νερού που υπάρχουν στην κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης και του άπολου τοιχώματος της κοιλότητας προκαλεί μία ενεργειακά δυσμενή κατάσταση. Η υποκατάσταση των μορίων νερού υψηλής ενθαλπίας από τις ενώσεις εγκλεισμού, είναι η κινητήρια δύναμη για τη δημιουργία ενός σταθερού συμπλόκου κυκλοδεξτρίνης και ουσίας εγκλεισμού. Ακόμη, σημαντικό ρόλο παίζει και η ανάπτυξη μη ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων, συμπεριλαμβανομένων των δυνάμεων van der Waals, των δεσμών υδρογόνου και των υδροφοβικών αλληλεπιδράσεων [39].

Ο εγκλεισμός ουσιών όπως, οι διάφορες αντιβακτηριακές, αντιοξειδωτικές και αρωματικές ενώσεις, τα αιθέραια έλαια και τα πτητικά συστατικά, στις κοιλότητες των κυκλοδεξτρινών, πραγματοποιείται προκειμένου να:

- βελτιωθούν οι διάφορες φυσικές και χημικές ιδιότητές τους, όπως η διαλυτότητα στο νερό, η αντίσταση στην οξείδωση και την αποσύνθεση (διάσπαση) λόγω φωτός, η αντοχή στην υψηλή θερμοκρασία ή στην αποθήκευση για μεγάλο χρονικό διάστημα και η ανθεκτικότητα στην εξάτμιση,
- σταθεροποιηθεί το άρωμα και η γεύση τους,
- κατασταλεί η πιθανή δυσάρεστη οσμή, που μπορεί να έχουν στην φυσική τους μορφή,
- ενισχυθεί η βιωσιμότητά τους,
- επιτευχθεί η ελεγχόμενη και σταδιακή αποδέσμευσή τους και ν' απελευθερώνονται στην επιθυμητή θέση και χρόνο, με τον επιθυμητό ρυθμό, όταν συντελείται μία αλλαγή στη θερμοκρασία, την υγρασία ή το pH [36], [26], [108], [109], [110], [111], [14].

Όπως είναι φυσικό, η παραγωγή ναοϊνών κυκλοδεξτρίνης με την τεχνική της ηλεκτροστατικής ινοποίησης αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο εγχείρημα, καθώς κατά τον συνδυασμό της πολύ μεγάλης επιφάνειας επαφής των ναοϊνών και των κυκλοδεξτρινών, μπορούν να προκύψουν ναοϋλικά με μοναδικές ιδιότητες [48]. Ως εκ τούτου, οι κυκλοδεξτρίνες και τα σύμπλοκα που δημιουργούν με τις ουσίες εγκλεισμού, παρουσιάζουν πληθώρα εφαρμογών σε πολλούς τομείς, όπως η φαρμακευτική, τα λειτουργικά τρόφιμα, τα υφάσματα, η αναλυτική χημεία, τα προϊόντα προσωπικής υγιεινής και τα καλλυντικά [108], [112], [31], [26].

Προκειμένου να αποτραπεί η αποσύνθεση του γαλλικού οξέος και να διατηρηθεί η βιοδραστικότητά του όσον αφορά στους εξωτερικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, εδώ και αρκετά χρόνια, έχουν συντεθεί σύμπλοκα κυκλοδεξτρίνης – γαλλικού οξέος και θεωρούνται ένα αρκετά αποτελεσματικό σύστημα [36].



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

### 3.1 Υλικά

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την υλοποίηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας παρουσιάζονται αναλυτικά παρακάτω:

#### 3.1.1 Εγκλεισμός βιοδραστικών συστατικών σε κατάλληλη μήτρα για χρήση σε καλλυντικές κρέμες

Τα βιοδραστικά συστατικά που επιλέχθηκαν λόγω των πολύ καλών τους ιδιοτήτων και της ευρείας χρήσης τους στη βιομηχανία των καλλυντικών είναι:

- Εκχύλισμα ΤΤΟ (CELLCO CHEMICALS SA, Εικόνα 20)
- Εκχύλισμα φλοιού ροδιού, που παρασκευάστηκε με την εφαρμογή υπερήχων, όπως περιγράφεται στη συνέχεια του κεφαλαίου (3.2.1) (Εικόνα 20)



Εικόνα 20: Εκχύλισμα Tea Tree Oil και εκχύλισμα φλοιού ροδιού

Η μήτρα, που χρησιμοποιήθηκε για τον εγκλεισμό των ουσιών είναι ένα υδατικό Διάλυμα β – Κυκλοδεξτρίνης και, συγκεκριμένα το hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (HPβCD)(CELLCO CHEMICALS SA, PHYTODERMINA LIFTING, Εικόνα 21).



Εικόνα 21: Υδατικό διάλυμα β – Κυκλοδεξτρίνης

### 3.1.2 Χαρακτηρισμός βιοδραστικών συστατικών

Για τον υπολογισμό των συνολικών φαινολικών του εκχύλισματος ροδιού χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω:

- Διάλυμα Folin – Ciocalteu
- κορεσμένο διάλυμα  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , που παρασκευάστηκε στο εργαστήριο.

### 3.1.3 Μικροβιολογική ανάλυση

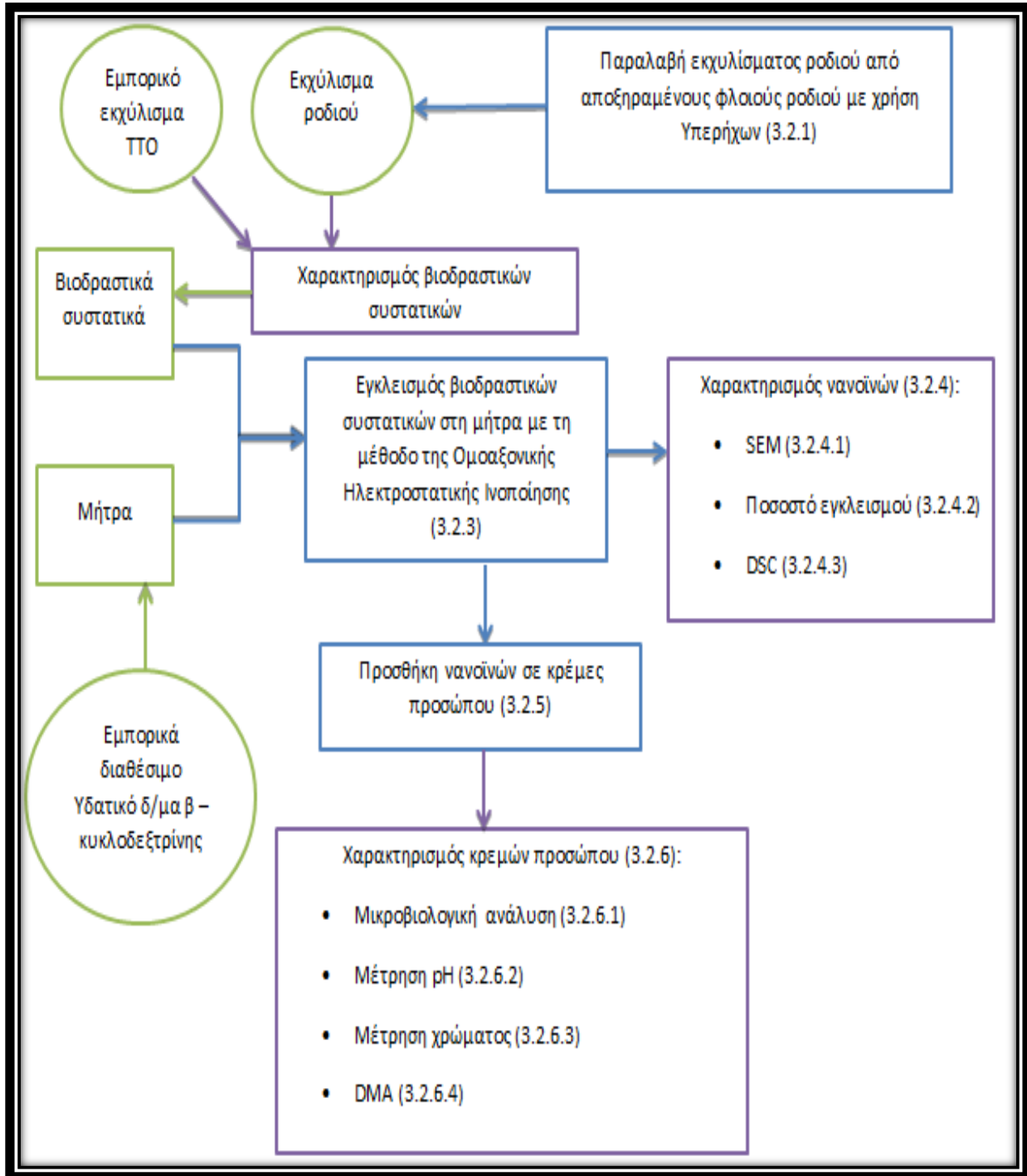
Για την υλοποίηση της μικροβιακής ανάλυσης των κρεμών χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω:

- Διάλυμα Ringer
- Αιθανόλη
- Θρεπτικά Υποστρώματα

Επιπρόσθετα, χρησιμοποιήθηκαν απιονισμένο  $\text{H}_2\text{O}$ , Ακετόνη, Σορβικό κάλιο, Βενζοϊκό νάτριο καθώς και κρέμα βάση για την ανάπτυξη των νέων προϊόντων με την προσθήκη εγκλεισμένων βιοδραστικών συστατικών.

### 3.2 Μέθοδοι – Όργανα και Συσκευές

Στην Εικόνα 22, παρουσιάζεται το διάγραμμα της πειραματικής διαδικασίας, η οποία ακολουθήθηκε και αναλύεται λεπτομερώς στη συνέχεια.

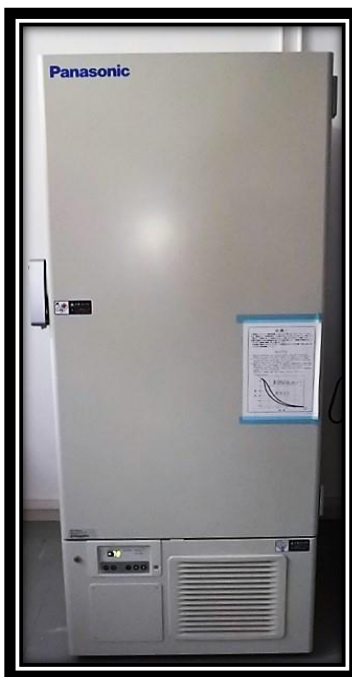


Εικόνα 22: Διάγραμμα πειραματικής διαδικασίας. Οι πρώτες ύλες, που χρησιμοποιήθηκαν παρουσιάζονται με πράσινο χρώμα, οι διεργασίες με τις οποίες παρήχθησαν τα τελικά προϊόντα με μπλε χρώμα και οι διεργασίες χαρακτηρισμού με μωβ χρώμα

### 3.2.1 Εκχύλιση με υπερήχους

Κατά την εκχύλιση με υπερήχους, το δείγμα τοποθετείται με κατάλληλο μη τοξικό διαλύτη, στην συγκεκριμένη περίπτωση  $H_2O$ , σε συσκευή υπερήχων. Η διάδοση των υπερήχων χαρακτηρίζεται από ελάχιστη συχνότητα 50 kHz και προκαλεί κίνηση του υγρού λόγω συμπίεσης και αραίωσης. Με την αύξηση της θερμοκρασίας λαμβάνουν χώρα επιθυμητά φαινόμενα διάχυσης και διαλυτοποίησης, ενώ με την αύξηση της πίεσης επιτυγχάνονται φαινόμενα διείδυσης και μεταφοράς. Με τη χρήση των υπερήχων, ο χρόνος εκχύλισης μειώνεται και η απόδοση της εκχύλισης αυξάνεται. Η χρήση της εκχύλισης με υπερήχους, ενδείκνυται για θερμικά ασταθείς ενώσεις.

Προκειμένου να παραχθεί εκχύλισμα ροδιού, αρχικά συλλέχθηκε φλοιός ροδιού. Ο φλοιός αυτός, καθαρίστηκε και στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε καταψύκτη (Panasonic, MDF-U3386S) σε θερμοκρασία  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Εικόνα 23). Μετά από 72 ώρες, οι φλούδες του ροδιού τοποθετήθηκαν στην συσκευή ξήρανσης υπό κατάψυξη (Leybold – Heraeus, GT 2A) για 24 ώρες. Η ξήρανση πραγματοποιήθηκε υπό κενό (Εικόνες 24, 25).



Εικόνα 23: Καταψύκτης Panasonic, MDF-U3386S,  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$



Εικόνα 24: Ξήρανση υπό κατάψυξη φλοιού ροδιού



Εικόνα 25: Αποξηραμένος φλοιός ροδιού

Τα δείγματα, που προέκυψαν από την ξήρανση υπό κατάψυξη, ζυγίστηκαν, πολτοποιήθηκαν και κοσκινήθηκαν. Έτσι, προέκυψαν δύο δείγματα με διαφορετική κοκκομετρία (Εικόνα 26).

- Δείγμα 1 : 0 – 500  $\mu\text{m}$

- Δείγμα 2 : 500 – 1000  $\mu\text{m}$



Εικόνα 26: Τα δύο δείγματα διαφορετικής κοκκομετρίας, που προέκυψαν από την κοσκίνιση

Τα δείγματα αυτά, τοποθετήθηκαν εν συνεχεία σε φούρνο στους 110 °C για 24 ώρες, με σκοπό την πλήρη απομάκρυνση της υγρασίας.

Ακολούθως, τα δύο δείγματα ζυγίστηκαν εκ νέου και τοποθετήθηκαν στη συσκευή εκχύλισης με υπερήχους (Ultrasonic/ Microwave Reaction System, XO-SM Series). Για τον σκοπό αυτό, πραγματοποιήθηκε αραιώση 1: 10 με διαλύτη H<sub>2</sub>O. Οι συνθήκες, που επιλέχθηκαν ήταν οι εξής:

(a) Ultrasonicator

- SET time : 30 min
- On : 1,5 sec (διάρκεια ψεκασμού)
- Off : 3 sec (χρόνος μέχρι τον επόμενο ψεκασμό)
- US: 35 % (315 W)
- T<sub>max</sub>: 50 °C

Τα δείγματα που προέκυψαν από την εκχύλιση, τοποθετήθηκαν σε συσκευή φυγοκέντρησης (Nuve, NF 400). Το υπερκείμενο υγρό τοποθετήθηκε σε 2 αδιαφανείς φιάλες (μία για το κάθε δείγμα), οι οποίες σφραγίστηκαν καλά και τοποθετήθηκαν στην κατάψυξη (SANYO, MDF 236) σε θερμοκρασία -30 °C (Εικόνα 27).





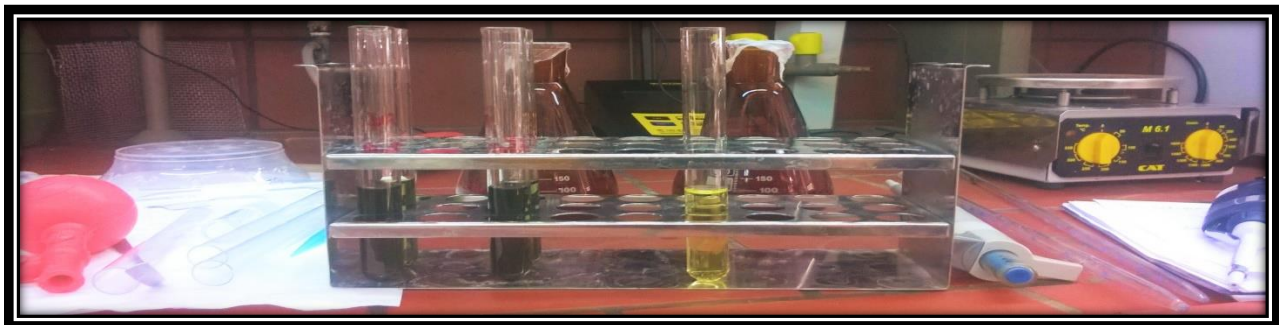
Εικόνα 27: Καταψύκτης SANYO, MDF 236, -30 °C

### 3.2.2 Χαρακτηρισμός βιοδραστικών συστατικών

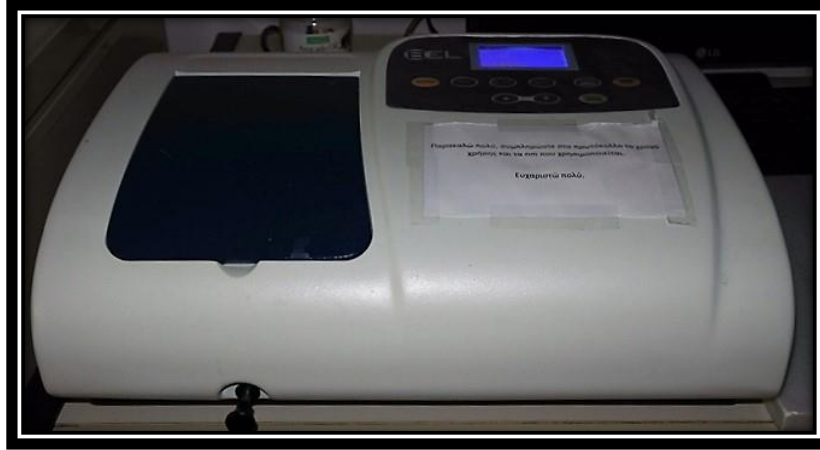
#### Αντιοξειδωτική δράση ροδιού

Προκειμένου να αξιολογηθεί η αντιοξειδωτική δράση του εκχυλίσματος ροδιού, που παρασκευάστηκε, ακολουθήθηκε η μέθοδος Folin – Ciocalteu [113]. Για το σκοπό αυτό, αρχικά κατασκευάστηκε η καμπύλη απορρόφησης του γαλλικού οξέος στα 765 nm, μετρώντας την απορρόφηση διαλυμάτων διαφορετικών αραιώσεων. Σύμφωνα με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu, στη συνέχεια, ποσότητα 0,1 mL από το καθένα από τα δύο δείγματα εκχυλίσματος ροδιού τοποθετήθηκε σε δοκιμαστικούς σωλήνες και προστέθηκαν 7,9 mL νερό. Στη συνέχεια, τα διαλύματα αραιώθηκαν με νερό σε αραιώση 1:20. Στους δοκιμαστικούς αυτούς σωλήνες προστέθηκε 0,5 mL διαλύματος Folin – Ciocalteu και έπειτα αναδεύθηκαν στο Vortex. Ακολούθως, προστέθηκε 1,5 mL κορεσμένου διαλύματος  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Εικόνα 28). Τέλος, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο στους 40 °C για 30'. Για το κάθε δείγμα έγιναν δύο δοκιμές.

Αφότου, τα δείγματα βγήκαν από το υδατόλουτρο, έγινε φωτομέτρηση αυτών στα 765 nm (Εικόνα 29).



Εικόνα 28: Μέθοδος Folin – Ciocalteu στο εκχύλισμα ροδιού



Εικόνα 29: Φωτομέτρηση των δειγμάτων εκχυλίσματος ροδιού στα 765 nm

### Κατασκευή καμπύλης αναφοράς Tea Tree Oil για προσδιορισμό της συγκέντρωσής του

Για να υπολογιστεί η συγκέντρωση του Tea Tree Oil, έπρεπε αρχικά να βρεθεί το μήκος κύματος στο οποίο αυτό παρουσιάζει τη μέγιστη απορρόφηση. Για το σκοπό αυτό το διάλυμα Tea Tree Oil αραιώθηκε με αιθανόλη σε αραιώσεις 1:1000 και ακολούθησε σάρωση αυτού στα 190 – 1100 nm. Αφότου βρέθηκε το μήκος κύματος στο οποίο απορροφά, κατασκευάστηκε η καμπύλη αναφοράς του Tea Tree Oil σε αυτό το μήκος κύματος μετρώντας την απορρόφηση διαλυμάτων διαφορετικών συγκεντρώσεων (Αραιώσεις: 1:1.000, 1:1.500, 1:2.000, 1:4.000, 1:8.000).

### *3.2.3 Εγκλεισμός βιοδραστικών συστατικών με τη μέθοδο της Ομοαξονικής Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης (Coaxial Electrospinning)*

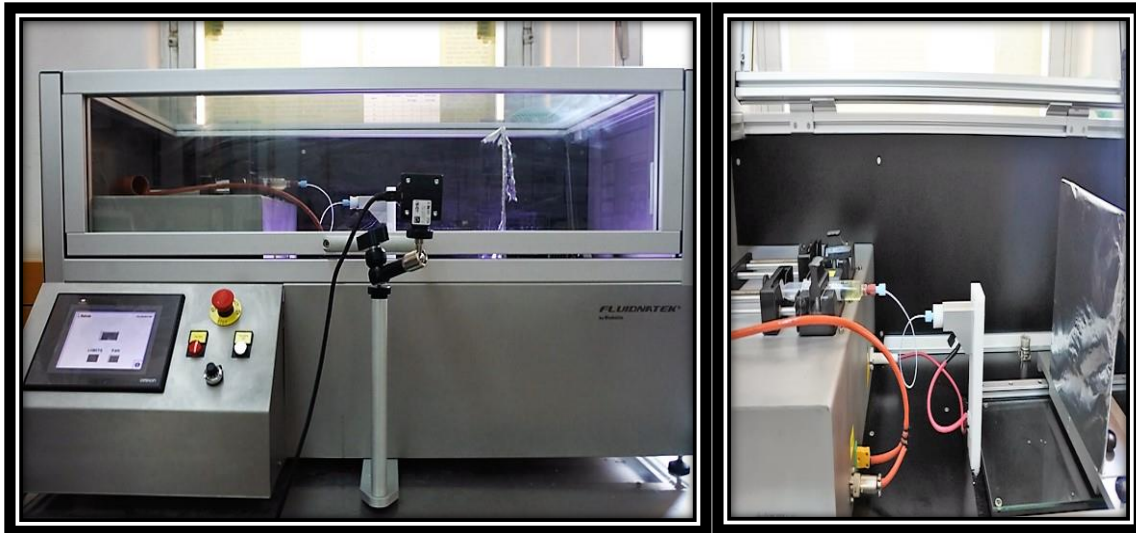
Με σκοπό τον εγκλεισμό του εκχυλίσματος ροδιού και του Tea Tree Oil σε υδατικό διάλυμα κυκλοδεξτρίνης, χρησιμοποιήθηκε η συσκευή Ομοαξονικού Ηλεκτροστατικού μικρο / νανοεγκλεισμού (FLUIDNATEK LE-10, BioInicia, Εικόνα 30).

Αρχικά, τοποθετήθηκε αλουμινόχαρτο στον μεταλλικό συλλέκτη, για τη συλλογή των προκυπτουσών ινών. Έπειτα, συνδέθηκε η συσκευή βιντεοσκόπησης. Ακολούθως, η μία σύριγγα γεμίστηκε με το διάλυμα κυκλοδεξτρίνης και η άλλη με την εκάστοτε ουσία εγκλεισμού (ρόδι ή Tea Tree Oil). Το Liquid 1 στη συσκευή αποτελεί τη μήτρα (κυκλοδεξτρίνη) και το Liquid 2 την ουσία εγκλεισμού (ρόδι ή ΤΤΟ). Η απόσταση ορίστηκε και για τις δύο ουσίες εγκλεισμού στα 15 cm και η διάμετρος της σύριγγας ήταν ίση με 14,22 mm.

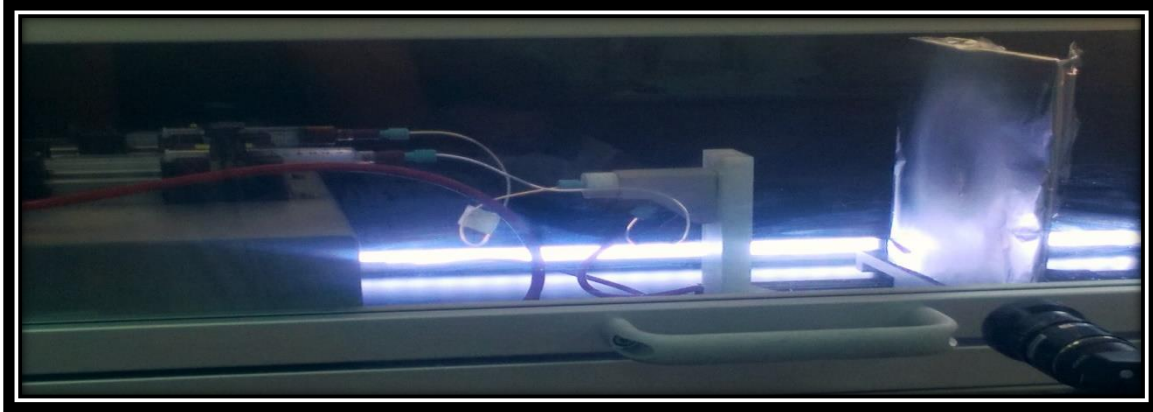
Για την κυκλοδεξτρίνη (Εικόνα 31), αλλά και για καθέναν από τους δύο συνδυασμούς (κυκλοδεξτρίνη – ρόδι (Εικόνα 32), κυκλοδεξτρίνη – Tea Tree Oil (Εικόνα 33)) πραγματοποιήθηκε πληθώρα δοκιμών, προκειμένου να βρεθεί ο βέλτιστος συνδυασμός ογκομετρικής παροχής και επιβαλλόμενης τάσης των εκάστοτε ουσιών, που αποτελεί και τη βέλτιστη συνθήκη παραγωγής νανοϊνών.



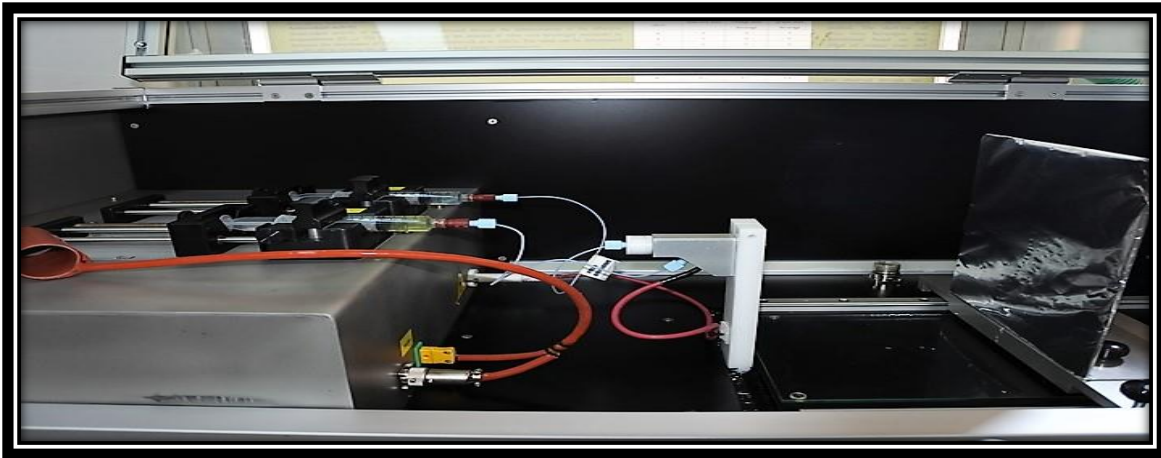
Εικόνα 30: Συσκευή Ομοαξονικής Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης - FLUIDNATEK LE-10, BioInicia [114]



Εικόνα 31: Ηλεκτροστατική ινοποίηση κυκλοδεξτρίνης



Εικόνα 32: Ηλεκτροστατική ινοποίηση εκχυλίσματος ροδιού σε μήτρα β - κυκλοδεξτρίνης



Εικόνα 33: Ηλεκτροστατική ινοποίηση εκχυλίσματος Tea Tree Oil σε μήτρα β – κυκλοδεξτρίνης

### 3.2.4 Χαρακτηρισμός νανοϊνών

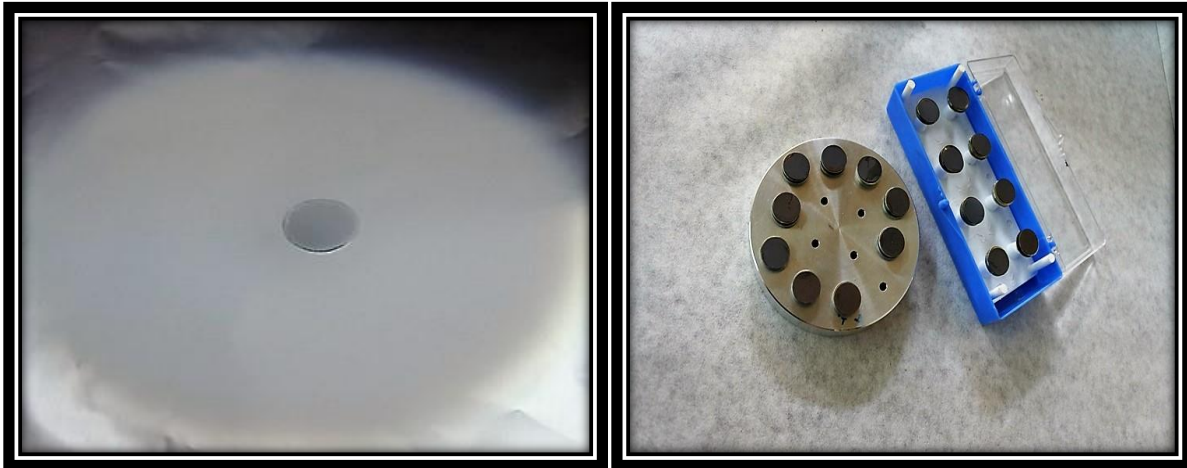
Προκειμένου να αξιολογηθεί το αποτέλεσμα της ομοαξονικής ηλεκτροστατικής ινοποίησης και να διερευνηθούν οι πιθανές εφαρμογές των εγκλεισμένων συστατικών, είναι απαραίτητος ο χαρακτηρισμός των φυσικών και χημικών ιδιοτήτων των νανοϊνών. Για το σκοπό αυτό, πραγματοποιήθηκε σειρά μεθόδων, όπως περιγράφεται στη συνέχεια.

#### 3.2.4.1 Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης – Scanning Electron Microscopy (SEM)

Η απεικόνιση της νανοδομής των νανοϊνών πραγματοποιήθηκε με χρήση της τεχνικής ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (Scanning Electron Microscopy – SEM).

Όλοι οι συνδυασμοί συνθηκών, που οδηγούσαν σε επιτυχή εναπόθεση δείγματος στον συλλέκτη οδηγήθηκαν στο Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (SEM) προκειμένου να επιλεγούν οι βέλτιστες συνθήκες παραγωγής νανοϊνών με εγκλεισμένα βιοδραστικά συστατικά.

Για την παραλαβή των δειγμάτων, ο μεταλλικός συλλέκτης καλύφθηκε με αλουμινόχαρτο και από αυτόν λήφθηκαν δείγματα και τοποθετήθηκαν σε κατάλληλους για το SEM δειγματοφορείς (Εικόνα 34). Στη συνέχεια, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε συσκευή επιχρύσωσης (SC7620 Mini Sputter Coater, Quorum Technologies) για 105 sec (Εικόνα 35). Η διαδικασία αυτή αποσκοπεί στο να καταστούν τα δείγματα αγώγιμα ώστε η δέσμη ηλεκτρονίων του μικροσκοπίου να δύναται να σαρώσει την επιφάνεια και τα ηλεκτρόνια να έχουν δίοδο διέλευσης.



Εικόνα 34: Λήψη δειγμάτων από αλουμινόχαρτο και τοποθέτησή τους σε κατάλληλους για το Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (SEM) δειγματοφορείς



Εικόνα 35: Επιχρύσωση δειγμάτων για μετέπειτα μέλετη αυτών στη συσκευή SEM

Τελικά, τα επιχρυσωμένα δείγματα παρατηρήθηκαν στο Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (SEM), υπό τις εξής συνθήκες:

- 12,5 kV
- Ανιχνευτής LFD
- Spot size (άνοιγμα της δέσμης ηλεκτρονίων) : 4,5
- Μεγέθυνση στα 5 $\mu$ m

#### 3.2.4.2 Ποσοστό εγκλεισμού

##### **Υπολογισμός της ποσότητας που φτάνει στο μεταλλικό στόχο**

Για τον υπολογισμό του ποσοστού εγκλεισμού, αρχικά πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις ώστε να εξακριβωθεί η ακριβής ποσότητα εκχυλίσματος, που έχει φτάσει στον μεταλλικό στόχο (εγκλεισμένη και μη εγκλεισμένη). Αυτό επιτεύχθηκε με χρήση της μεθόδου της εκχύλισης με υπερήχους. Έτσι, για καθεμία από τις εγκλεισμένες ουσίες πραγματοποιήθηκαν τα ακόλουθα:

##### **Νανοΐνες ροδιού**

Ποσότητα 0,542 g θρυμματισμένων νανοϊνών κυκλοδεξτρίνης - ροδιού, διαλύθηκαν σε 55 mL νερό και τοποθετήθηκαν στη συσκευή εκχύλισης για 20 min, ούτως ώστε όλη η ποσότητα εγκλεισμένου και μη εκχυλίσματος ροδιού να απελευθερωθεί και να καταστεί δυνατή η φωτομέτρηση των φαινολικών του. Το προκύπτον μετά την εκχύλιση διάλυμα, φωτομετρήθηκε έπειτα με χρήση της μεθόδου Folin – Ciocalteu στα 765 nm (3.2.2).

##### **Νανοΐνες Tea Tree Oil**

Ποσότητα 0,254 g θρυμματισμένων νανοϊνών Tea Tree Oil, διαλύθηκαν σε 60 mL αιθανόλη και τοποθετήθηκαν στη συσκευή εκχύλισης για 20 min, ούτως ώστε όλη η ποσότητα εγκλεισμένου και μη εκχυλίσματος Tea Tree Oil να απελευθερωθεί και να υπολογιστεί η συγκέντρωσή του. Ακολούθως, από το δείγμα λήφθηκε ποσότητα 0,1 mL που αραιώθηκε με αραιώση 1:10 με αιθανόλη. Τέλος, το δείγμα φωτομετρήθηκε στα 225 nm (3.2.2).

##### **Υπολογισμός μη εγκλεισμένης ποσότητας που φτάνει στο μεταλλικό στόχο**

Για τον υπολογισμό της μη εγκλεισμένης ποσότητας ουσίας, που φτάνει στο μεταλλικό στόχο, πραγματοποιήθηκαν τα εξής:

##### **Νανοΐνες ροδιού**

Ποσότητα 0,65 g νανοϊνών ροδιού, θρυμματίστηκε και διαλύθηκε σε 15 mL νερό. Στο προκύπτον διάλυμα προστέθηκαν 0,0725 g καθενός από τα συντηρητικά σορβικό κάλιο και βενζοϊκό νάτριο. Το τελικό διάλυμα (Εικόνα 36) οδηγήθηκε προς ανάδευση (Εικόνα 37). Από το διάλυμα που αναδεύονταν, λήφθηκε δείγμα, που φωτομετρήθηκε με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu στα 765 nm (3.2.2). Πραγματοποιήθηκαν δύο δοκιμές.



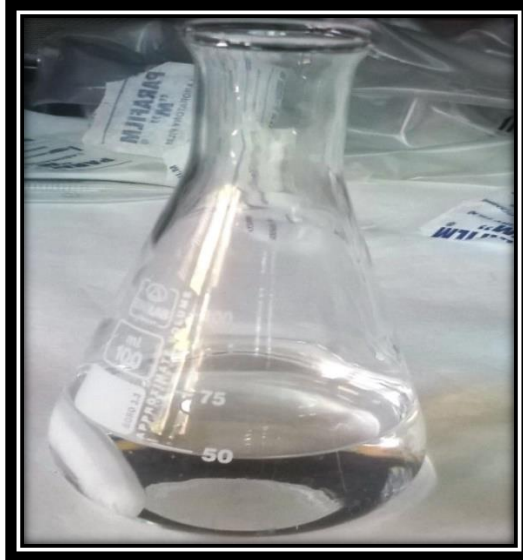
Εικόνα 36: Παρασκευή διαλύματος νερού - ναοϊών ροδιού



Εικόνα 37: Δοκιμή αποδέσμευσης ναοϊών ροδιού

### Νανοΐνες Tea Tree Oil

Ποσότητα 0,72 g ναοϊών Tea Tree Oil, θρυμματίστηκε και διαλύθηκε σε 40 mL αιθανόλη. Το προκύπτον διάλυμα (Εικόνα 38) οδηγήθηκε σε ανάδευση (Εικόνα 39). Από το αναδευόμενο διάλυμα, λήφθηκε δείγμα που φωτομετρήθηκε στα 225 nm. Για το δείγμα πραγματοποιήθηκαν δύο δοκιμές.



Εικόνα 38: Διάλυμα νανοϊνών ΤΤΟ – αιθανόλης



Εικόνα 39: Δοκιμή αποδέσμευσης νανοϊνών ΤΤΟ

### 3.2.4.3 Διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης – Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Ο σχηματισμός συμπλόκου εγκλεισμού μελετήθηκε με την τεχνική διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης [26].

Για την μελέτη των νανοϊνών με την εν λόγω μέθοδο, χρησιμοποιήθηκαν τα κάτωθι δείγματα:

- Νανοΐνες κυκλοδεξτρίνης με ογκομετρική παροχή 1 mL / h και τάση 24,1 kV,
- νανοΐνες κυκλοδεξτρίνης με ογκομετρική παροχή 0,5 mL / h και τάση 26,1 kV,



- νανοΐνες κυκλοδεξτρίνης και εκχυλίσματος ροδιού με ογκομετρική παροχή 1 mL / h και 0,5 mL / h, αντίστοιχα και τάση 24,1 kV,
- νανοΐνες κυκλοδεξτρίνης και Tee Tree Oil με ογκομετρική παροχή 0,5 mL / h και 0,4 mL / h, αντίστοιχα και τάση 26,1 kV.

Συγκεκριμένα, ποσότητα από κάθε δείγμα, περίπου 10 mg, τοποθετήθηκαν σε καψίδια αλουμινίου και μελετήθηκαν με την τεχνική της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης (Εικόνα 40).



Εικόνα 40: Μελέτη νανοϊνών με την τεχνική της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης

### 3.2.5 Προσθήκη νανοϊνών σε κρέμες προσώπου

#### Προετοιμασία δειγμάτων

Οι συνθήκες τάσης και ογκομετρικής παροχής, που επιλέχθηκαν ως βέλτιστες, χρησιμοποιήθηκαν ακολούθως για την παραγωγή ικανής για να προστεθεί σε κρέμες, ποσότητας νανοϊνών.

Έτσι, πραγματοποιήθηκε σειρά πειραμάτων για τη συλλογή δείγματος νανοϊνών κυκλοδεξτρίνης – εκχυλίσματος ροδιού και δείγματος νανοϊνών κυκλοδεξτρίνης – εκχυλίσματος Tea Tree Oil. Τα δείγματα που προέκυψαν, θρυμματίστηκαν και ακολούθως ζυγίστηκαν (Εικόνα 41).



Εικόνα 41: Νανοΐνες ΤΤΟ και ροδιού για εισαγωγή σε κρέμες

Τέλος, τα δύο δείγματα τοποθετήθηκαν στην καλλυντική κρέμα βάση. Η βάση (κρέμα χωρίς πρόσθετο) ήταν το δείγμα control (C), η κρέμα με το ρόδι το δείγμα με τον κωδικό (P) και η κρέμα με το ΤΤΟ, το δείγμα με τον κωδικό (T) (Πίνακας 2). Η περιεκτικότητα των καλλυντικών κρεμών σε εκχύλισμα ροδιού και εκχύλισμα Tea Tree Oil αντίστοιχα, ήταν 1%.

Πίνακας 2 : Κωδικοί δειγμάτων κρέμας

Κωδικός	Δείγματα
Κρέμα βάση, χωρίς πρόσθετο	CONTROL (C)
Κρέμα βάση με νανοΐνες ροδιού	POMEGRANATE (P)
Κρέμα βάση με νανοΐνες Tea Tree Oil	ΤΤΟ (T)

### 3.2.6 Χαρακτηρισμός κρεμών προσώπου

Μόλις τα τρία δείγματα (Εικόνα 42) ανοίχθηκαν για πρώτη φορά ( $t = 0$ ), πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία (C, P και T) και ακολούθως αποθηκεύθηκαν σε θαλάμους ελεγχόμενης θερμοκρασίας σε θερμοκρασίες : 5, 25 και 45°C (Εικόνα 43). Αυτό πραγματοποιήθηκε προκειμένου να ελεγχθεί η σταθερότητα των καλλυντικών προϊόντων με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης. Η θερμοκρασία αποθήκευσης των 45 °C, επιλέχθηκε ως επιταχυνόμενη συνθήκη για τη μελέτη της διάρκειας ζωής των καλλυντικών. Ακολούθως, πραγματοποιήθηκε σειρά πειραμάτων για τον χαρακτηρισμό των κρεμών.



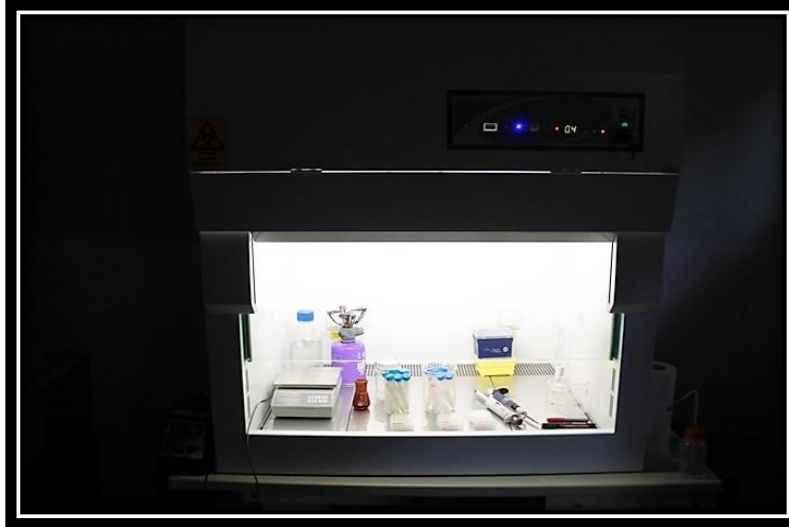
Εικόνα 42: Κρέμα βάση, κρέμα βάση με νανοϊνες ροδιού και κρέμα βάση με νανοϊνες Tea Tree Oil



Εικόνα 43: Αποθήκευση κρεμών σε θαλάμους ελεγχόμενης θερμοκρασίας

### 3.2.6.1 Μικροβιολογική ανάλυση

Για την μικροβιολογική ανάλυση αρχικά παρασκευάστηκε διάλυμα Ringer (Ringer tablet, Merck code 1.15525, Darmstadt, Germany). Έπειτα, λήφθηκε με ασηπτική διαδικασία ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα ποσότητας 1 g από την κάθε κρέμα και τοποθετήθηκε σε 9 g αποστειρωμένου διαλύματος Ringer. Έτσι, προέκυψε ένα διάλυμα αραιώσης 1:10 (Εικόνα 44). Στη συνέχεια, τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν με συσκευή vortex σε θερμοκρασία δωματίου. Σημειώνεται ότι οι συσκευασίες των κρεμών, επαλείφθηκαν με αιθανόλη πριν το άνοιγμα. Η δειγματοληψία από τις αποθηκευμένες κρέμες έγινε για χρόνους  $t = 0$ , 30 και  $t = 50$  ημέρες.



Εικόνα 44: Διαλύματα κρεμών αραιώσης 1:10 με διάλυμα Ringer για μικροβιακή ανάλυση

Εξετάστηκε η μικροβιολογική σταθερότητα των κρεμών. Αναλυτικότερα, οι κρέμες ελέχθησαν ως προς τα εξής:

Εξετάστηκαν το **Ολικό μικροβιακό φορτίο (Aerobic Plate Count (APC))**, οι **Ζύμες και Μούχλες (Yeasts/Moulds)**, όπως επίσης και η παρουσία στις κρέμες του παθογόνου βακτηρίου *Escherichia coli*. Όλα τα τρυβλία εξετάστηκαν για τα τυπικά είδη αποικιών και τα μορφολογικά χαρακτηριστικά, που σχετίζονται με το εκάστοτε μέσο ανάπτυξης. Ο αριθμός των βιώσιμων «μικροβίων» σε μία καλλιέργεια, μπορεί να εξακριβωθεί μέσω του προσδιορισμού του αριθμού των μονάδων που σχηματίζουν αποικίες cfu, με την τεχνική της καταμέτρησης των αποικιών. Για την ανάγνωση των τρυβλίων και του αριθμού των αποικιών σε αυτά, χρησιμοποιήθηκαν οι μονάδες cfu/g.

#### **Ολικό μικροβιακό φορτίο (Aerobic Plate Count – APC)**

Η μέτρηση APC δεν αναφέρεται σε ένα συγκεκριμένο μικροοργανισμό, αλλά σε ένα πλήθος μικροοργανισμών, όπως βακτήρια, ζύμες και διάφορα είδη μούχλας. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε τρυβλία, που περιείχαν το κατάλληλο θρεπτικό υλικό (Εικόνα 47) και επώαστηκαν στους 37 °C για 48 – 72 ώρες (Εικόνα 45). Μετά την επώαση, μετρήθηκε ο αριθμός των αποικιών του κάθε τρυβλίου. Στα δείγματα με μικρό αριθμό αποικιών, η μέτρηση καταγράφηκε ως <math><100 \text{ cfu/g}</math> προϊόντος.



Εικόνα 45: Επώαση των τρυβλίων με το υπόστρωμα για ανάπτυξη *E.coli* και APC στους 37 °C

### Ζύμες και Μούχλες (Yeasts/Moulds)

Τόσο οι ζύμες όσο και οι μούχλες αποτελούν είδη μυκήτων. Πολλά είδη αυτών των μυκήτων, μπορούν να προκαλέσουν σημαντικές μολύνσεις του ανοσοκατασταλτικού συστήματος. Τα δείγματα απλώθηκαν σε τρυβλία, που περιείχαν το κατάλληλο θρεπτικό υλικό (Εικόνα 47) και έπειτα από επώαση σε σκοτάδι, στους 30 °C για 3 – 5 ημέρες (Εικόνα 46), μετρήθηκε ο αριθμός των αποικιών του κάθε τρυβλίου. Οι αποικίες των ζυμών εμφανίζονται με χρώμα ρόζ. Οι μούχλες, αντιθέτως, εμφανίζονται με νηματοειδείς αποικίες διαφόρων αποχρώσεων του ροζ.



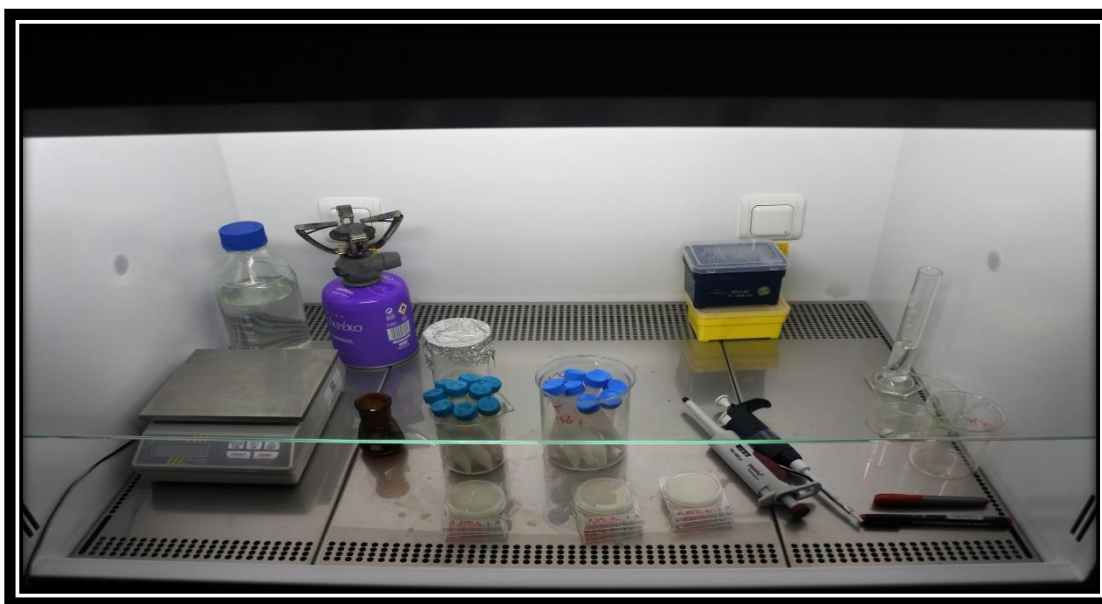
Εικόνα 46: Επώαση των τρυβλίων με το υπόστρωμα για ανάπτυξη Yeasts/ Moulds στους 30 °C

### Απεικόνιση και καταγραφή των παθογόνων μικροοργανισμών (*Escherichia coli*)

Το βακτήριο *Escherichia coli* διακρίνεται από τα υπόλοιπα κολοβακτηρίδια από τις αντιδράσεις του στην ανάπτυξη και το χρώμα κατά την παρουσία του σε ορισμένα είδη μέσων καλλιέργειας. Αποτελεί έναν παθογόνο μικροοργανισμό, αυξημένης επικινδυνότητας, καθώς μπορεί να απαντηθεί στο νερό. Το νερό, ως γνωστόν, χρησιμοποιείται σε πληθώρα βιομηχανιών, όπως αυτές των φαρμακοτροφίμων, των φαρμάκων και των καλλυντικών και

στα προϊόντα τους. Όσον αφορά στις μικροβιολογικές ενδείξεις των προϊόντων, απαιτείται η εξασφάλιση της απουσίας κολοβακτηριδίων.

Για τον προσδιορισμό της παρουσίας παθογόνων μικροοργανισμών, 1 mL καθενός απο τα αραιωμένα (με αραιώση 1:10) δείγματα, απλώθηκε σε τρυβλία, που περιείχαν το κατάλληλο θρεπτικό υλικό για την ανάπτυξη του *E. Coli* (Εικόνα 47). Για την απαρίθμηση των ειδών, τα τρυβλία επώαστηκαν στους 37 °C για 24 ώρες (Εικόνα 45).



Εικόνα 47: Δείγματα απλωμένα στα τρυβλία με θρεπτικό υλικό για APC, Y/M και *E.coli*

### 3.2.6.2 Μέτρηση pH

Με χρήση πεχαμέτρου (Multiparameter Bench Meter, Mi 180, MARTINI instruments) μετρήθηκε το pH των κρεμών για τους χρόνους  $t = 0$ ,  $t = 30$  days και  $t = 50$  days. Από το κάθε δείγμα λήφθηκε ποσότητα 1 g, η οποία διαλύθηκε σε 9 g διάλυμα Ringer, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός διαλύματος αραιώσης 1:10, του οποίου το pH μετρήθηκε με το πεχάμετρο (Εικόνα 48).



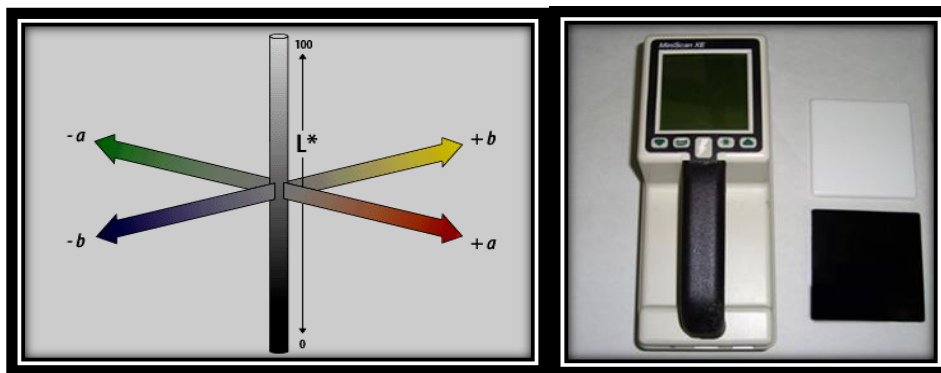
Εικόνα 48: Μέτρηση του pH των δειγμάτων κρέμας

### 3.2.6.3 Μέτρηση του χρώματος των κρεμών

Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με χρήση του φωτόμετρου MiniScan XE (Hunter Associates Laboratory Inc, Reston, Virginia), χρησιμοποιώντας το χρωματικό μοντέλο  $L^*a^*b^*$ .

Το  $L^*a^*b^*$  χρωματικό σύστημα περιγράφει την θέση ενός χρώματος στον χρωματικό χώρο των πραγματικών χρωμάτων, ο οποίος προσομοιάζει καλύτερα από όλα τα χρωματικά συστήματα ή μοντέλα στην ανθρώπινη αντίληψη των χρωματικών διαφορών. Το κάθε χρώμα περιγράφεται από 3 κανάλια ή συντεταγμένες ή παράγοντες. Στο CIE Lab χρωματικό μοντέλο ή σύστημα οι χρωματικές συντεταγμένες ή χρωματικοί παράγοντες ονομάζονται  $L^*$ ,  $a^*$  και  $b^*$ , και απεικονίζονται σε τρισδιάστατο καρτεσιανό σύστημα συντεταγμένων. Ο παράγοντας  $L^*$  (Lightness) αποθηκεύει όλη την πληροφορία φωτεινότητας της εικόνας παίρνοντας τιμές από 0 (μαύρο) έως 100 (λευκό), ενώ οι παράγοντες  $a^*$  και  $b^*$  την πληροφορία χρώματος χωρίς να υπάρχουν για αυτά κάποια αριθμητικά όρια. Η σταθερά  $a^*$  αντιστοιχεί στο κόκκινο/ πράσινο χρώμα. Θετικές τιμές του  $a^*$  ( $+a^*$ ) αντιπροσωπεύουν αποχρώσεις του κόκκινου. Αρνητικές τιμές του  $a^*$  ( $-a^*$ ) αντιπροσωπεύουν αποχρώσεις του πράσινου. Αντίστοιχα η σταθερά  $b^*$  αντιστοιχεί στο κίτρινο/μπλε. Θετικές τιμές του  $b^*$  ( $+b^*$ ) αντιπροσωπεύουν αποχρώσεις του κίτρινου ενώ αρνητικές τιμές του  $b^*$  ( $-b^*$ ) αντιπροσωπεύουν αποχρώσεις του μπλε. Με τη μέθοδο αυτή μπορεί χρησιμοποιώντας τις διαφορές  $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ , να εντοπιστούν οι διαφορές ανάμεσα σε ζεύγη δειγμάτων που είναι για παράδειγμα και τα δύο πράσινα ή και τα δύο μπλε.

Σε αυτήν την μέθοδο ανάλυσης χρώματος, το ποσό του φωτός που ανακλάται σε κάθε μήκος κύματος του ορατού φάσματος (400-700 nm), μετριέται και καταγράφεται. Η φωτεινή ανάκλαση (συνολικό ποσό αντανακλώμενου φωτός), το κυρίαρχο μήκος κύματος (πραγματικό χρώμα του δείγματος) και η ποσότητα του υπάρχοντος χρώματος, (αντίστοιχο με την χρωματική πυκνότητα) υπολογίζονται σύμφωνα με το διάγραμμα χρωματογραφίας CIE, με τη χρήση τυποποιημένης φωτεινής πηγής.



Εικόνα 49: Χρωματικό μοντέλο - Χρωματόμετρο Miniscan XE

Το χρωματόμετρο αρχικά βαθμονομείται με τη χρήση των δύο πλακιδίων λευκού και μαύρου χρώματος (Εικόνα 49). Οι συνολικές μεταβολές στο χρώμα εκφράζονται με το  $\Delta E$ , το οποίο υπολογίζεται από την παρακάτω εξίσωση:

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

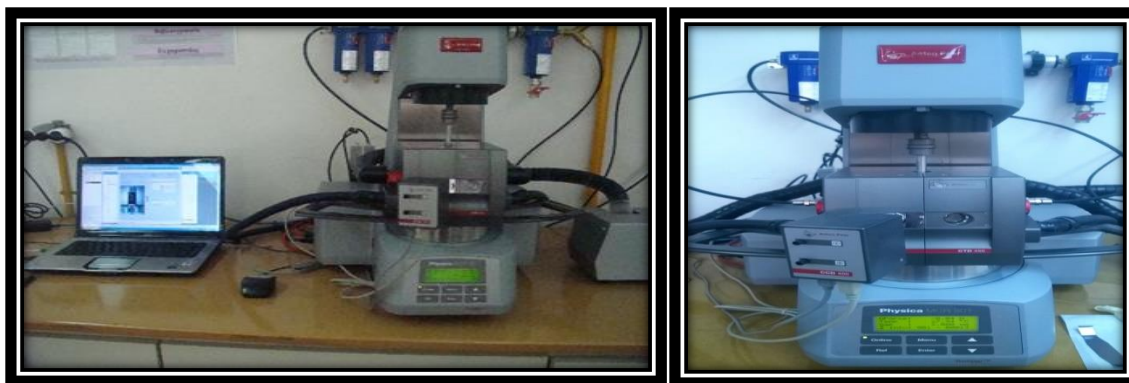
με δείγμα αναφοράς το χρώμα, που μετρήθηκε την πρώτη μέρα της δειγματοληψίας – τη χρονική στιγμή μηδέν.

#### 3.2.6.4 Δυναμική μηχανική ανάλυση (Dynamic Mechanical Analysis – DMA)

Η δυναμική μηχανική ανάλυση (Εικόνα 50) χρησιμοποιείται ευρέως για την μελέτη και τον χαρακτηρισμό των υλικών και κυρίως των ισοδοελαστικών πολυμερών. Κατά την δυναμική μηχανική ανάλυση, εφαρμόζεται μία ημιτονοειδής τάση (τάση  $\sigma$ ) στο υλικό και μετράται η μετατόπισή του, επιτρέποντας έτσι να καθοριστεί ο σύνθετος συντελεστής ελαστικότητας. Η θερμοκρασία του δείγματος ή η συχνότητα της τάσης συχνά μεταβάλλεται, οδηγώντας σε διακυμάνσεις στο σύνθετο συντελεστή ελαστικότητας. Αυτή η προσέγγιση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να εντοπίσει τη θερμοκρασία υαλώδους μεταπτώσεως του υλικού, καθώς και για τον εντοπισμό μεταβάσεων που αντιστοιχούν σε άλλες μοριακές κινήσεις.

Για ένα τέλεια ελαστικό στερεό, η προκύπτουσα τάση και η παραμόρφωση θα είναι σε τέλεια φάση. Για καθαρά ιξώδες υγρό, θα υπάρχει μια υστέρηση φάσης 90 μοιρών της τάσης σε σχέση με την παραμόρφωση [11]. Η ευαισθησία του DMA, καθώς και η ικανότητά του για μέτρηση των ιδιοτήτων μεγαλύτερων δειγμάτων (σε σχέση με το DSC) έχει οδηγήσει στην χρήση της τεχνικής σε διάφορους τομείς, συμπεριλαμβανομένων των βιολογικών υλικών. Η επεξεργασία και ο χειρισμός των διαφόρων βιομηχανικών προϊόντων (τροφίμων και καλλυντικών) επηρεάζουν σημαντικά την υφή, τη γεύση και την εμφάνιση του τελικού προϊόντος. Το DMA μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να αποκτηθούν γνώσεις σχετικά με τους παράγοντες που επηρεάζουν τη ποιότητα π.χ. των καλλυντικών μέσω της προσομοίωσης των συνθηκών επεξεργασίας [55].

Η μέτρηση του ιξώδους των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με χρήση Δυναμικής Μηχανικής Ανάλυσης. Τα δείγματα (C, P και T) τοποθετήθηκαν στην κάτω κυκλική πλάκα (διάταξη συσκευής plate – plate για την συγκεκριμένη μέτρηση ρευστών) του ρεόμετρου, (Physica MCR 301 Anton Paar DMA analyzer). Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε σταθερή συχνότητα  $\gamma$ , ίση με 0,1% και σταθερή θερμοκρασία 25 °C. Η γωνιακή συχνότητα  $\omega$ , μεταβαλλόταν σε εύρος  $10^2$  και  $10^{-1}$  rad/s. Οι μετρήσεις διεξήχθησαν πριν από την αποθήκευση (ημέρα 0), ένα μήνα και 50 ημέρες μετά την αποθήκευση σε όλες τις θερμοκρασίες αποθήκευσης (5, 25 και 45 °C). Διεξήχθησαν τουλάχιστον τρεις επαναλήψεις για το κάθε δείγμα.



Εικόνα 50 : Δυναμική Μηχανική Ανάλυση με διάταξη συσκευής plate – plate geometry



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 4.1 Χαρακτηρισμός βιοδραστικών συστατικών

#### Αντιοξειδωτική δράση εκχυλίσματος ροδιού

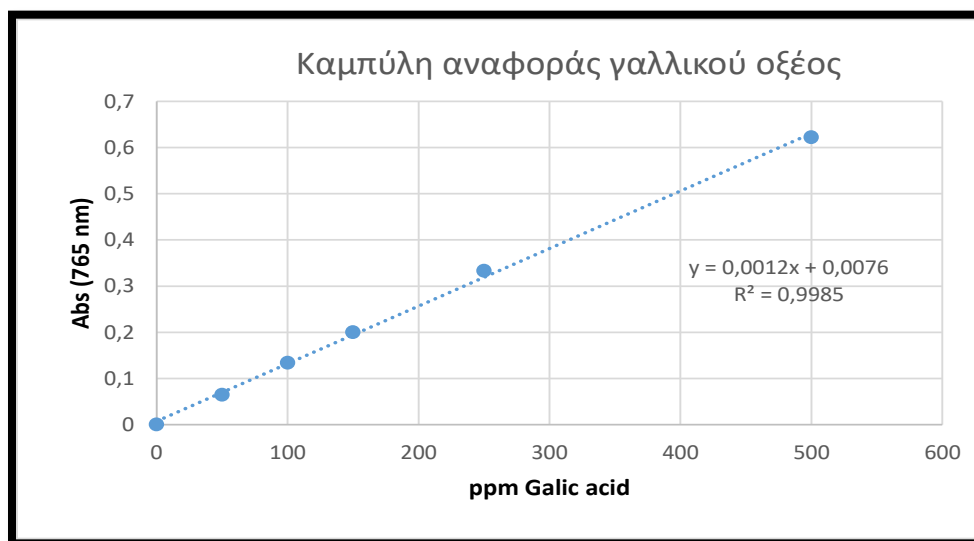
Τα δύο δείγματα, που προέκυψαν από το κοσκίνισμα των φλοιών ροδιού ζύγιζαν αντίστοιχα:

- $m_{\text{δείγματος 1(0-500 } \mu\text{m)}} = 252,1 \text{ g}$  και
- $m_{\text{δείγματος 2(500-1000 } \mu\text{m)}} = 69,9 \text{ g}$

Τα δύο αυτά δείγματα στη συνέχεια εκχυλίστηκαν και προέκυψαν αντίστοιχα δύο διαφορετικά εκχυλίσματα, τα οποία φυγοκεντρήθηκαν.

Έπειτα από τη φυγοκέντρωση των δειγμάτων, αυτά αραιώθηκαν με αραιώση 1:20, προκειμένου να είναι δυνατή η μέτρηση της απορρόφησής τους στα 765 nm.

Ο προσδιορισμός του ολικού φαινολικού φορτίου (TPC) πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu [113]. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (mg/L GAE) με χρήση της αντίστοιχης καμπύλης αναφοράς (Διάγραμμα 1).



Διάγραμμα 1: Καμπύλη αναφοράς του γαλλικού οξέος στα 765 nm

Έτσι, προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα (Πίνακας 3).

Πίνακας 3: Υπολογισμός ppm GAE στο εκχύλισμα του ροδιού

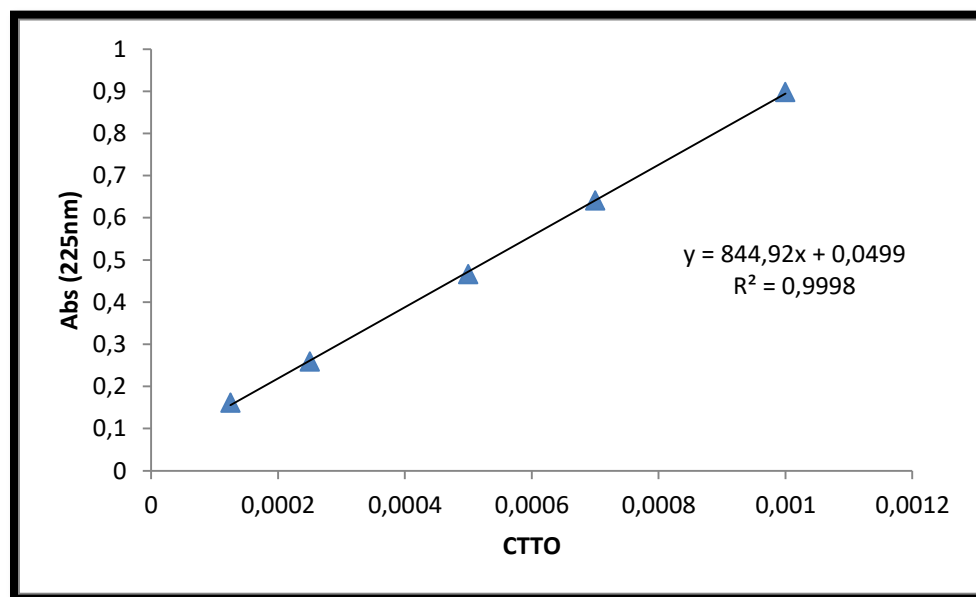
Δείγμα	Μέτρηση	Συντελεστής αραιώσης	ABS	Υπολογισμός συγκέντρωσης στο αραιωμένο	ppm GAE στο αρχικό	AVG	SD
0 - 500 $\mu\text{m}$	1	20	0,722	595,33	11906,7	12040,0	188,6
	2	20	0,738	608,67	12173,3		
500 - 1000 $\mu\text{m}$	1	20	0,727	599,50	11990,0	12006,7	23,6
	2	20	0,729	601,17	12023,3		

Στα πειράματα, που ακολούθησαν, επιλέχθηκε το εκχύλισμα ροδιού 1 (0 – 500 μm), καθώς ήταν σε μεγαλύτερη ποσότητα και επίσης είχε τα περισσότερα ppm γαλλικού οξέος (12.040,0 ppm).

#### Κατασκευή καμπύλης αναφοράς ΤΤΟ για προσδιορισμό της συγκέντρωσής του

Από το σκανάρισμα της περιοχής 190 – 1100 nm, προέκυψε ότι το ΤΤΟ παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση (0,898) στα 225 nm.

Για το μήκος κύματος αυτό (225 nm), μετρήθηκε η απορρόφηση διαλυμάτων ΤΤΟ – αιθανόλης, διαφορετικών συγκεντρώσεων. Έτσι, κατασκευάστηκε η καμπύλη αναφοράς του ΤΤΟ για τα 225 nm (Διάγραμμα 2).



Διάγραμμα 2: Καμπύλη αναφοράς ΤΤΟ

## 4.2 Εγκλεισμός βιοδραστικών συστατικών με τη μέθοδο της ηλεκτροστατικής ινοποίησης

Η δομή της κυκλοδεξτρίνης και το μοριακό της βάρος την καθιστούν ιδανική μήτρα για χρήση σε εφαρμογές εγκλεισμού, τόσο υδρόφοβων συστατικών (όπως το Tea Tree Oil), λόγω της λιπόφιλης κοιλότητάς της [39], όσο και ουσιών, που περιέχουν γαλλικό οξύ (όπως το εκχύλισμα ροδιού), στις οποίες παρέχει διευρυμένη βιοδιαθεσιμότητα [36].

Προκειμένου να βρεθεί ο βέλτιστος συνδυασμός ογκομετρικής παροχής των εκάστοτε ουσιών και επιβαλλόμενης τάσης (βέλτιστες συνθήκες παραγωγής νανοϊνών) πραγματοποιήθηκε πληθώρα δοκιμών για την κυκλοδεξτρίνη, αλλά και για καθέναν από τους δύο συνδυασμούς (κυκλοδεξτρίνη – ρόδι, κυκλοδεξτρίνη – Tea Tree Oil).

### Κυκλοδεξτρίνη

Αρχικά, κατά την αναζήτηση των βέλτιστων συνθηκών εγκλεισμού, χρησιμοποιήθηκαν υδατικά διαλύματα κυκλοδεξτρίνης διαφορετικής συγκέντρωσης (20%, 40% και 60%). Τα διαλύματα

συγκέντρωσης 20% και 40% παρουσίαζαν ασταθή ή καθόλου έγχυση και δεν σχηματιζόταν κώνος Taylor μορφολογικά αποδεκτός, για όλες τις επιβαλλόμενες τάσεις και παροχές. Έτσι, για τη συνέχεια των πειραμάτων, επιλέχθηκε το διάλυμα της κυκλοδεξτρίνης συγκέντρωσης 60%. Τα αποτελέσματα αυτά, συνάδουν, άλλωστε και με τη βιβλιογραφία, σύμφωνα με την οποία όταν η συγκέντρωση της πολυμερικής μήτρας (κυκλοδεξτρίνη) είναι πολύ χαμηλή, ο εγκλεισμός συντελείται με μεγαλύτερη δυσκολία και δημιουργούνται μικρο ή νανοσφαιρίδια (electrospraying) αντί για μικρο ή νανοΐνες (electrospinning), εξαιτίας του χαμηλού ιξώδους και της υψηλής επιφανειακής τάσης του διαλύματος. Επιπλέον, στην περίπτωση αυτή συχνά δημιουργούνται νανοδομές με μορφολογίες ανομοιογενών συσσωματωμάτων (αστοχίες – beads). Αντίθετα, όταν η συγκέντρωση είναι η κατάλληλη (60% συγκέντρωση) δημιουργείται στρώμα νανοϊνών ιδανικής μορφολογίας [55].

Ακολούθως, για το υδατικό διάλυμα κυκλοδεξτρίνης συγκέντρωσης 60%, πραγματοποιήθηκαν δοκιμές για παραγωγή νανοϊνών με εύρος τιμών για την επιβαλλόμενη τάση 10 – 29 kV και εύρος τιμών ογκομετρικής παροχής 0,4 – 1,3 mL/h.

Τα αποτελέσματα, που προέκυψαν, συνοψίζονται στον Πίνακα 4.

**Πίνακας 4: Δοκιμές επιβαλλόμενης τάσης και παροχής για το διάλυμα κυκλοδεξτρίνης συγκέντρωσης 60%**

Κυκλοδεξτρίνη		
Τάση (kV)	Παροχή (mL/h)	Παρατήρηση
19,1	0,7	Καλοσχηματισμένος κώνος Taylor, χωρίς διάρκεια στην έγχυση.
19,3	0,4	Καλοσχηματισμένος κώνος Taylor, χωρίς διάρκεια στην έγχυση.
19,3	0,5	<u>Καλοσχηματισμένος κώνος Taylor, και διάρκεια στην έγχυση.</u>
19,6	0,6	Καλοσχηματισμένος κώνος Taylor, χωρίς διάρκεια στην έγχυση.
20,2	0,8	Καλοσχηματισμένος κώνος Taylor, χωρίς διάρκεια στην έγχυση.
21,4	0,9	Μη αποδεκτό αποτέλεσμα.
22,3	1	<u>Καλοσχηματισμένος κώνος Taylor και διάρκεια στην έγχυση.</u>
28,1	1,3	Καλοσχηματισμένος κώνος Taylor και διάρκεια έγχυσης 1 min.
28,3 - 28,5	1,3	Καλοσχηματισμένος κώνος Taylor και διάρκεια έγχυσης 5 min.
28,2 - 28,5	1,2	Καλοσχηματισμένος κώνος Taylor και διάρκεια έγχυσης 5 min.

Από τις διάφορες τιμές παροχής κυκλοδεξτρίνης και επιβαλλόμενης τάσης, οι συνδυασμοί για παροχή 0,5 mL/h (για το Tea Tree Oil ως εγκλεισμένη ουσία) και 1 mL/h (για το εκχύλισμα ροδιού ως εγκλεισμένη ουσία) ήταν αυτοί, που τελικά επιλέχθηκαν, καθώς αυτοί παρουσίαζαν

καλύτερη συμπεριφορά στη συμπλοκοποίηση με τις ουσίες εγκλεισμού. Για τις ουσίες εγκλεισμού, οι παροχές, που τελικά επιλέχθηκαν, καθώς παρουσίαζαν την καλύτερη προσαρμοστικότητα στη συμπλοκοποίηση με τη μήτρα ήταν 0,4 mL/h και 0,5 mL/h για το εκχύλισμα Tea Tree Oil και το εκχύλισμα ροδιού, αντίστοιχα. Οι επιλογές αυτές της παροχής και της επιβαλλόμενης τάσης, έγιναν φυσικά μετά από έλεγχο των φαινομενικά ιδανικών δομών στο Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης – SEM (4.3.1). Τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα, που προέκυψαν από τους συνδυασμούς επιβαλλόμενης τάσης και συγκεκριμένης κάθε φορά ογκομετρικής παροχής, συνοψίζονται στους Πίνακες 5 – 7.

Πίνακας 5: Αποτελέσματα και συμπεράσματα για πειράματα διαφορετικής επιβαλλόμενης τάσης και συγκεκριμένης ογκομετρικής παροχής κυκλοδεξτρίνης και Tea Tree Oil

Ογκομετρική παροχή κυκλοδεξτρίνης = 0,5 mL/h - Ογκομετρική παροχή Tea Tree Oil = 0,4 mL/h		
Τάση(kV)	Παρατηρήσεις - Αποτέλεσμα - Σχόλια	Συμπέρασμα
10 - 11	Βαριά σταγόνα, που δεν επιτρέπει το σχηματισμό κώνου Taylor, ούτε την έγχυση υγρού.	
11,1 - 16,5	Μακρόστενος κώνος Taylor, εντελώς ασταθής και με κλίση προς τα κάτω.	
16,6 - 17,5	Λίγο καλύτερος κώνος Taylor, με κλίση όμως προς τα κάτω και πολύ μικρή διάρκεια έγχυσης.	
17,6 - 18,5	Λίγο πιο συμμετρικός κώνος, με κλίση όμως προς τα κάτω και αστάθεια.	
18,6 - 19,8	Κλίση προς τα κάτω, αλλά με την αύξηση της τάσης, ο κώνος Taylor σταδιακά ανεβαίνει. Η διάρκεια έγχυσης είναι περίπου 3 min.	<u>Μέχρι εδώ παρατηρείται σχετικά ανάλογη συμπεριφορά με την κυκλοδεξτρίνη στις αντίστοιχες τάσεις.</u>
19,9 - 20,9	Ενώ στην αρχή ο κώνος Taylor είναι πιο καλοσχηματισμένος, εδώ σταδιακά πέφτει προς τα κάτω και παρατηρούνται σχηματισμοί δυνών στο εσωτερικό του, το οποίο προφανώς οφείλεται στην εγκλεισμένη ουσία.	
21 - 21,5	Καλύτερη συμπεριφορά κώνου Taylor και έγχυσης, όπως καλύτερη ήταν και η συμπεριφορά της κυκλοδεξτρίνης στις αντίστοιχες τιμές τάσης. Βέβαια ο κώνος Taylor δεν είναι εξίσου καλός με αυτόν της κυκλοδεξτρίνης (χωρίς εγκλεισμένη ουσία) στις αντίστοιχες τιμές τάσης, που εξηγείται από το γεγονός ότι με την αύξηση του βάρους της σταγόνας, δεν στέκεται με την ίδια ευκολία.	

Πίνακας 6 (συνέχεια από Πίνακα 5): Αποτελέσματα και συμπεράσματα για πειράματα διαφορετικής επιβαλλόμενης τάσης και συγκεκριμένης ογκομετρικής παροχής κυκλοδεξτρίνης και Tea Tree Oil

21,6 - 22	Σταδιακά ο κώνος Taylor βελτιώνεται με την αύξηση της τάσης. Δεν έχει τόσο κλίση προς τα κάτω, ούτε διακόπτεται σε μεγάλο βαθμό η έγχυση. Η διάρκεια της έγχυσης με μερική αστάθεια είναι 4 min.	
22,1 - 22,5	Ο κώνος Taylor έχει πολύ ωραίο σχήμα. Ανά διαστήματα μπορεί η μορφή του να χαλαρεί, αλλά επανέρχεται πολύ γρήγορα και η έγχυση είναι ιδιαιτέρως σταθερή.	
22,6 - 25	Όσο αυξάνεται η τάση, τόσο βελτιώνεται ο κώνος Taylor και αποκτά τον ιδανικό σχηματισμό. Η διάρκεια έγχυσης συνεχώς αυξάνεται.	
25 - 26,1	Ο κώνος Taylor αποκτά τον βέλτιστο σχηματισμό και το ιδανικότερο μέγεθος. Έχει πολύ καλή κλίση (μηδενική) και έγχυση του πίδακα, που φτάνει το συλλέκτη διαρκεί για μεγάλο χρονικό διάστημα.	<u>Παρατηρείται παρόμοια συμπεριφορά με τον συνδυασμό παροχής cyclodextrin 0,4 mL/h και Tea Tree Oil 0,3 mL/h, με μεγαλύτερη όμως διάρκεια έγχυσης, για το λόγο αυτό και επειδή προτιμάται η μεγαλύτερη παροχή (, ώστε στις νανοΐνες, που θα χρησιμοποιηθούν στις κρέμες να υπάρχει μεγαλύτερη συγκέντρωση Tea Tree Oil) επιλέγεται ο συνδυασμός παροχής cyclodextrin 0,5 mL/h και Tea Tree Oil 0,4 mL/h.</u>

Πίνακας 7: Αποτελέσματα και συμπεράσματα για πειράματα διαφορετικής επιβαλλόμενης τάσης και συγκεκριμένης ογκομετρικής παροχής κυκλοδεξτρίνης και εκχυλίσματος ροδιού

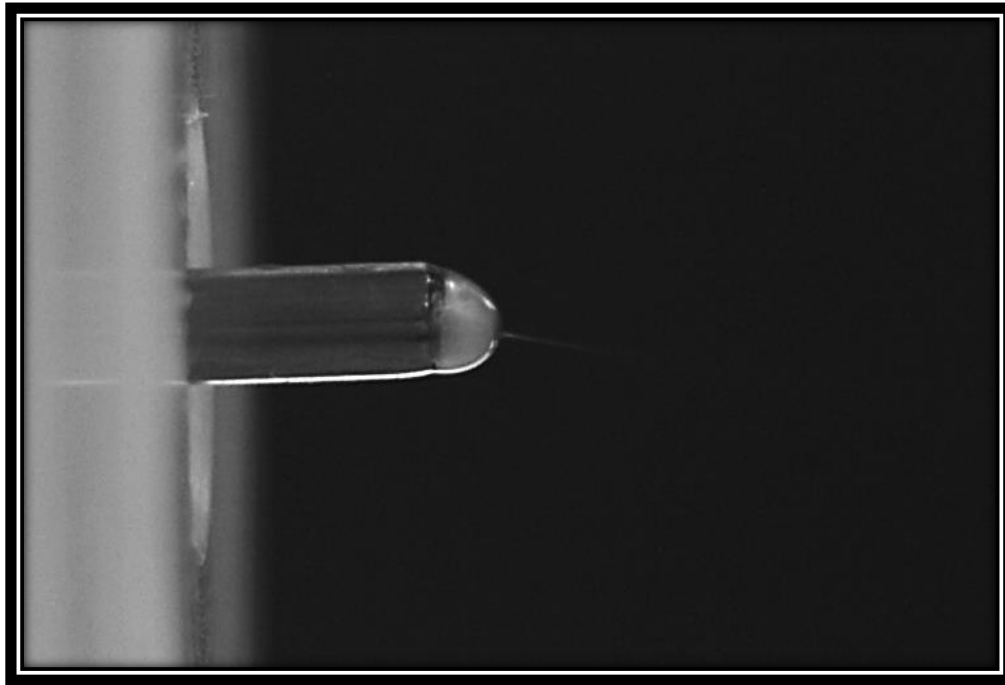
Ογκομετρική παροχή κυκλοδεξτρίνης = 1 mL/h - Ογκομετρική παροχή εκχυλίσματος ροδιού=0,5 mL/h		
Τάση(kV)	Παρατηρήσεις - Αποτέλεσμα - Σχόλια	Συμπέρασμα
10 – 18	Η σταγόνα σταδιακά ανεβαίνει, αλλά δεν εγχύεται ουσία από το ακροφύσιο.	
18 - 20,6	Αρχίζει η έγχυση και όσο αυξάνεται η τάση το φαινόμενο αυτό (έγχυση πίδακα υγρού) συντελείται όλο και πιο γρήγορα. Ωστόσο, ο κώνος Taylor δεν είναι καθόλου σταθερός και ως εκ τούτου η έγχυση δεν είναι συνεχής.	
20,6 - 20,9	Ο κώνος Taylor σταδιακά σταθεροποιείται και η έγχυση διαρκεί για 3 min συνεχόμενα. Μετά από τα 3 min (όπου παρατηρείται μερική αστάθεια του κώνου) η έγχυση είναι συνεχόμενη και έχει ακόμη μεγαλύτερη διάρκεια.	<u>Για την τάση αυτή και παροχή cyclodextrin ίδια (χωρίς εγκλεισμένη ουσία), παρατηρείται ανάλογη συμπεριφορά της κυκλοδεξτρίνης.</u>
20,9 - 23,3	Όσο αυξάνεται η τάση, ο σχηματισμός του κώνου Taylor παραδόξως χειροτερεύει και η έγχυση δεν διαρκεί για αρκετό χρόνο.	
23,3 - 26,1	Με την περαιτέρω αύξηση της τάσης ο κώνος Taylor είναι καλοσχηματισμένος και η έγχυση είναι σταθερή. Η μορφολογία του κώνου Taylor ανά διαστήματα αλλοιώνεται, αλλά μετά επανέρχεται σε ιδανική δομή και έχει μεγάλη διάρκεια.	<u>Επιλέγεται λοιπόν αυτό το εύρος τιμών τάσης (και συγκεκριμένα η τάση 24,1 kV), καθώς η έγχυση διαρκεί για περισσότερο χρόνο από τις ανωτέρω μετρήσεις και ο κώνος Taylor παρουσιάζει την ιδανική δομή.</u>

Από τα αποτελέσματα των Πινάκων 5 – 7, παρατηρείται ότι με την αύξηση της επιβαλλόμενης τάσης, στο ακροφύσιο παρατηρούνταν κατά βάση οι αναμενόμενες (σύμφωνα με τη βιβλιογραφία) μορφολογίες του εγχυόμενου υγρού. Επιπλέον, μόνο σε ένα πολύ συγκεκριμένο εύρος τιμών επιβαλλόμενης τάσης ο κώνος Taylor, από τον οποίο εγχυόταν το παραγόμενο προϊόν, ήταν σταθερός [53], [67], [68].

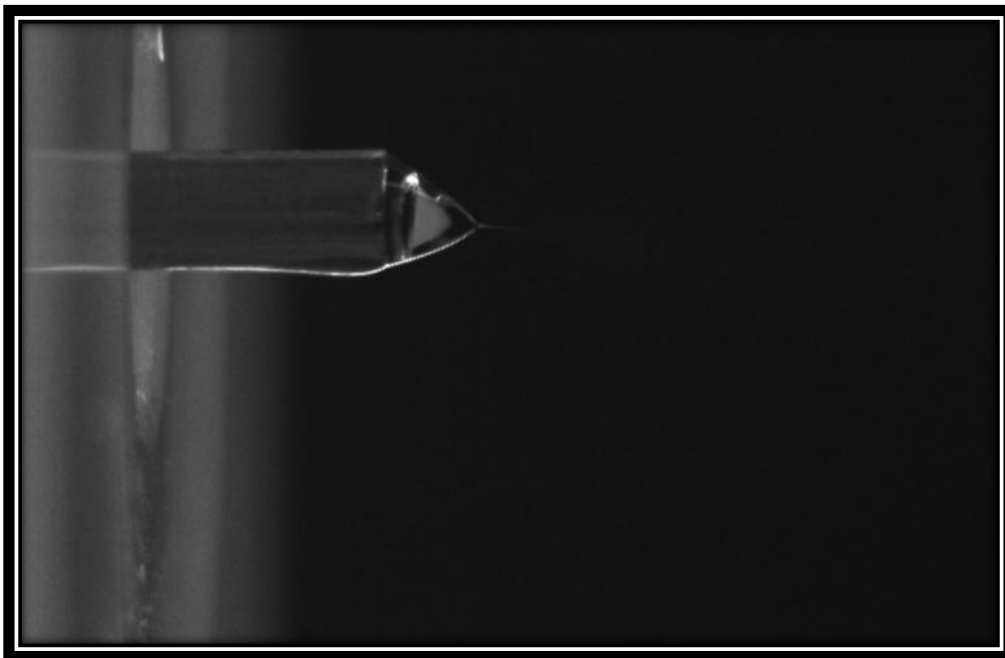
Επιπλέον, όσον αφορά στην ογκομετρική παροχή, οι συνθήκες παροχής των δύο ρευστών, με τις οποίες ο κώνος Taylor ήταν σταθερός και η έγχυση ήταν σταθερή, ήταν πολύ συγκεκριμένες [69].

Σημειώνεται, τέλος, ότι στις περιπτώσεις αυξημένης θερμοκρασίας στο θάλαμο ινοποίησης, ο κώνος Taylor και η έγχυση, παρουσίαζαν σχετική αστάθεια [16].

Στις Εικόνες 51 και 52, παρουσιάζεται η μορφολογία του κώνου Taylor για τις επιλεγόμενες παροχές μήτρας – εγκλεισμένης ουσίας και την εκάστοτε επιλεγόμενη, επιβαλλόμενη τάση.



Εικόνα 51: Κώνος Taylor και έγχυση, για παροχή κυκλοδεξτρίνης 1 mL/h και παροχή εκχυλίσματος ροδιού 0,5 mL/h με επιβαλλόμενη τάση 24,1 kV

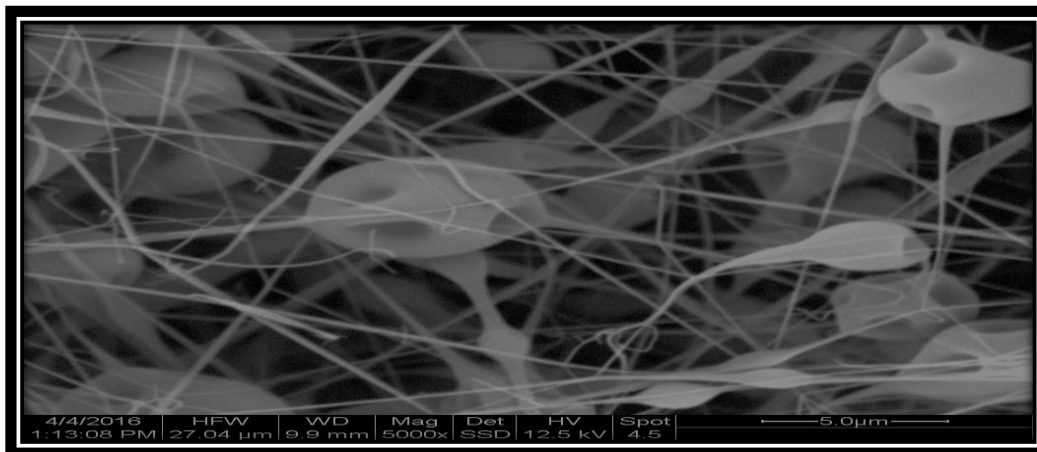


Εικόνα 52: Κώνος Taylor και έγχυση, για παροχή κυκλοδεξτρίνης 0,5 mL/h και παροχή εκχυλίσματος Tea Tree Oil 0,4 mL/h με επιβαλλόμενη τάση 26,1 kV

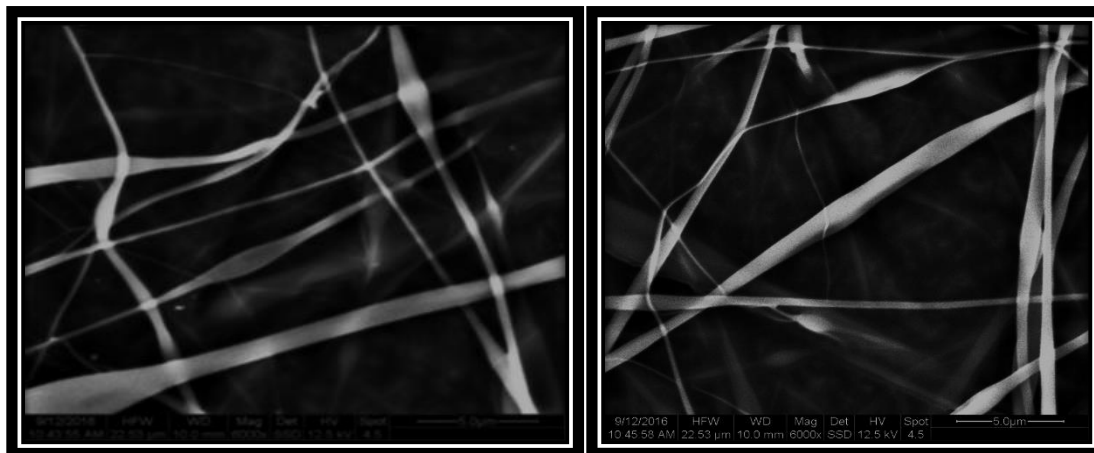
### 4.3 Χαρακτηρισμός νανοϊνών

#### 4.3.1 Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης – Scanning Electron Microscopy (SEM)

Στις Εικόνες 53 – 61, παρουσιάζεται η μορφολογία μερικών δειγμάτων νανοϊνών, που παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο και εξετάστηκαν στο Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (Scanning Electron Microscope – SEM).

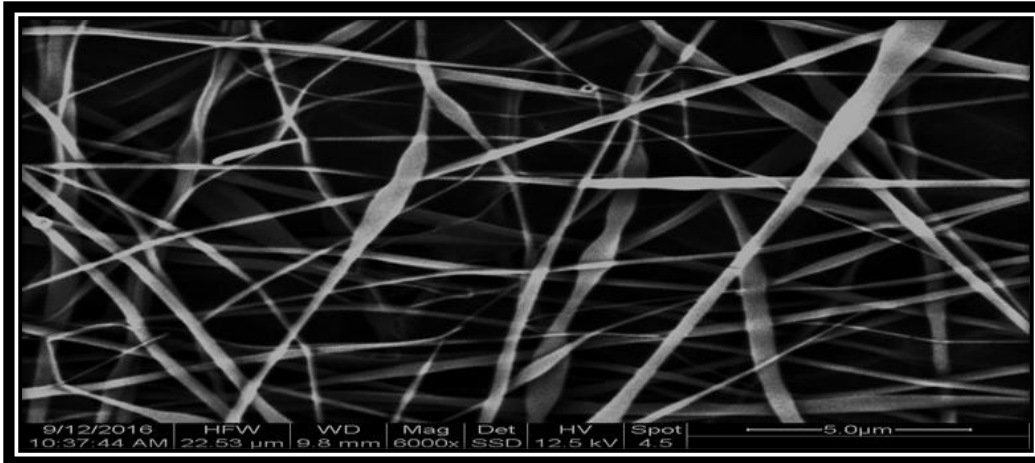


Εικόνα 53: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλοδεξτρίνης με επιβαλλόμενη τάση 28,5 kV και παροχή 1,3 mL/h (5000x)

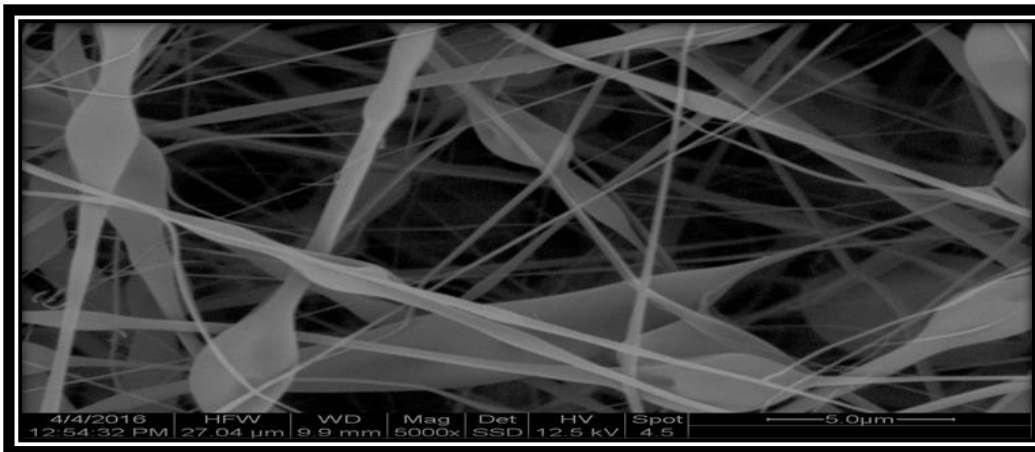


Εικόνα 54: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλοδεξτρίνης με επιβαλλόμενη τάση 21 kV και παροχή 0,4 mL/h (6000x)

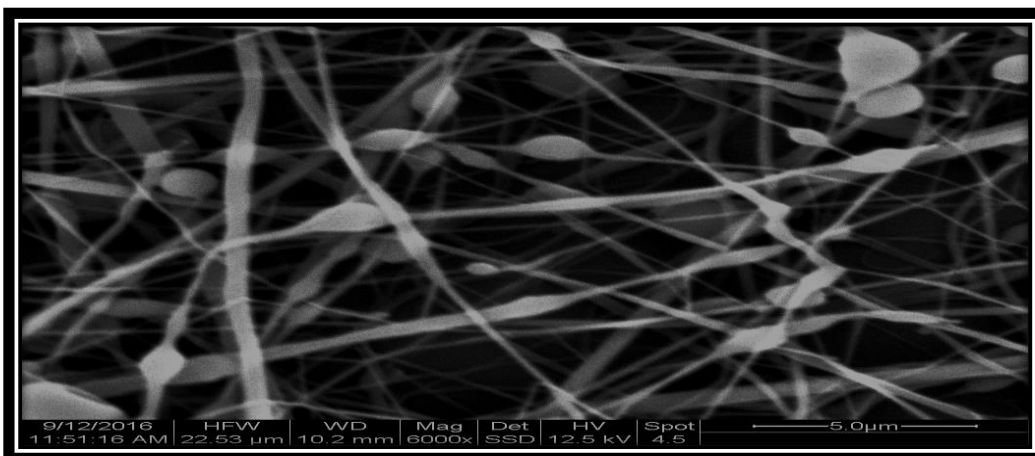




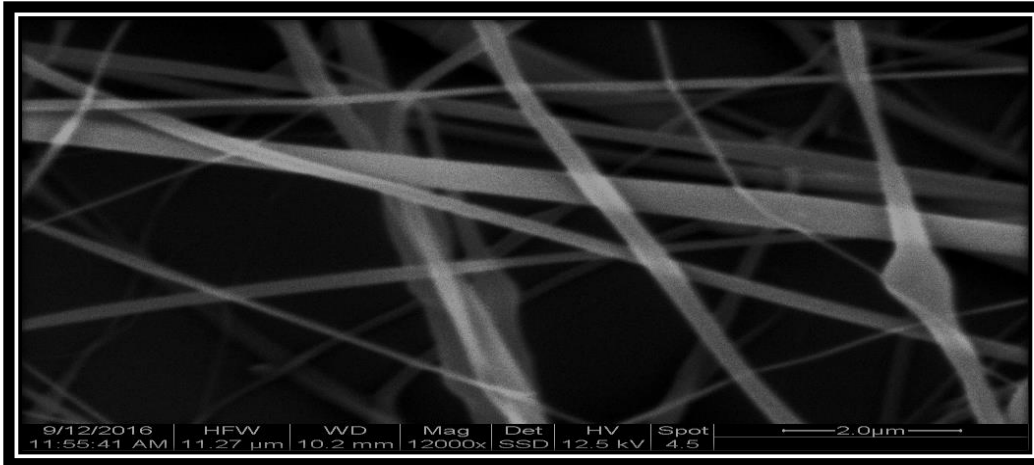
Εικόνα 55: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλ. με επιβαλλόμενη τάση 26,1 kV και παροχή 0,5 mL/h (6000x)



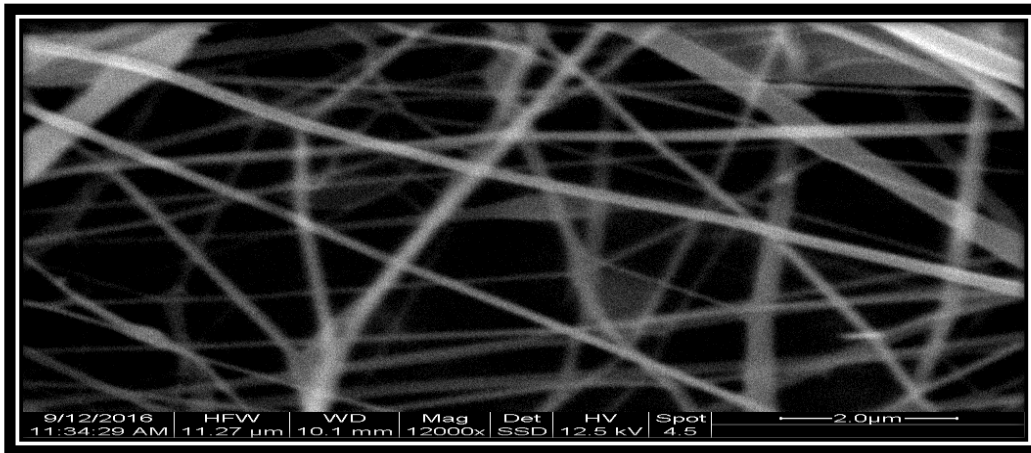
Εικόνα 56: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλοδεξτρίνης - Tea Tree Oil, με επιβαλλόμενη τάση 28,4 kV και παροχές κυκλοδεξτρίνης και Tea Tree Oil 1,3 mL/h και 0,3 mL/h αντίστοιχα (5000x)



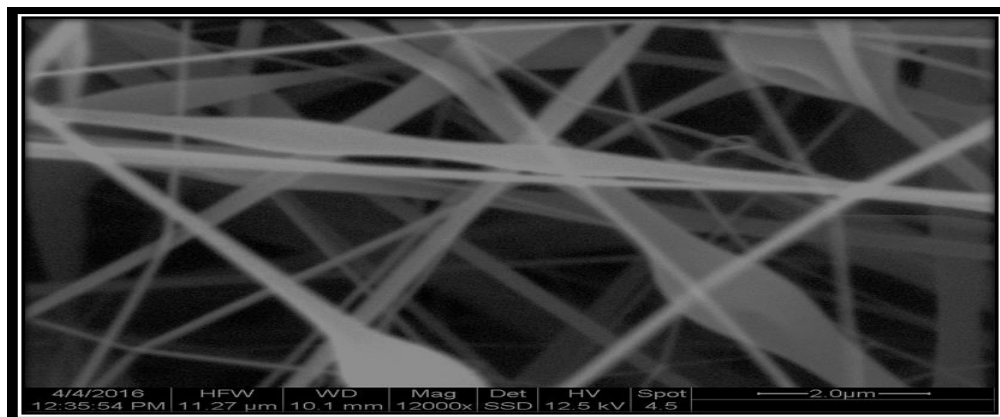
Εικόνα 57: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλοδεξτρίνης - Tea Tree Oil, με επιβαλλόμενη τάση 21 kV και παροχές κυκλοδεξτρίνης και Tea Tree Oil 0,4 mL/h και 0,3 mL/h αντίστοιχα (6000x)



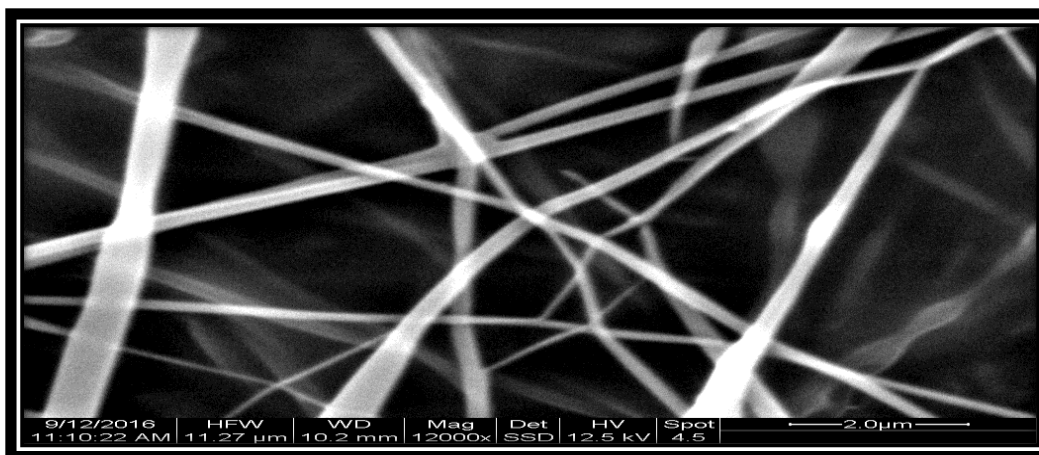
Εικόνα 58: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλοδεξτρίνης - Tea Tree Oil, με επιβαλλόμενη τάση 21 kV και παροχές κυκλοδεξτρίνης και Tea Tree Oil 0,4 mL/h και 0,3 mL/h αντίστοιχα (12000x)



Εικόνα 59: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλοδεξτρίνης - Tea Tree Oil, με επιβαλλόμενη τάση 26,1 kV και παροχές κυκλοδεξτρίνης και Tea Tree Oil 0,5 mL/h και 0,4 mL/h αντίστοιχα (12000x)



Εικόνα 60: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλοδεξτρίνης – εκχυλίσματος ροδιού, με επιβαλλόμενη τάση 28,5 kV και παροχές κυκλοδεξτρίνης και εκχυλίσματος ροδιού 1,5 mL/h και 0,5 mL/h αντίστοιχα (12000x)



Εικόνα 61: Φωτογραφία από ανάλυση SEM για νανοϊνες κυκλοδεξτρίνης – εκχυλίσματος ροδιού, με επιβαλλόμενη τάση 24,1 kV και παροχές κυκλοδεξτρίνης και εκχυλίσματος ροδιού 1 mL/h και 0,5 mL/h αντίστοιχα (12000x)

Οι Εικόνες 59 και 61, αντιστοιχούν στις συνθήκες εγκλεισμού, που επιλέχθηκαν για τη δημιουργία των νανοϊνών, που χρησιμοποιήθηκαν στις καλλυντικές κρέμες. Από τη σύγκριση των Εικόνων αυτών με τις υπόλοιπες Εικόνες (Εικόνες 53 – 58, 60), προκύπτει αρχικά, ότι οι μεγάλες τιμές της ογκομετρικής παροχής, οδηγούν στην δημιουργία μορφολογιών με ανομοιογενή συσσωματώματα (αστοχίες – beads). Επιπλέον, προκύπτει ότι με αύξηση της επιβαλλόμενης τάσης το πλέγμα των ινών γίνεται πιο πυκνό και ενίοτε αυξάνονται οι μορφολογίες ανομοιογενών συσσωματωμάτων (αστοχίες – beads). Τα αποτελέσματα αυτά, συμφωνούν με τη βιβλιογραφία [41], [62], [67].

#### 4.3.2 Ποσοστό εγκλεισμού

##### (α) Νανοϊνες ροδιού

##### Υπολογισμός της ποσότητας που φτάνει στο μεταλλικό στόχο

Από τη φωτομέτρηση του διαλύματος του εκχυλίσματος ροδιού για τον υπολογισμό της ποσότητας (εγκλεισμένης και μη), που φτάνει το μεταλλικό στόχο, προέκυψε ότι όλη η ποσότητα εκχυλίσματος ροδιού, που χρησιμοποιήθηκε (0,5 mL/h), φτάνει στο συλλέκτη.

##### Υπολογισμός μη εγκλεισμένης ποσότητας που φτάνει στο μεταλλικό στόχο

Από τη φωτομέτρηση των δειγμάτων του διαλύματος που αναδευόταν, προέκυψαν τα αποτελέσματα του Πίνακα 8 :

Πίνακας 8: Υπολογισμός ppm GAE του εκχυλίσματος ροδιού, που δεν εγκλεισθηκε

Δείγμα	Μέτρηση	Συντελεστής αραιώσης	ABS	Υπολογισμός συγκέντρωσης στο αραιωμένο	ppm GAE στο αρχικό	AVG	SD
εκχύλισμα ροδιού (μη εγκλεισμένο)	1	23	0,34	277,0	6371,0	6342,3	40,65864
	2	23	0,337	274,5	6313,5		

Το ποσοστό εγκλεισμού του εκχυλίσματος ροδιού στις ίνες, υπολογίστηκε από τη Σχέση (1).

$$\text{Ποσοστό εγκλεισμού (\%)} = 1 - \frac{\text{ppm μη εγκλεισμένου GAE στις ναοΐνες}}{\text{ppm GAE στο αρχικό εκχύλισμα ροδιού (πριν τον εγκλεισμό)}} \% \quad (1)$$

Το ποσοστό εγκλεισμού του εκχυλίσματος ροδιού στις ναοΐνες ήταν ίσο με 48%.

### (β) Ναοΐνες Tea Tree Oil

#### **Υπολογισμός της ποσότητας που φτάνει στο μεταλλικό στόχο**

Από τη φωτομέτρηση του διαλύματος του εκχυλίσματος Tea Tree Oil για τον υπολογισμό της ποσότητας (εγκλεισμένης και μη), που φτάνει το μεταλλικό στόχο, προέκυψε ότι όλη η ποσότητα εκχυλίσματος ΤΤΟ, που χρησιμοποιήθηκε (0,4 mL/h), φτάνει στο συλλέκτη.

#### **Υπολογισμός ποσοστού εγκλεισμού Tea Tree Oil**

Ομοίως με το εκχύλισμα του ροδιού και χρησιμοποιώντας την καμπύλη αναφοράς του ΤΤΟ για τις απορροφήσεις των δειγμάτων στα 225 nm, που λήφθηκαν από το αναδευόμενο διάλυμα, προέκυψε το ποσοστό εγκλεισμού των ναοΐνων ΤΤΟ, από τη Σχέση (2).

$$\text{Ποσοστό εγκλεισμού (\%)} = 1 - \frac{\text{Συγκέντρωση μη εγκλεισμένου ΤΤΟ στις ναοΐνες}}{\text{Συγκέντρωση διαλύματος ΤΤΟ (πριν τον εγκλεισμό)}} \% \quad (2)$$

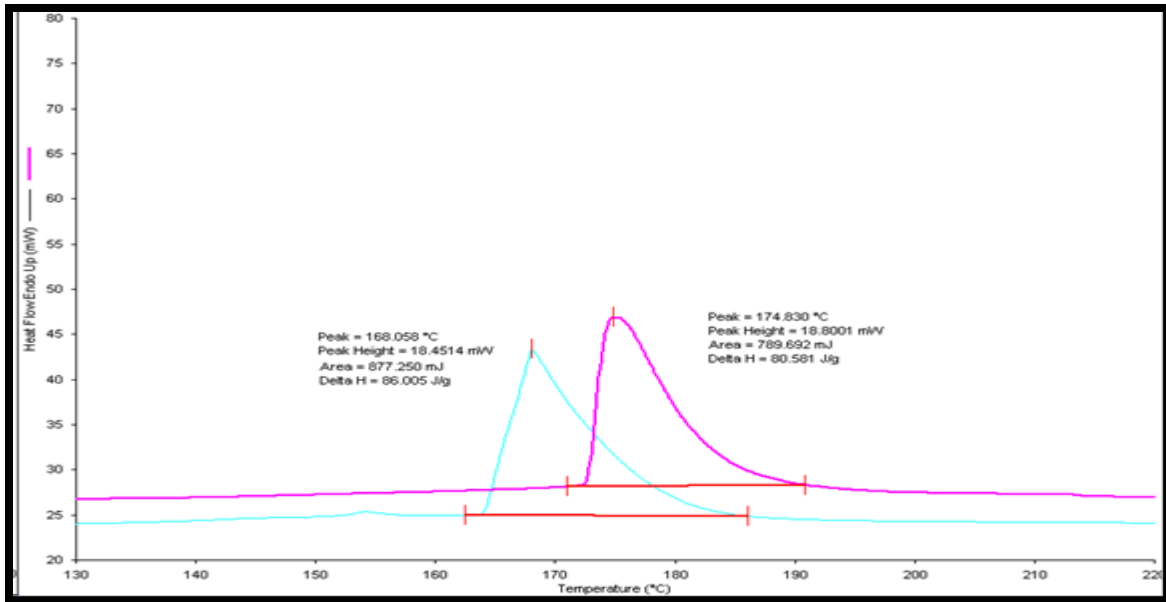
Το ποσοστό εγκλεισμού του εκχυλίσματος Tea Tree Oil στις ναοΐνες ήταν ίσο με 75%.

Από τα παραπάνω, παρατηρείται ότι το ποσοστό εγκλεισμού του εκχυλίσματος ροδιού στις ναοΐνες είναι αρκετά μικρότερο από το ποσοστό εγκλεισμού του εκχυλίσματος ΤΤΟ στις αντίστοιχες ναοΐνες.

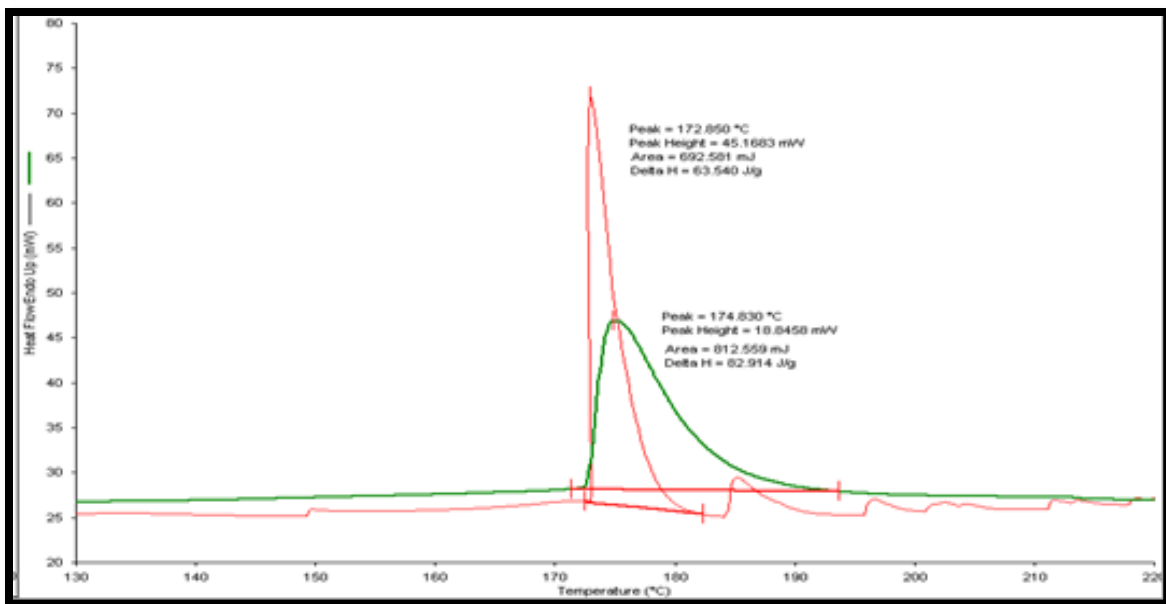
Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι η κυκλοδεξτρίνη (μήτρα των δύο ουσιών, που εγκλείστηκαν στις ναοΐνες) είναι μία ουσία της οποίας η υδροφοβική, λιπόφιλη κοιλότητα, επιτρέπει το σχηματισμό συμπλόκων εγκλεισμού με υδροφοβικές ενώσεις [39]. Δεδομένου, λοιπόν ότι το Tea Tree Oil είναι έλαιο (υδροφοβική ένωση) είναι αναμενόμενο η κυκλοδεξτρίνη να σχηματίζει με αυτό σταθερότερο σύμπλοκο εγκλεισμού. Αντιθέτως, το εκχύλισμα ροδιού είναι υδατικό διάλυμα, επομένως δεν ευνοείται η δημιουργία σταθερού συμπλόκου εγκλεισμού με την κυκλοδεξτρίνη.

#### *4.3.3 Διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης – Differential Scanning Calorimetry (DSC)*

Από την ανάλυση με τη μέθοδο της Διαφορικής Θερμιδομετρίας σάρωσης, προέκυψαν τα Διαγράμματα 3 και 4.



Διάγραμμα 3: Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC) για τις νανοΐνες εκχυλίσματος ροδιού



Διάγραμμα 4: Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC) για τις νανοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil

Στο Διάγραμμα 3, η καμπύλη χρώματος μωβ αντιστοιχεί στις νανοΐνες κυκλοδεξτρίνης με ογκομετρική παροχή 1 mL / h και επιβαλλόμενη τάση 24,1 kV (συνθήκες εγκλεισμού του εκχυλίσματος ροδιού). Η καμπύλη χρώματος μπλε, αντιστοιχεί στις νανοΐνες κυκλοδεξτρίνης – εκχυλίσματος ροδιού με επιβαλλόμενη τάση 24,1 kV και ογκομετρική παροχή 1 mL / h και 0,5 mL / h, αντίστοιχα.

Στο Διάγραμμα 4, η καμπύλη χρώματος πράσινου αντιστοιχεί στις ναοΐνες κυκλοδεξτρίνης με ογκομετρική παροχή 0,5 mL / h και επιβαλλόμενη τάση 26,1 kV (συνθήκες εγκλεισμού του εκχυλίσματος Tea Tree Oil). Η καμπύλη χρώματος κόκκινου, αντιστοιχεί στις ναοΐνες κυκλοδεξτρίνης – εκχυλίσματος Tea Tree Oil με επιβαλλόμενη τάση 26,1 kV και ογκομετρική παροχή 0,5 mL / h και 0,4 mL / h, αντίστοιχα.

Τα αποτελέσματα, που προκύπτουν από τα Διαγράμματα 3 και 4, συνοψίζονται στον Πίνακα 9.

**Πίνακας 9: Σημεία τήξης των εξεταζόμενων ναοϊνών**

<b>Δείγμα</b>	<b>Σημ. τήξης - Tm (°C)</b>
Ίνες κυκλ. ( 1 mL / h ; 24,1 kV)	174,830
Ίνες κυκλ. - εκχ. ροδιού ( 1 mL / h - 0,5 mL / h; 24,1 kV)	168,058
Ίνες κυκλ. ( 0,5 mL / h ; 26,1 kV)	174,830
Ίνες κυκλ. - εκχ. ΤΤ0 ( 0,5 mL / h - 0,4 mL / h; 26,1 kV)	172,850

Όπως φαίνεται από τα Διαγράμματα 3 και 4 και τον Πίνακα 8, οι εγκλεισμένες ουσίες δεν επηρεάζουν σημαντικά τη συμπεριφορά της κυκλοδεξτρίνης κατά την τήξη της, καθώς το σημείο τήξης της δεν μεταβάλλεται ιδιαίτερα κατά τον εγκλεισμό και η καμπύλη των ναοϊνών που περιέχουν κυκλοδεξτρίνη και ρόδι (Διάγραμμα 3 – μπλε καμπύλη) και των ναοϊνών που περιέχουν κυκλοδεξτρίνη και Tea Tree Oil (Διάγραμμα 4 – πράσινη καμπύλη) δεν παρουσιάζουν σημαντική διαφορά με τις αντίστοιχες καμπύλες των ναοϊνών κυκλοδεξτρίνης.

Επιπλέον, παρατηρείται ότι οι διαφορετικές συνθήκες παροχής και επιβαλλόμενης τάσης, δεν επηρεάζουν το σημείο τήξης της κυκλοδεξτρίνης.

Τέλος, επισημαίνεται ότι το σημείο τήξης των ινών κυκλοδεξτρίνης, έχει πιο κοντινή τιμή στο σημείο τήξης του συμπλόκου εγκλεισμού κυκλοδεξτρίνη – έκχυλισμα Tea Tree Oil από ότι σε αυτό του συμπλόκου εγκλεισμού κυκλοδεξτρίνη – εκχύλισμα ροδιού. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει την καλύτερη συμβατότητα στη συμπλοκοποίηση του εκχυλίσματος ελαίου, Tea Tree Oil με την κυκλοδεξτρίνη σε σχέση με το υδατικό εκχύλισμα ροδιού με την κυκλοδεξτρίνη (υδροφοβική, λιπόφιλη κοιλότητα κυκλοδεξτρίνης).

## **4.4 Χαρακτηρισμός κρεμών προσώπου**

### *4.4.1 Μικροβιολογική ανάλυση*

Τα αποτελέσματα των μικροβιακών αναλύσεων των δειγμάτων των κρεμών προσώπου για τους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης (30 και 50 ημέρες) και τις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης (5, 25 και 45°C) παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες (Πίνακες 10 – 15).

Αξίζει να σημειωθεί ότι στις μετρήσεις, που πραγματοποιήθηκαν στις κρέμες πριν την αποθήκευσή τους (ημέρα 0) δεν υπήρξε μικροβιακό φορτίο.

Πίνακας 10: Μετρήσεις των βακτηρίων στις κρέμες που αποθηκεύτηκαν στους 5 °C για διάστημα 30 ημερών

Δείγμα	Ολικό μικροβιακό φορτίο(APC)	Ζύμες/ Μούχλες (Yeasts/ Molds)	<i>E. coli</i>
C	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g
P	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g
T	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g

Πίνακας 11: Μετρήσεις των βακτηρίων στις κρέμες που αποθηκεύτηκαν στους 5 °C για διάστημα 50 ημερών

Δείγμα	Ολικό μικροβιακό φορτίο(APC)	Ζύμες/ Μούχλες (Yeasts/ Molds)	<i>E. coli</i>
C	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g
P	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g
T	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g

Πίνακας 12: Μετρήσεις των βακτηρίων στις κρέμες που αποθηκεύτηκαν στους 25 °C για διάστημα 30 ημερών

Δείγμα	Ολικό μικροβιακό φορτίο(APC)	Ζύμες/ Μούχλες (Yeasts/ Molds)	<i>E. coli</i>
C	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g
P	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g
T	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g

Πίνακας 13: Μετρήσεις των βακτηρίων στις κρέμες που αποθηκεύτηκαν στους 25 °C για διάστημα 50 ημερών

Δείγμα	Ολικό μικροβιακό φορτίο(APC)	Ζύμες/ Μούχλες (Yeasts/ Molds)	<i>E. coli</i>
C	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g
P	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g
T	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g

Πίνακας 14: Μετρήσεις των βακτηρίων στις κρέμες που αποθηκεύτηκαν στους 45 °C για διάστημα 30 ημερών

Δείγμα	Ολικό μικροβιακό φορτίο(APC)	Ζύμες/ Μούχλες (Yeasts/ Molds)	<i>E. coli</i>
C	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g
P	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g
T	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g

Πίνακας 15: Μετρήσεις των βακτηρίων στις κρέμες που αποθηκεύτηκαν στους 45 °C για διάστημα 50 ημερών

Δείγμα	Ολικό μικροβιακό φορτίο(APC)	Ζύμες/ Μούχλες (Yeasts/ Molds)	<i>E. coli</i>
C	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g
P	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g
T	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g	Absence/ g

Από τους παραπάνω πίνακες αποτελεσμάτων (Πίνακες 10 – 15) για την επώαση των δειγμάτων, προκύπτει ότι τα δείγματα ήταν μικροβιολογικά σταθερά, καθώς δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη αλλοιογόνων ή παθογόνων βακτηρίων κατά τη διάρκεια των 50 ημερών αποθήκευσής τους. Επιπλέον, προκύπτει ότι η θερμοκρασία αποθήκευσης (5, 25 και 45 °C) και η προσθήκη των ναοινών, δεν επηρεάζουν το μικροβιακό φορτίο των καλλυντικών κρεμών.

Τα καλλυντικά σκευάσματα αποτελούν ευνοϊκό περιβάλλον για μικροβιακή ανάπτυξη, λόγω του νερού, των μεταλλικών στοιχείων και των βιταμινών, που περιέχουν. Άλλωστε, η θερμοκρασία συντήρησής τους, το pH και το οξυγόνο συντελούν επίσης στην ανάπτυξη μικροοργανισμών [115]. Κατά τη διάρκεια της παραγωγής των καλλυντικών προϊόντων, αυτά εκτίθενται σε πληθώρα μολυσματικών παραγόντων. Οι καλλυντικές βιομηχανίες επιδιώκουν, λοιπόν, την κατασκευή καλλυντικών προϊόντων μηδενικής πιθανότητας μικροβιακής ανάπτυξης [116]. Στη διατήρηση των πιθανοτήτων μικροβιακής ανάπτυξης στα καλλυντικά προϊόντα σε μηδενικά ποσοστά, συμβάλλει σημαντικά η χρήση πρώτων υλών χαμηλού μικροβιακού φορτίου, καθώς (οι πρώτες ύλες) μπορεί πολύ εύκολα να οδηγήσουν σε μικροβιακή μόλυνση των προκύπτουσων καλλυντικών προϊόντων.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, δεδομένου ότι παρά την πιθανή επιμόλυνση των καλλυντικών κρεμών κατά την εισαγωγή σε αυτές των ναοινών ροδιού και Tea Tree Oil, οι κρέμες δεν εμφάνισαν μικροβιακό φορτίο συμπεραίνεται, αρχικά ότι η σύστασή τους ήταν ιδανική.

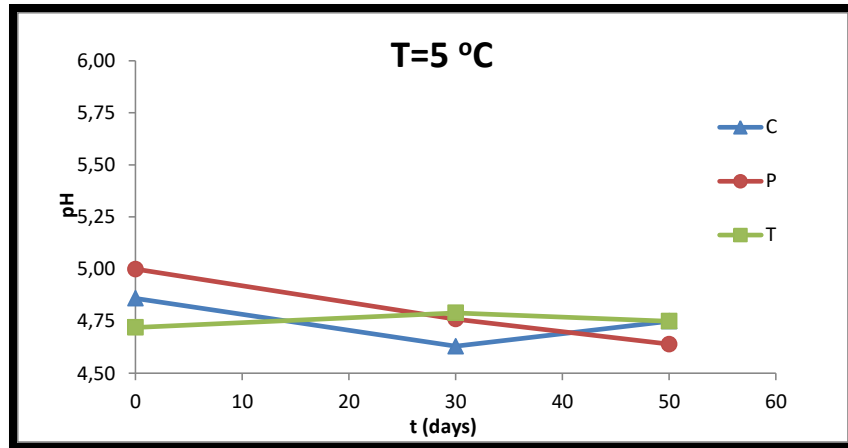
Σημειώνεται επίσης ότι, η χρήση των αντιμικροβιακών, αντισηπτικών και αντιοξειδωτικών ουσιών (εκχύλισμα Tea Tree Oil και εκχύλισμα ροδιού αντίστοιχα) πιθανώς να συνέβαλλε στην μικροβιολογική σταθερότητα των δειγμάτων.

Τα παραπάνω αποτελέσματα, που είναι σύμφωνα με αντίστοιχες μελέτες σε καλλυντικά προϊόντα [115], υποδεικνύουν ότι όσον αφορά στο μικροβιακό φορτίο και οι τρεις κρέμες συνάδουν με τα πρότυπα ασφάλειας και συνθηκών υγιεινής και ποιότητας των καλλυντικών προϊόντων κατά την επεξεργασία και την αποθήκευσή τους [117], [118].

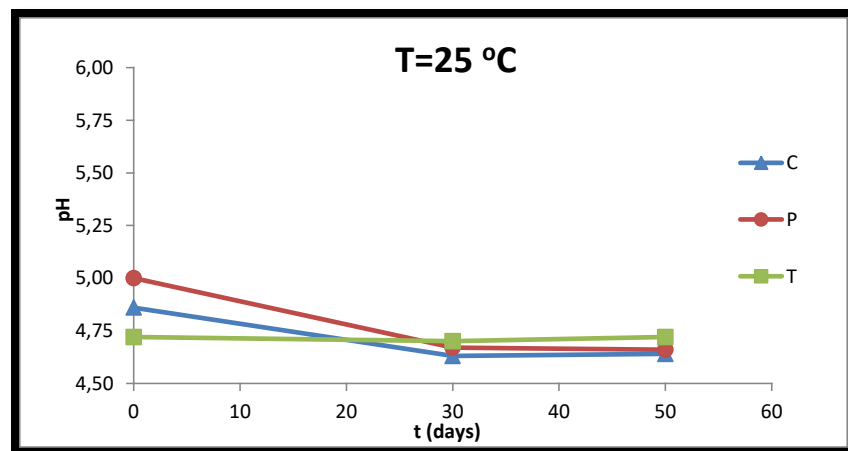
#### 4.4.2 Μέτρηση pH

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων του pH των δειγμάτων των κρεμών προσώπου για τους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης (30 και 50 ημέρες) και τις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης (5, 25 και 45 °C) παρουσιάζονται στα Διαγράμματα 5 – 7.

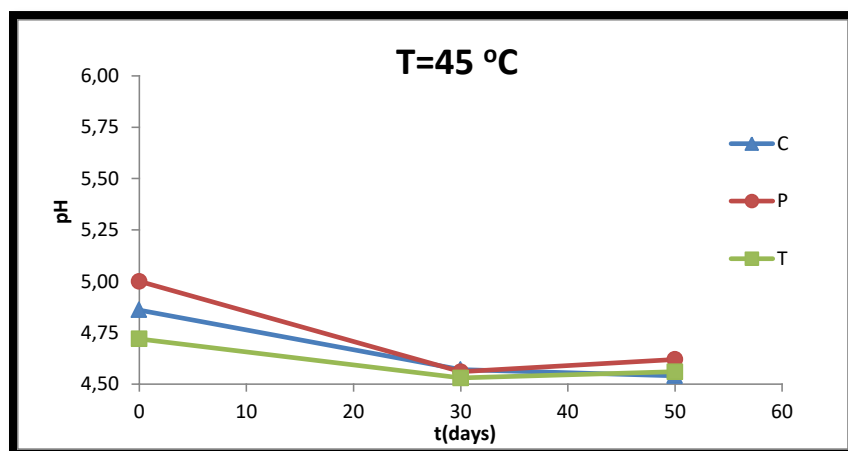




Διάγραμμα 5: pH των τριών κρεμών για θερμοκρασία αποθήκευσης 5 °C και διάρκεια αποθήκευσης 50 ημέρες



Διάγραμμα 6: pH των τριών κρεμών για θερμοκρασία αποθήκευσης 25 °C και διάρκεια αποθήκευσης 50 ημέρες



Διάγραμμα 7: pH των τριών κρεμών για θερμοκρασία αποθήκευσης 45 °C και διάρκεια αποθήκευσης 50 ημέρες

Το pH των γαλακτωμάτων και ιδίως των καλλυντικών κρεμών, αποτελεί σημαντική παράμετρο καθορισμού της αποτελεσματικότητάς τους. Το pH του ανθρώπινου δέρματος συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 4,5 και 6 και το μέσο pH του δέρματος είναι το 5,5. Προκειμένου, λοιπόν, ένα σκεύασμα, που προορίζεται για χρήση στο ανθρώπινο δέρμα, να κριθεί αποδεκτό για εφαρμογή στην καλλυντική βιομηχανία, πρέπει να έχει pH εντός αυτών των ορίων [119].

Το pH των δειγμάτων κρέμας, που αναλύθηκαν βρίσκεται εντός του διαστήματος 4,53 και 5, δηλαδή εντός των επιτρεπτών ορίων pH για χρήση στο ανθρώπινο δέρμα. Δεδομένου ότι η κρέμα βάση (κωδικός C, χωρίς προσθήκη νανοϊνών) την ημέρα 0 των μετρήσεων, είχε pH ίσο με 4,86 και οι άλλες δύο κρέμες είχαν κοντινό σε αυτό pH, το οποίο δεν μεταβλήθηκε σημαντικά κατά τη διάρκεια των 50 ημερών, οι κρέμες κρίνονται κατάλληλες για χρήση στη βιομηχανία καλλυντικών, όσον αφορά στο pH τους.

Από τα Διαγράμματα 5 – 7, παρατηρείται ότι το pH των δειγμάτων κρέμας, που αποθηκεύτηκαν σε διαφορετικές θερμοκρασίες (5, 25 και 45 °C), συνεχώς μειώνεται μέχρι περίπου την 30<sup>η</sup> ημέρα, με εξαίρεση το pH της κρέμας, που περιέχει το Tea Tree Oil το οποίο για T = 5 °C, αυξάνεται σε μικρό όμως βαθμό. Η μείωση αυτή (και η αντίστοιχη αύξηση), οφείλεται πιθανόν στα διαφορετικά βιοδραστικά συστατικά, που η κάθε κρέμα περιέχει.

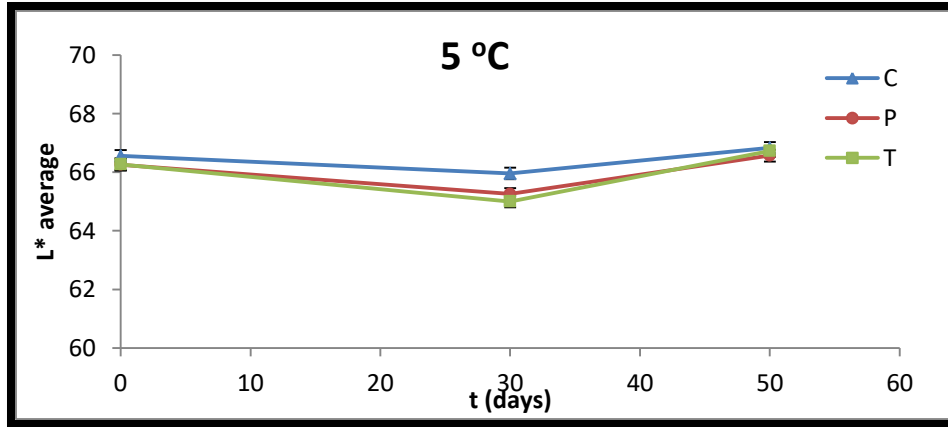
Μετά από την 30<sup>η</sup> ημέρα το pH των δειγμάτων (με εξαίρεση τα δείγματα, που αποθηκεύτηκαν στους 5 °C) φαίνεται να σταθεροποιείται.

Επιπρόσθετα, παρατηρείται ότι η σταθερότερη από τις τρεις κρέμες είναι αυτή με τις νανοϊνες εκχυλίσματος ροδιού και η λιγότερο σταθερή η κρέμα βάση C. Το γεγονός αυτό οφείλεται πιθανώς, στις αντιοξειδωτικές και αντισηπτικές ουσίες, που περιέχουν οι κρέμες P και T, αντίστοιχα. Έτσι, η μικρότερη μείωση των τιμών pH αυτών των δύο κρεμών, πιθανώς οφείλεται στη σταδιακή αποδέσμευση των ενεργών συστατικών τους.

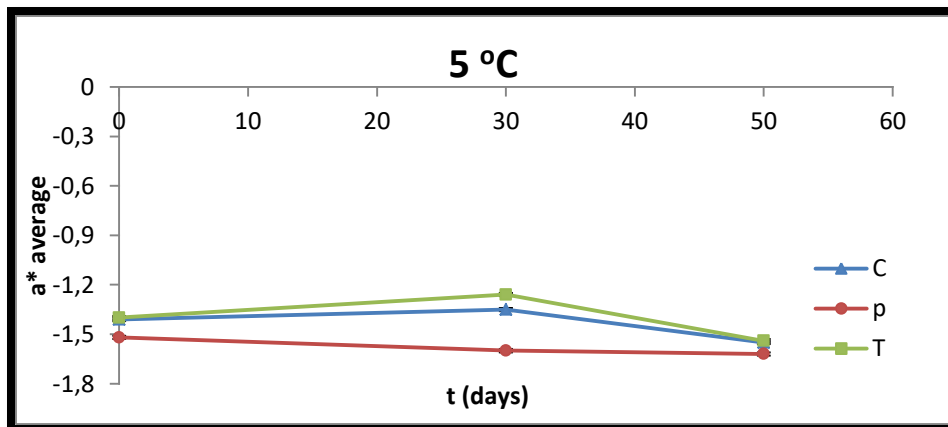
Οι μικρές αλλαγές του pH κατά τις 50 ημέρες αποθήκευσης, για όλες τις κρέμες και τις θερμοκρασίες αποθήκευσης, υποδεικνύουν ότι τα μελετώμενα δείγματα ήταν σταθερά. Υποδεικνύουν επιπλέον, ότι η προσθήκη των νανοϊνών ΤΤΟ και εκχυλίσματος ροδιού, στην κρέμα βάση (C) δεν επηρέασε σημαντικά το pH αυτής.

#### *4.4.3 Μέτρηση του χρώματος των κρεμών*

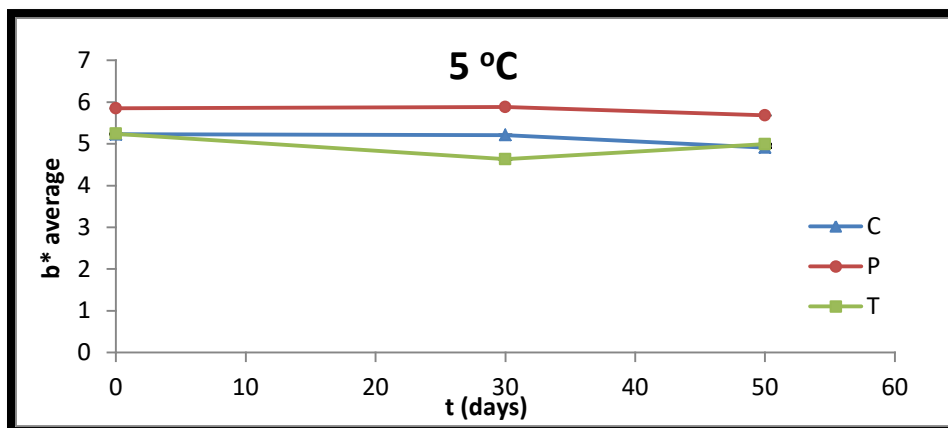
Τα αποτελέσματα των μετρήσεων του χρώματος (φωτεινότητα (L), μεταβολή χρωμάτων κόκκινο – πράσινο (a\*), μεταβολή χρώματος κίτρινο – μπλε (b\*) και συνολική μεταβολή χρώματος (ΔE)) των δειγμάτων των κρεμών προσώπου για τους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης (30 και 50 ημέρες) και τις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης (5, 25 και 45 °C) παρουσιάζονται στα Διαγράμματα 8 – 19.



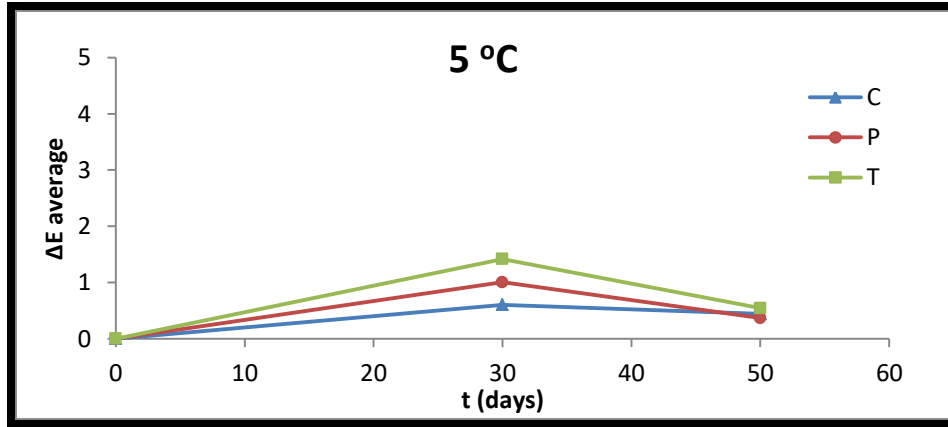
Διάγραμμα 8: Μεταβολή της παραμέτρου L\* για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5 °C



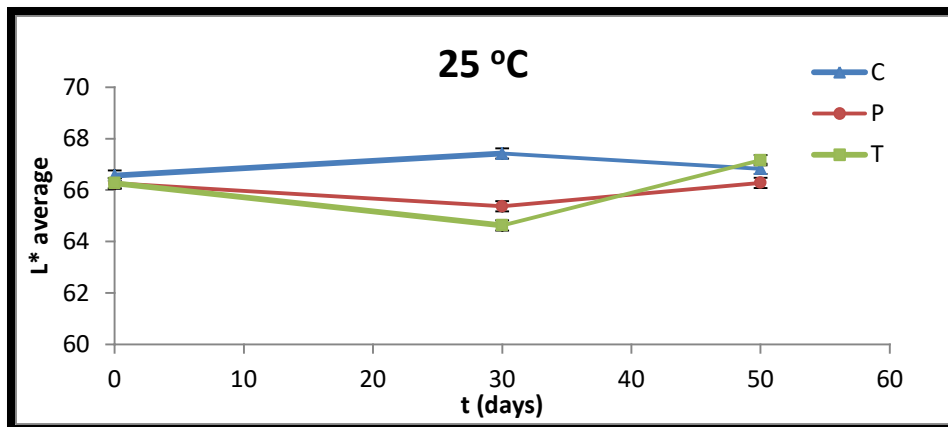
Διάγραμμα 9: Μεταβολή της παραμέτρου a\* για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5 °C



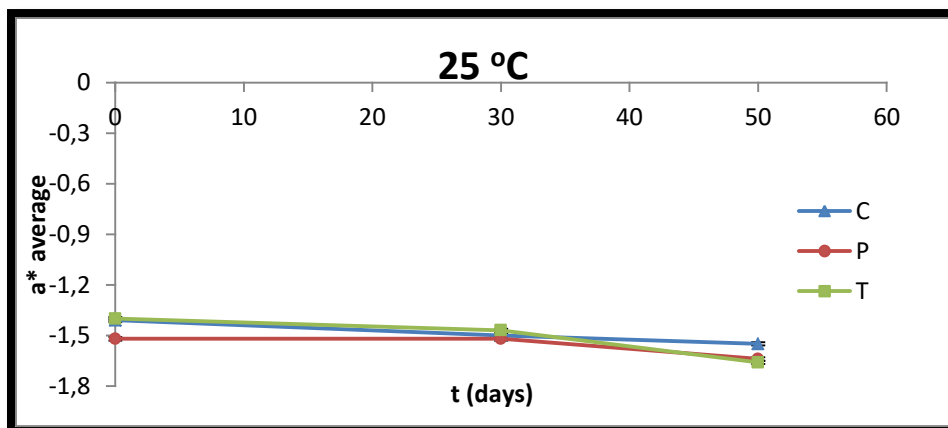
Διάγραμμα 10: Μεταβολή της παραμέτρου b\* για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5 °C



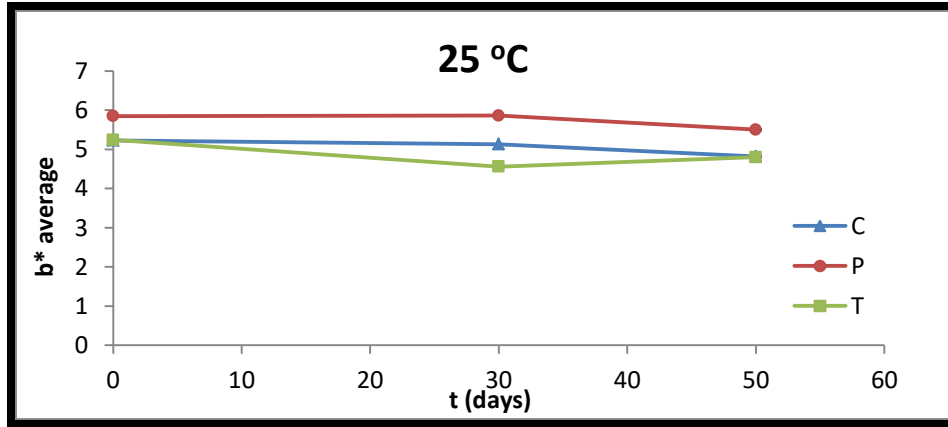
Διάγραμμα 11: Συνολική μεταβολή χρώματος ΔΕ για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5 °C



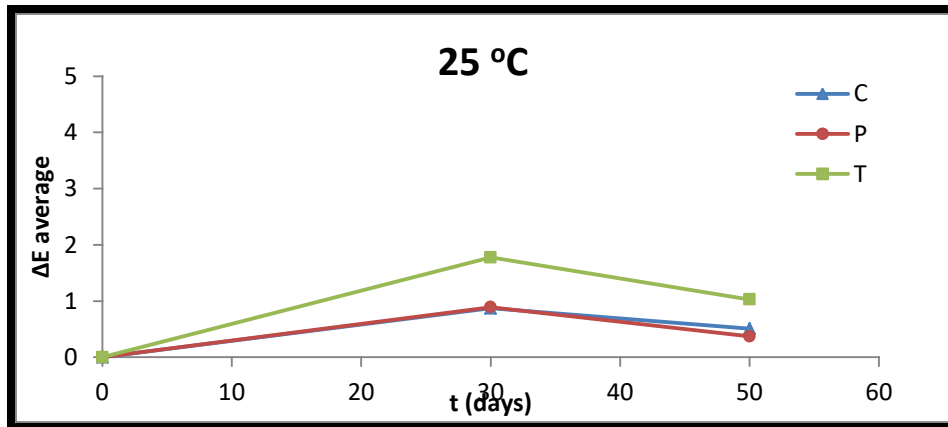
Διάγραμμα 12: Μεταβολή της παραμέτρου L\* για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 25 °C



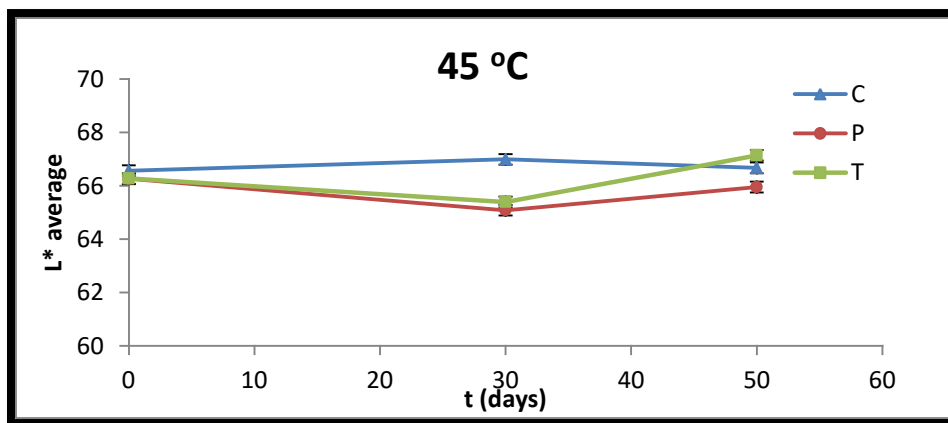
Διάγραμμα 13: Μεταβολή της παραμέτρου a\* για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 25 °C



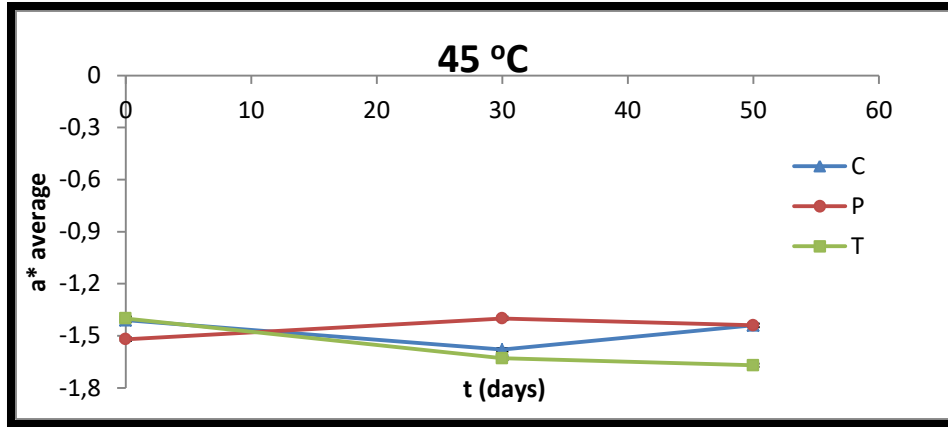
Διάγραμμα 14: Μεταβολή της παραμέτρου  $b^*$  για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 25 °C



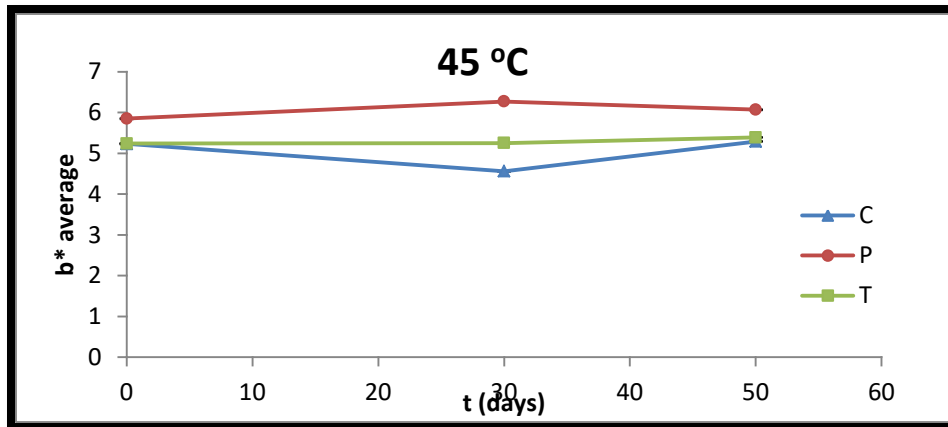
Διάγραμμα 15: Συνολική μεταβολή χρώματος  $\Delta E$  για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 25 °C



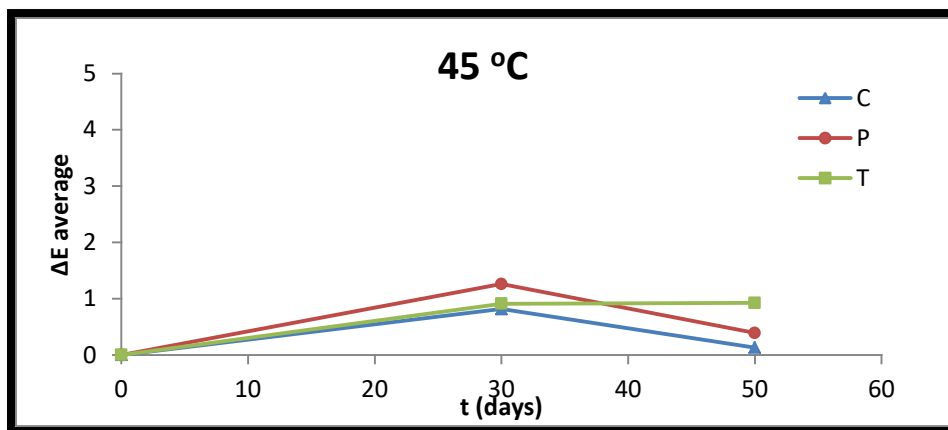
Διάγραμμα 16: Μεταβολή της παραμέτρου  $L^*$  για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 45 °C



Διάγραμμα 17: Μεταβολή της παραμέτρου a\* για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 45 °C



Διάγραμμα 18: Μεταβολή της παραμέτρου b\* για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 45 °C



Διάγραμμα 19: Συνολική μεταβολή χρώματος ΔE για τις τρεις κρέμες σε θερμοκρασία αποθήκευσης 45 °C

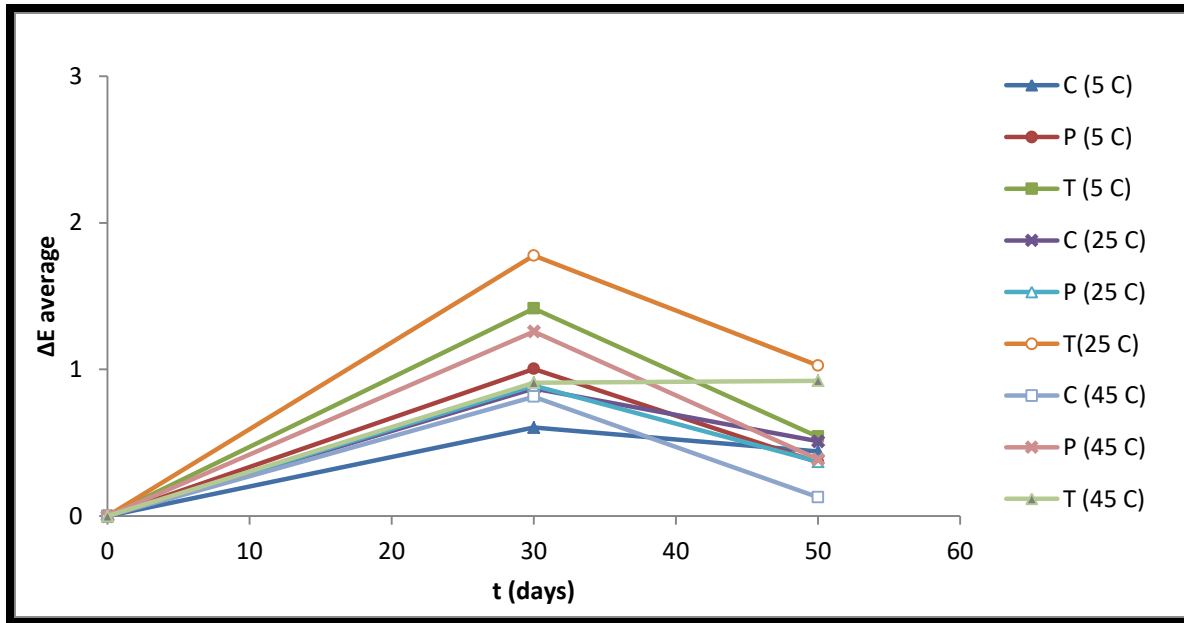
Από τις μετρήσεις του χρώματος των κρεμών, προκύπτει αρχικά, ότι τα τρία δείγματα κρέμας δεν παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές ως προς τη φωτεινότητα την ημέρα 0. Επίσης, δεν παρουσιάζουν μεγάλη αλλαγή της φωτεινότητάς τους με το πέρασμα των 50 ημερών. Ο παράγοντας L\* (, που εκφράζει τη φωτεινότητα) των κρεμών για το διάστημα των 50 ημερών, παίρνει τιμές στο διάστημα 65 και 67,42 γεγονός που υποδεικνύει ότι το χρώμα των κρεμών ήταν φωτεινό (λευκό), με πιο λευκή την κρέμα βάση.

Όσον αφορά στον παράγοντα a\*, για όλες τις μετρήσεις έπαιρνε αρνητικές τιμές, στο διάστημα -1,26 έως -1,67, που αντιπροσωπεύουν αποχρώσεις του πράσινου. Για τις θερμοκρασίες των 5 και 25 °C, το πιο πράσινο χρώμα διέθετε η κρέμα με τις ναοΐνες Tea Tree Oil, ενώ στους 45 °C, η πράσινη απόχρωση της μειώθηκε σε μικρό βαθμό.

Ο παράγοντας b\* , εμφάνισε θετικές τιμές στο διάστημα 4,56 και 6,27 για όλες τις μετρήσεις, γεγονός που υποδεικνύει ότι οι κρέμες διέθεταν αποχρώσεις του κίτρινου. Μάλιστα, η κρέμα, που περιείχε τις ναοΐνες εκχυλίσματος ροδιού, παρουσίασε τις μεγαλύτερες τιμές του παράγοντα b\*, καθ' όλη τη διάρκεια και για όλες τις θερμοκρασίες αποθήκευσης, γεγονός, που εξηγείται από το χρώμα του εκχυλίσματος ροδιού (βαθύ πορτοκαλί) και τις αντιοξειδωτικές ουσίες, που κατά τη διάρκεια των 50 ημερών αποδεσμεύονται από τις ναοΐνες. Παρατηρείται επιπλέον ότι οι μεγαλύτερες τιμές του παράγοντα b\* για την κρέμα με τις ναοΐνες εκχυλίσματος ροδιού και για την κρέμα με τις ναοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil, παρουσιάζονται στη θερμοκρασία αποθήκευσης των 45 °C, το οποίο πιθανόν σημαίνει ότι στη θερμοκρασία αυτή μερικές ναοΐνες «σπάνε» και απελευθερώνονται τα βιοενεργά συστατικά τους.

Ωστόσο, σε γενικές γραμμές, δεν παρατηρούνται μεγάλες διαφορές μεταξύ των δειγμάτων καλλυντικής κρέμας όσον αφορά στο χρώμα τους. Το γεγονός ότι οι παράγοντες L\*, a\* και b\*, δεν μεταβάλλονται σημαντικά στο διάστημα των 50 ημερών και για τις τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες (5, 25 και 45 °C) αποθήκευσης, υποδεικνύει ότι οι καλλυντικές κρέμες ήταν σταθερές ως προς το χρώμα.

Στο Διάγραμμα 20 παρουσιάζεται η συνολική μεταβολή του χρώματος για το σύνολο των δειγμάτων κατά την αποθήκευση για 50 ημέρες σε θερμοκρασίες 5, 25 και 45 °C.



Διάγραμμα 20: Συνολική μεταβολή χρώματος ΔE για όλα τα δείγματα σε θερμοκρασίες αποθήκευσης 5, 25 και 45 °C

Από το Διάγραμμα 20, προκύπτει ότι υπάρχει μία γενικότερη τάση για μείωση της συνολικής μεταβολής του χρώματος. Πιο συγκεκριμένα, η μεταβολή του χρώματος αυξάνεται μέχρι τις 30 ημέρες αποθήκευσης και στη συνέχεια μειώνεται και σταθεροποιείται. Για τους 5 °C, τους 25 °C και τους 45 °C μεγαλύτερη μεταβολή στο χρώμα, παρουσιάζει η κρέμα με το εκχύλισμα Tea Tree Oil και μικρότερη η κρέμα βάση (C). Αυτό πιθανώς οφείλεται στα φυτικά συστατικά, που περιέχουν οι δύο κρέμες με τις νανοΐνες. Άλλωστε, οι καλλυντικές κρέμες με τα φυτικά εκχυλίσματα (ρόδι και Tea Tree Oil), περιέχουν αντισηπτικά, αντιμικροβιακά και αντιοξειδωτικά συστατικά, που μπορεί κατά την αποθήκευση να παράξουν ουσίες, οι οποίες μεταβάλλουν το χρώμα [120].

Ωστόσο, οι διαφορές που εντοπίστηκαν στο χρώμα των κρεμών, που περιείχαν τις νανοΐνες και της κρέμας βάσης ήταν μικρές, γεγονός, που υποδεικνύει την σταθερότητά στη δομή τους, όπως επίσης και ότι η αποδέσμευση των συστατικών τους (εκχύλισμα ροδίου και εκχύλισμα Tea Tree Oil) είναι σταδιακή και ελεγχόμενη.

#### 4.4.4 Δυναμική μηχανική ανάλυση – Dynamic Mechanical Analysis (DMA)

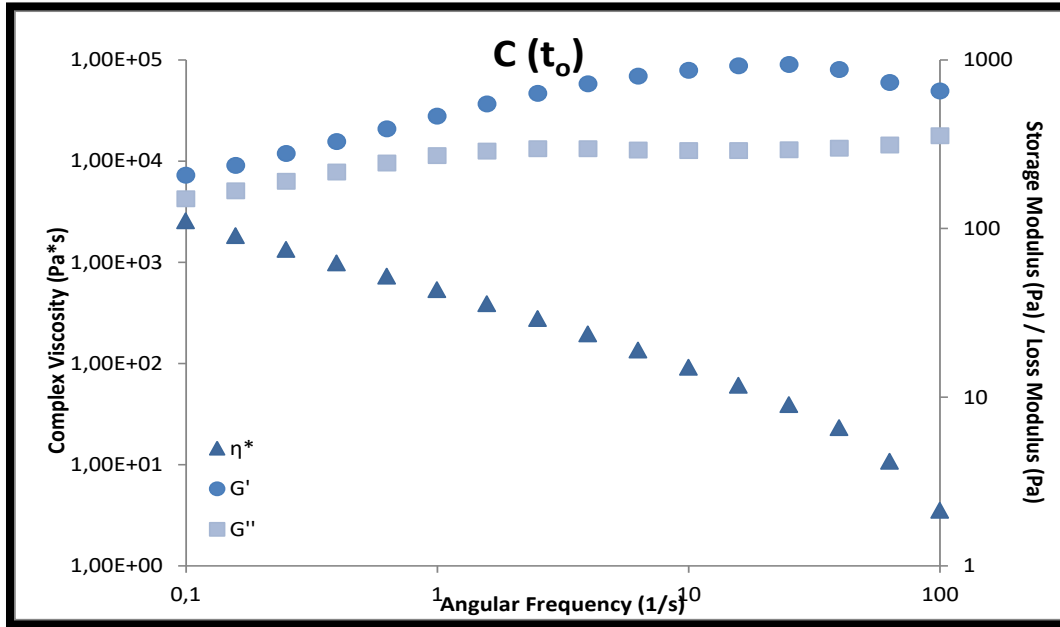
Τα ρεολογικά και ιξωδοελαστικά χαρακτηριστικά, που μελετήθηκαν σχετίζονταν με τις κάτωθι παραμέτρους:

- το σύνθετο ιξώδες  $\eta^*$  (Pa·s)
- το μέτρο αποθήκευσης  $G'$  (Pa) και
- το μέτρο απώλειας  $G''$  (Pa)

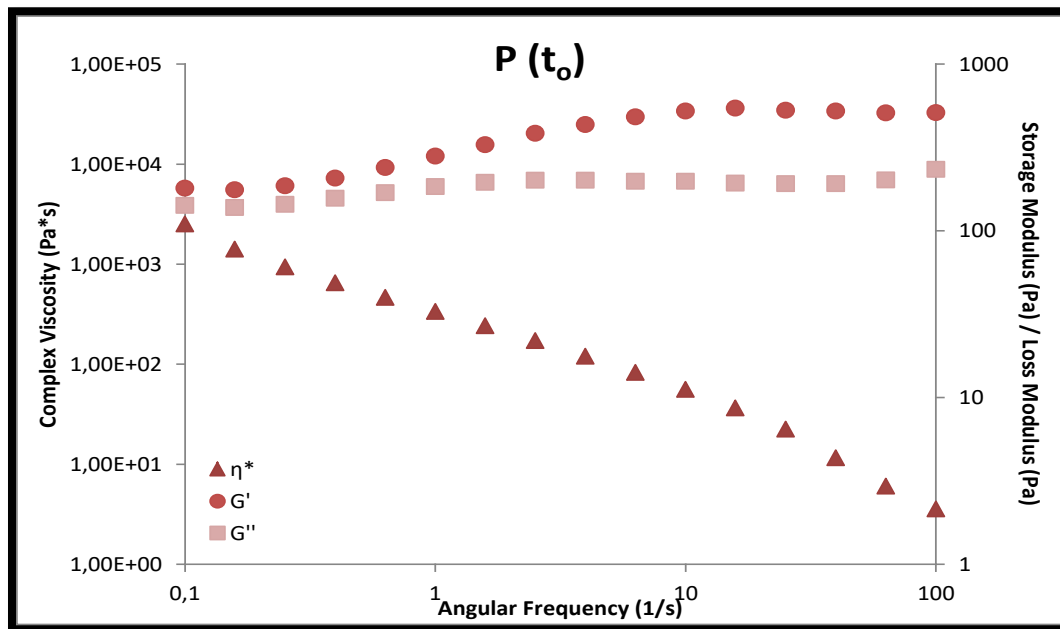
Οι δοκιμές ταλάντωσης, κατά τις οποίες μεταβάλλεται η γωνιακή συχνότητα, παρέχουν αποτελέσματα σχετικά με την συμπεριφορά στερεού και τις ιξωδοελαστικές ιδιότητες των κρεμών. Το μέτρο αποθήκευσης  $G'$ , πρέπει να παρουσιάζει τιμή μεγαλύτερη από αυτήν του μέτρου απώλειας  $G''$  για όλο το πεδίο τιμών της εφαρμοζόμενης συχνότητας. Στα



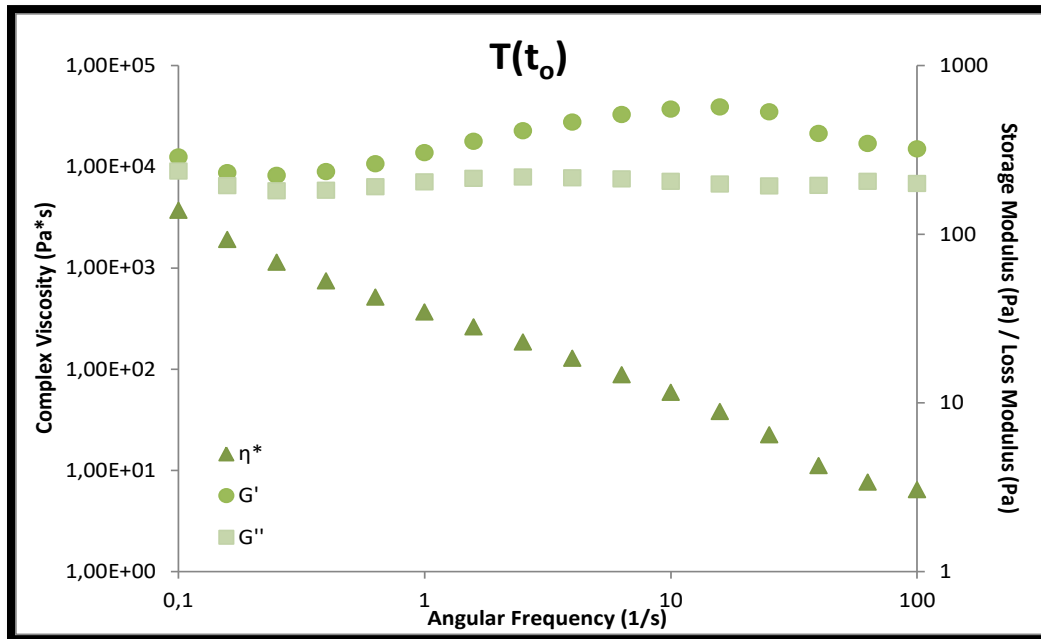
Διαγράμματα 21 – 23 , παρουσιάζεται η συσχέτιση των δυναμικών παραμέτρων ( $\eta^*$ ,  $G'$  και  $G''$ ) με τη γωνιακή συχνότητα ( $\omega$ ) για σταθερή συχνότητα  $\gamma = 0,1\%$ , για τα τρία δείγματα καλλυντικής κρέμας, τη χρονική στιγμή  $t_0 = 0$ .



Διάγραμμα 21: Μέτρο αποθήκευσης ( $G'$ ), μέτρο απώλειας ( $G''$ ) και σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος τιμών της γωνιακής συχνότητας για την κρέμα βάση (C)



Διάγραμμα 22: Μέτρο αποθήκευσης ( $G'$ ), μέτρο απώλειας ( $G''$ ) και σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος τιμών της γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με νανοϊνες εκχυλίσματος ροδιού (P)



Διάγραμμα 23: Μέτρο αποθήκευσης ( $G'$ ), μέτρο απώλειας ( $G''$ ) και σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος τιμών της γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με νανοϊνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil (T)

Για την αξιολόγηση της συνεκτικότητας σε κατάσταση ηρεμίας, της μακροχρόνιας συμπεριφοράς και της συμπεριφοράς στο διαχωρισμό (καθίζηση, αιώρηση ή συναίρεση), η συχνότητα σάρωσης αποτελεί το κριτήριο για την επιλογή του εκάστοτε συστήματος (διασποράς). Στις σταθερές διασπορές και τα γαλακτώματα οι διαμοριακές δυνάμεις αλληλεπίδρασης σχηματίζουν τρισδιάστατο δίκτυο δυνάμεων. Οι ουσίες αυτές (διασπορές και γαλακτώματα) παρουσιάζουν  $G' > G''$  για όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας.

Από τα Διαγράμματα 21 – 23, προκύπτει ότι για όλα τα εξεταζόμενα δείγματα και για όλο το εύρος τιμών της γωνιακής συχνότητας, οι καμπύλες των  $G'$  και  $G''$  είναι σχεδόν παράλληλες ευθείες με μόνη εξαίρεση ένα σημείο, όπου παρατηρείται αλλαγή της κλίσης. Παρατηρείται επιπλέον ότι ισχύει η αναμενόμενη σχέση  $G' > G''$ .

Η τιμή του μέτρου αποθήκευσης  $G'$  σε χαμηλή γωνιακή συχνότητα ( $\omega \leq 0.1$  rad/s) παρέχει πληροφορίες σχετικές με τη συμπεριφορά των καλλυντικών κρεμών σε ηρεμία ( $G'_0$ ). Η καμπύλη του μέτρου αποθήκευσης  $G'$  πρέπει να παρουσιάζει μία πολύ μικρή (αμελητέα) κλίση. Για αρκετές διασπορές και γαλακτώματα, ένας γενικός κανόνας που προκύπτει από πειραματικά αποτελέσματα για γωνιακή συχνότητα 0,1 rad/s ( με την προϋπόθεση ότι  $G' > G''$ , δηλαδή ότι υπάρχει συμπεριφορά γέλης και ότι η δοκιμή γίνεται σε ιξωδοελαστική περιοχή LVE), είναι ότι:

- εάν το μέτρο αποθήκευσης  $G'$  είναι μεγαλύτερο ή ίσο από 10 Pa ( $G' \geq 10$  Pa), συμπεραίνεται ότι η εκάστοτε ουσία (διασπορά ή γαλάκτωμα) παρουσιάζει σχετική συνεκτικότητα,

- εάν το μέτρο αποθήκευσης  $G'$  είναι μικρότερο ή ίσο από 1 Pa ( $G' \leq 1$  Pa), συμπεραίνεται ότι η εκάστοτε ουσία (διασπορά ή πήκτωμα) δεν παρουσιάζει την απαραίτητη για πρακτική εφαρμογή, συνεκτικότητα και
- εάν το μέτρο αποθήκευσης  $G'$  είναι μεταξύ αυτών των ορίων ( $1 \text{ Pa} < G' < 10 \text{ Pa}$ ), απαιτούνται περαιτέρω δοκιμές των ουσιών (π.χ. μέτρηση της αντοχής στη συμπίεση και του σημείου ροής) [87].

Για το δείγμα βάσης καλλυντικής κρέμας (C), όπως επίσης και για τα εξεταζόμενα δείγματα καλλυντικής κρέμας, που περιείχαν τις νανοϊνες (P και T) παρατηρήθηκε ικανοποιητική, για πρακτική εφαρμογή στη βιομηχανία καλλυντικών, σταθερότητα ( $G' > 10 \text{ Pa}$ ).

Οι ρεολογικές δοκιμές ταλάντωσης, παρέχουν σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τη δομή και τη σταθερότητα των καλλυντικών κρεμών. Τα χαρακτηριστικά των διασπορών, που γίνονται αντιληπτά με τις αισθήσεις, συσχετίζονται άμεσα με τις ρεολογικές μετρήσεις. Έτσι, η ρεολογία καθίσταται ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο για την εκτίμηση της συμπεριφοράς μιας καλλυντικής κρέμας, κατά την εφαρμογή της στο ανθρώπινο δέρμα. Η μικρότερη ικανή να σπάσει τη δομή τάση, αποτελεί ένα επιθυμητό χαρακτηριστικό για τις καλλυντικές κρέμες, καθώς συμβάλλει στην επάλειψη της κρέμας στο δέρμα και επιτρέπει την καλύτερη απορρόφησή της. Όσο υψηλότερη είναι η επί τοις εκατό τάση, τόσο συνεκτικότερη είναι η κρέμα και μεγαλύτερη η μηχανική σταθερότητά της. Επίσης, η μεγαλύτερη τάση είναι απαραίτητη για να προκύψει αποτελεσματική επαλειψιμότητα. Οι καλλυντικές κρέμες, που έχουν μορφή αφρού (mousse creams), συνήθως παρουσιάζουν σταθερή δομή (χαμηλές τιμές  $G'$  και  $G''$ ), αλλά χρειάζονται περισσότερη επιβαλλόμενη δύναμη για να απλωθούν επαρκώς στο δέρμα [88].

Οι χαμηλότερες τιμές  $G'$  και  $G''$  υποδεικνύουν λεία υφή. Οι «σκληρές» κρέμες, χρειάζονται λιγότερη δύναμη και απλώνονται πιο εύκολα στο δέρμα, αλλά ψηλότερες τιμές  $G'$  και  $G''$  σημαίνει και αίσθηση πιο σκληρής υφής. Τέλος, οι κρέμες σε μορφή γέλης (gel creams) παρουσιάζουν εν γένει ευχάριστη αίσθηση και σταθερή δομή και ικανότητα επάλειψης στο δέρμα.

Ως εκ τούτου, η γνώση των ιξωδοελαστικών παραμέτρων των καλλυντικών, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την πρόβλεψη της συμπεριφοράς διαφορετικών καλλυντικών κρεμών και της πιθανής χρήσης τους σε πληθώρα εφαρμογών. Στον Πίνακα 16, παρουσιάζονται οι τιμές του μέτρου αποθήκευσης  $G'_0$  και του μέτρου απώλειας  $G''_0$  για όλα τα εξεταζόμενα δείγματα (τα  $G'_0$  και  $G''_0$  είναι οι τιμές του μέτρου αποθήκευσης και του μέτρου απώλειας αντίστοιχα για γωνιακή συχνότητα  $\omega = 0.1 \text{ rad/s}$ ).

Πίνακας 16: Τιμές των  $G'_o$  and  $G''_o$  όλων των εξεταζόμενων δειγμάτων για γωνιακή συχνότητα  $\omega = 0.1 \text{ rad/s}$

	Δείγμα	Θερμοκρασία Αποθήκευσης (C)	Χρόνος Αποθήκευσης (days)	$G'_o$ (Pa)	$G''_o$ (Pa)
C	C_t0		0	2,07E+02	1,50E+02
	C_t1_5C	5	30	4,83E+02	3,62E+02
	C_t1_25C	25	30	3,40E+02	2,47E+02
	C_t1_45C	45	30	3,40E+02	2,34E+02
	C_t2_5C	5	50	4,11E+02	3,13E+02
	C_t2_25C	25	50	2,68E+02	1,89E+02
	C_t2_45C	45	50	1,52E+02	8,78E+01
P	P_t0		0	1,80E+02	1,42E+02
	P_t1_5C	5	30	2,87E+02	2,21E+02
	P_t1_25C	25	30	2,22E+02	1,67E+02
	P_t1_45C	45	30	1,88E+02	1,38E+02
	P_t2_5C	5	50	2,97E+02	2,27E+02
	P_t2_25C	25	50	2,26E+02	1,66E+02
	P_t2_45C	45	50	1,89E+02	1,19E+02
T	T_t0		0	2,87E+02	2,37E+02
	T_t1_5C	5	30	2,79E+02	2,08E+02
	T_t1_25C	25	30	3,23E+02	2,43E+02
	T_t1_45C	45	30	3,01E+02	2,05E+02
	T_t2_5C	5	50	3,05E+02	2,30E+02
	T_t2_25C	25	50	2,46E+02	1,77E+02
	T_t2_45C	45	50	1,51E+02	9,25E+01

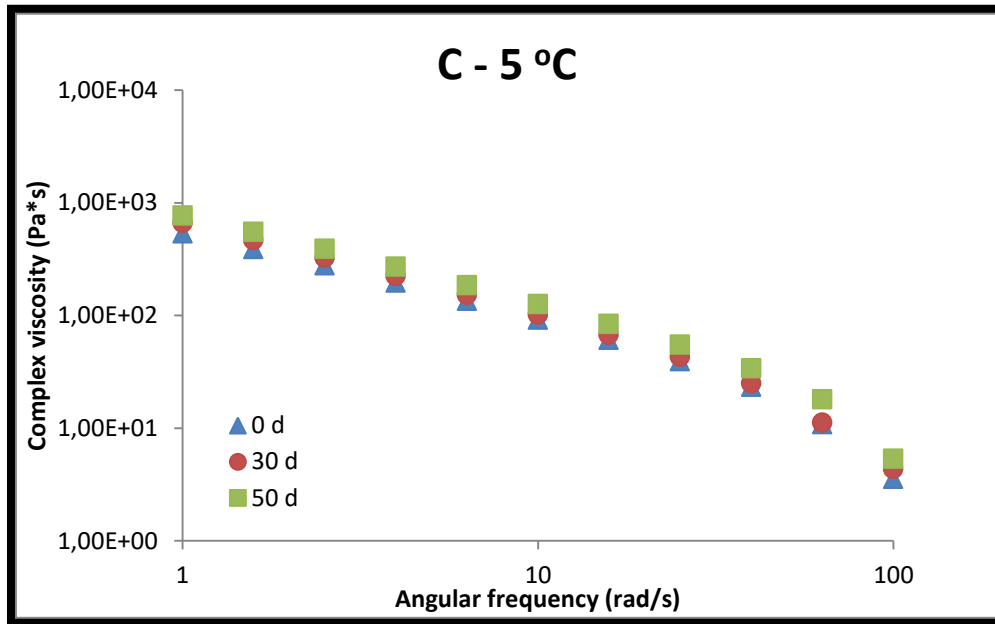
Από τα αποτελέσματα του Πίνακα 16, προκύπτει ότι η κρέμα βάση (C) παρουσιάζει τις υψηλότερες τιμές  $G'_o$  και ακολουθεί η κρέμα με τις ναοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil γεγονός που υποδεικνύει ότι οι κρέμες αυτές είναι πιο «σκληρές» από την κρέμα με τις ναοΐνες εκχυλίσματος ροδιού και απλώνονται πιο εύκολα στο δέρμα.

Αντίστοιχα αποτελέσματα με αυτά των μετρήσεων του μέτρου αποθήκευσης ( $G'$ ) και του μέτρου απώλειας ( $G''$ ) αντλούνται και από τις μετρήσεις του ιξώδους. Οι μετρήσεις του ιξώδους αποτελούν σημαντικό εργαλείο μέτρησης των αλλαγών στα υλικά. Οι διαμορφώσεις των καλλυντικών κρεμών, αποτελούν σύνθετα συστήματα γαλακτωμάτων, των οποίων οι δομές ποικίλουν. Οι αλλαγές στη δομή, αντικατοπτρίζονται στις αλλαγές στο ιξώδες. Το ιξώδες συχνά αυξάνεται, καθώς οι δομές γαλακτώματος αναπτύσσονται και σταθεροποιούνται. Σε άλλες πάλι περιπτώσεις, για μεγάλους χρόνους αποθήκευσης, το ιξώδες μπορεί να παρουσιάζει σημαντική μείωση, καθώς συντελείται αποικοδόμηση του προϊόντος.

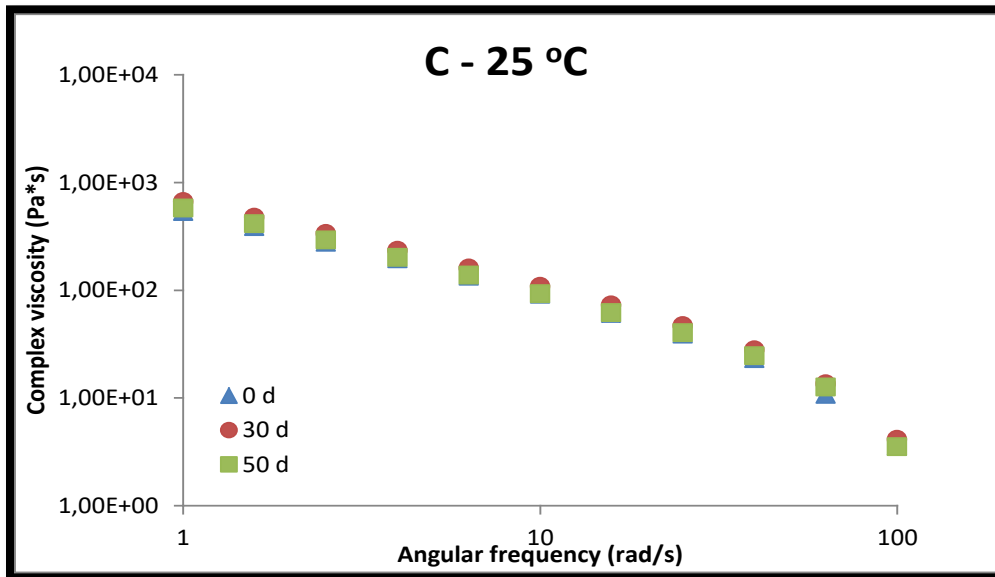
#### Επίδραση του χρόνου αποθήκευσης στο σύνθετο ιξώδες για τις θερμοκρασίες αποθήκευσης

Στα Διαγράμματα 24 – 32 παρουσιάζονται οι διαφορές στο σύνθετο ιξώδες  $\eta^*$  των κρεμών για όλο το εύρος τιμών της γωνιακής συχνότητας και μελετάται η επίδραση του χρόνου αποθήκευσης σε αυτό (το ιξώδες) για τις εκάστοτε θερμοκρασίες αποθήκευσης (5,25 και 45 °C).

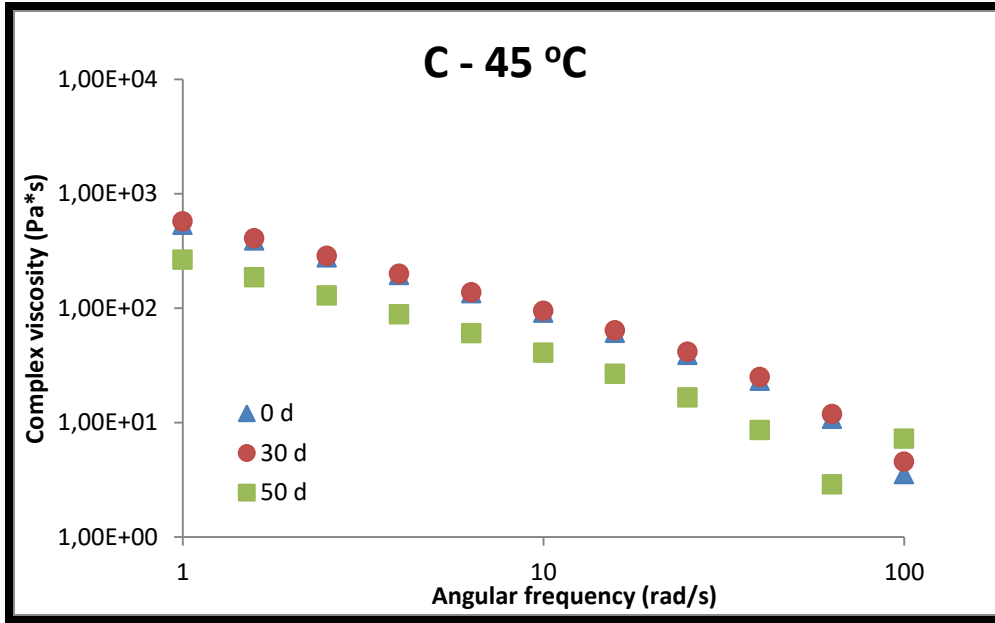
- Κρέμα βάση (C)



Διάγραμμα 24: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα βάση (C) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5 °C

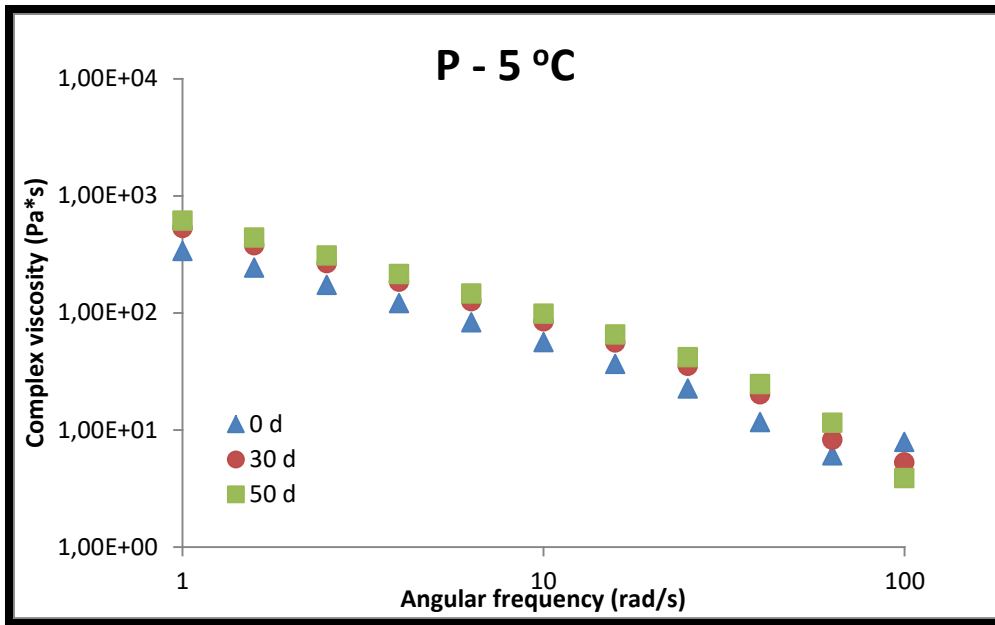


Διάγραμμα 25: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα βάση (C) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 25 °C

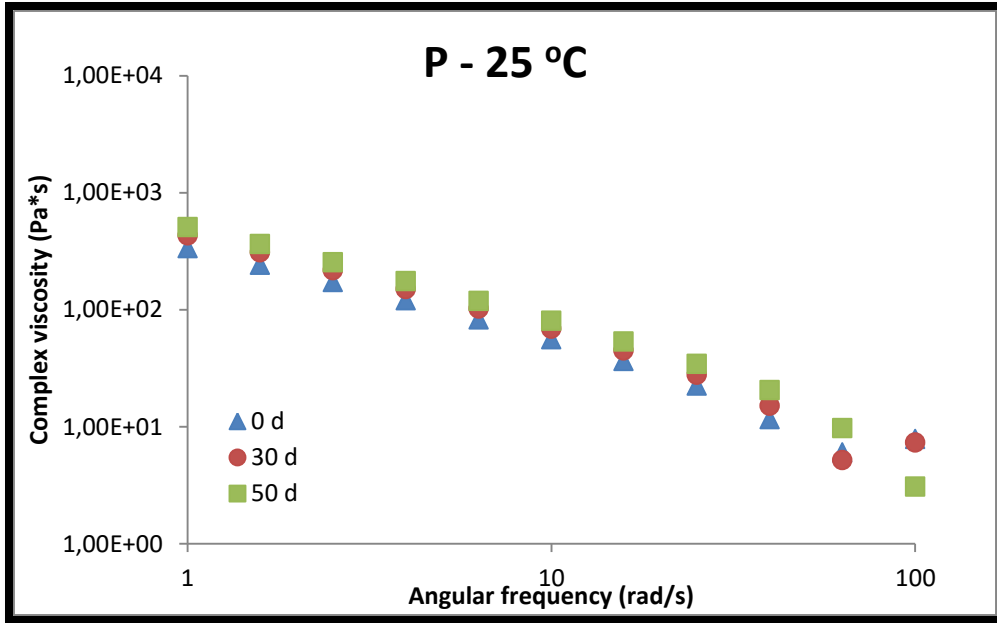


Διάγραμμα 26: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα βάση (C) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 45 °C

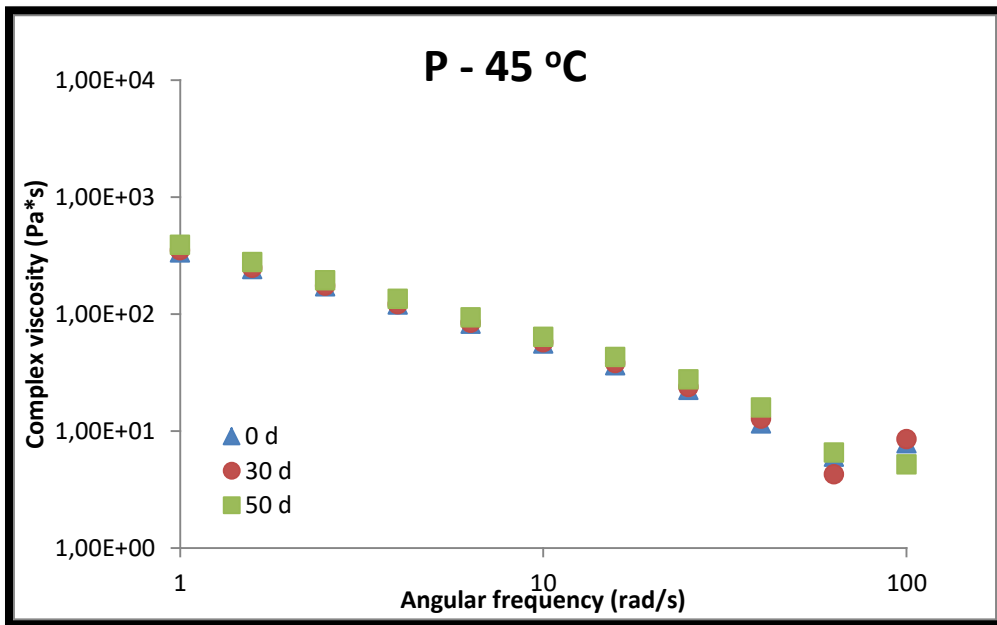
- Κρέμα με νανοΐνες ροδιού (P)



Διάγραμμα 27: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις νανοΐνες εκχυλίσματος ροδιού (P) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5 °C

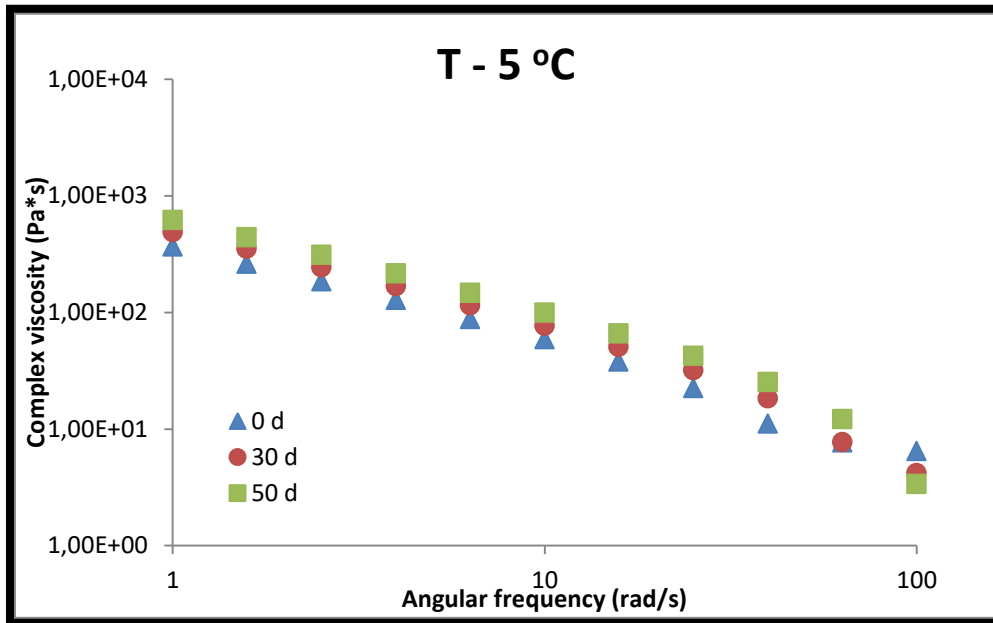


Διάγραμμα 28: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις νανοϊνες εκχυλίσματος ροδιού (P) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 25 °C

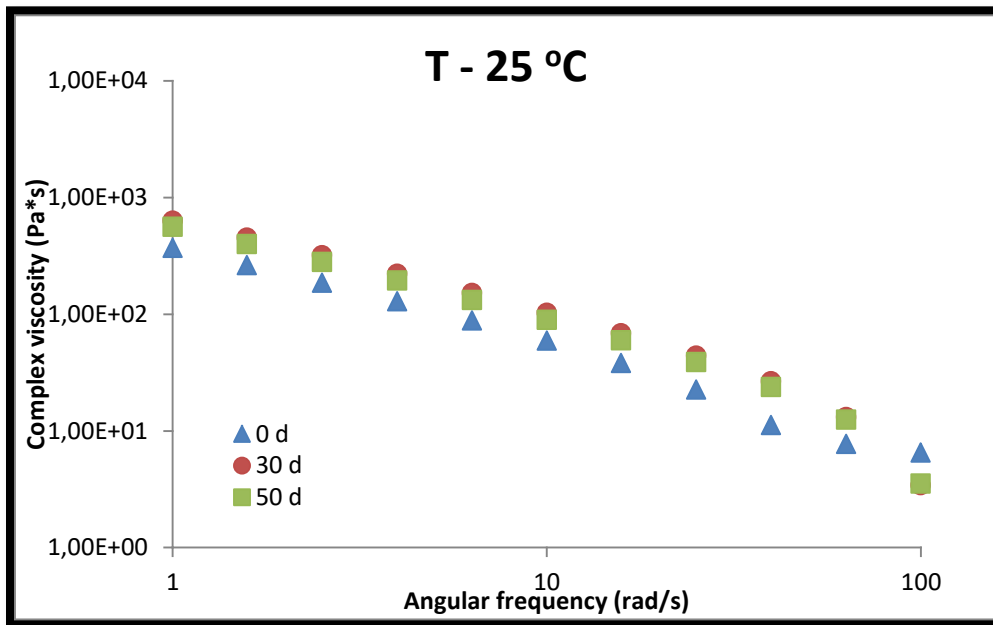


Διάγραμμα 29: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις νανοϊνες εκχυλίσματος ροδιού (P) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 45 °C

- Κρέμα με ναοΐνες Tea Tree Oil (T)

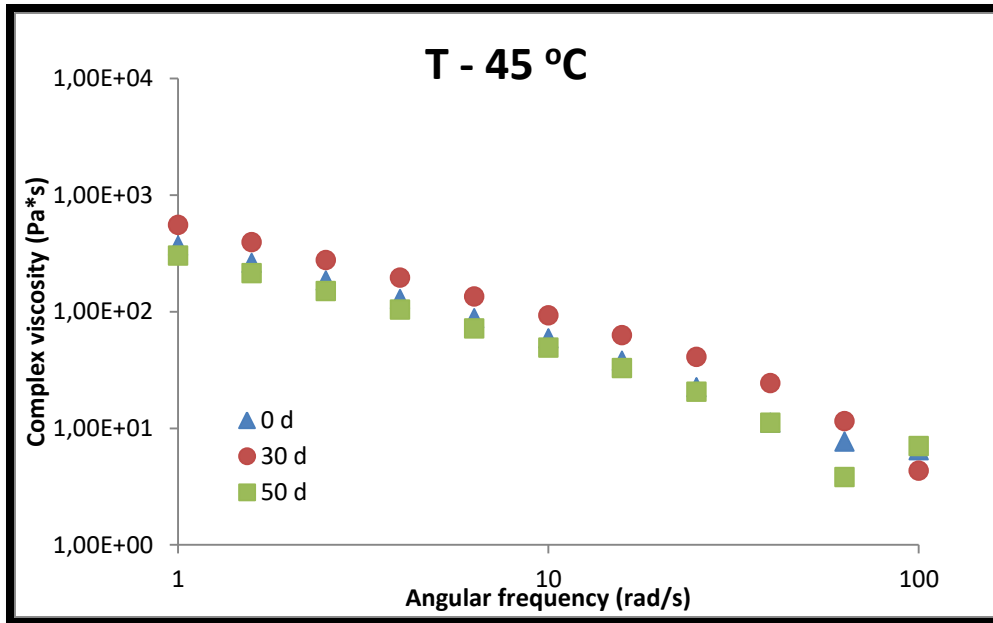


Διάγραμμα 30: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις ναοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil (T) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5 °C



Διάγραμμα 31: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις ναοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil (T) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 25 °C





Διάγραμμα 32: Σύνθετο ιώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις ναοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil (T) στους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης σε θερμοκρασία αποθήκευσης 45 °C

Από τα Διαγράμματα 24 – 26 για την κρέμα βάση (C), προκύπτει ότι για θερμοκρασία 5 °C, το σύνθετο ιώδες αυξάνεται με το πέρας των ημερών. Για τη θερμοκρασία των 25 °C, το σύνθετο ιώδες της κρέμας παρουσιάζει την ίδια συμπεριφορά καθ' όλη τη διάρκεια αποθήκευσής της. Τέλος, για τη θερμοκρασία των 45 °C, το σύνθετο ιώδες μειώνεται εμφανώς στις 50 ημέρες αποθήκευσής του.

Από τα Διαγράμματα 27 – 29 για την κρέμα με τις ναοΐνες εκχυλίσματος ροδιού (P), προκύπτει ότι για θερμοκρασία 5 και 25 °C, το σύνθετο ιώδες της κρέμας παρουσιάζει την ίδια συμπεριφορά με το σύνθετο ιώδες της κρέμας βάσης. Ωστόσο, για τη θερμοκρασία των 45 °C, το σύνθετο ιώδες δεν μεταβάλλεται με το πέρας των ημερών, γεγονός που υποδεικνύει ότι η εν λόγω κρέμα είναι σταθερότερη από την κρέμα βάση (C).

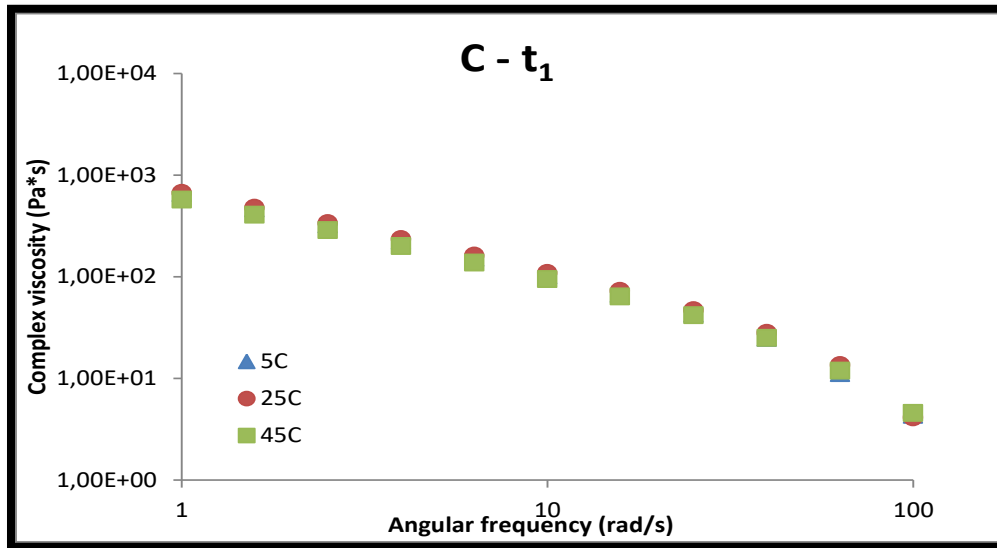
Από τα Διαγράμματα 30 – 32 για την κρέμα με τις ναοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil (T), προκύπτει ότι για θερμοκρασία 5 °C και 25 °C, το σύνθετο ιώδες της κρέμας αυξάνεται με το πέρας των ημερών, με μεγαλύτερη αύξηση στις 30 ημέρες αποθήκευσης. Για τη θερμοκρασία των 45 °C, παρατηρείται ότι στις 30 ημέρες αποθήκευσης το σύνθετο ιώδες παρουσιάζει μία μικρή αύξηση.

Εν γένει, οι κρέμες παρουσιάζουν παρόμοια συμπεριφορά του σύνθετου ιώδους τους συναρτήσει του χρόνου ζωής τους στις τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες.

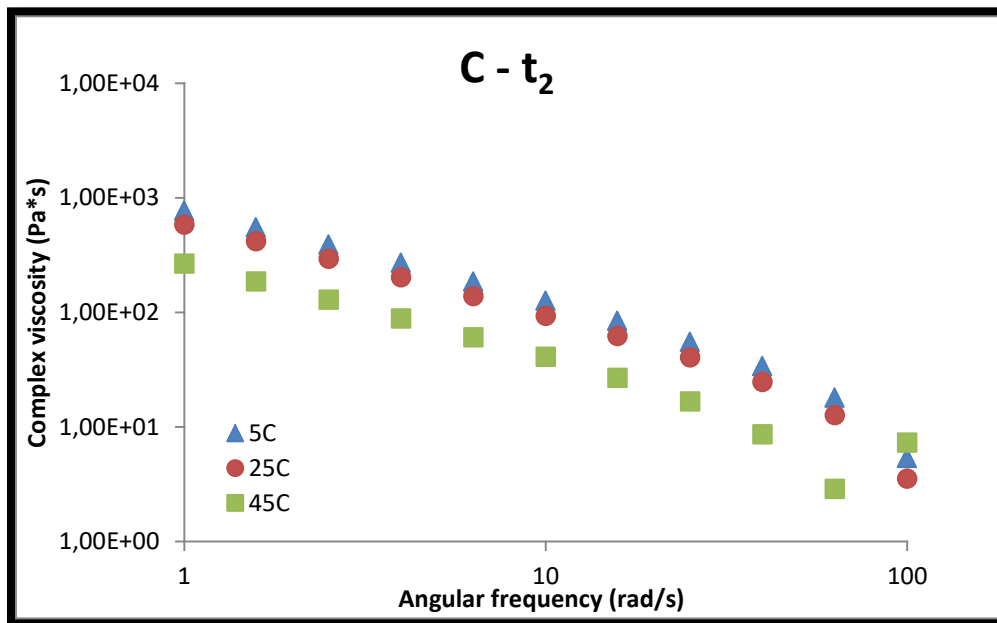
#### Επίδραση των διαφορετικών θερμοκρασιών αποθήκευσης στο σύνθετο ιώδες για τους χρόνους αποθήκευσης

Στα Διαγράμματα 33 – 38 παρουσιάζονται οι διαφορές στο σύνθετο ιώδες  $\eta^*$  για όλο το εύρος τιμών της γωνιακής συχνότητας και μελετάται η επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης σε αυτό (το ιώδες) για τους χρόνους αποθήκευσης.

- Κρέμα βάση (C)

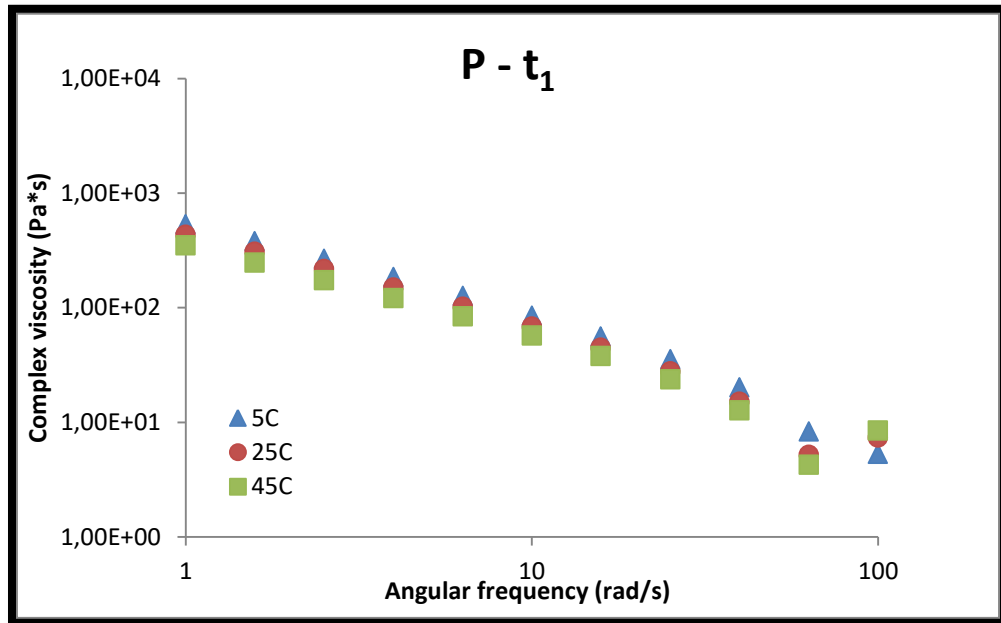


Διάγραμμα 33: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα βάση (C) στις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης για χρόνο αποθήκευσης 30 ημέρες

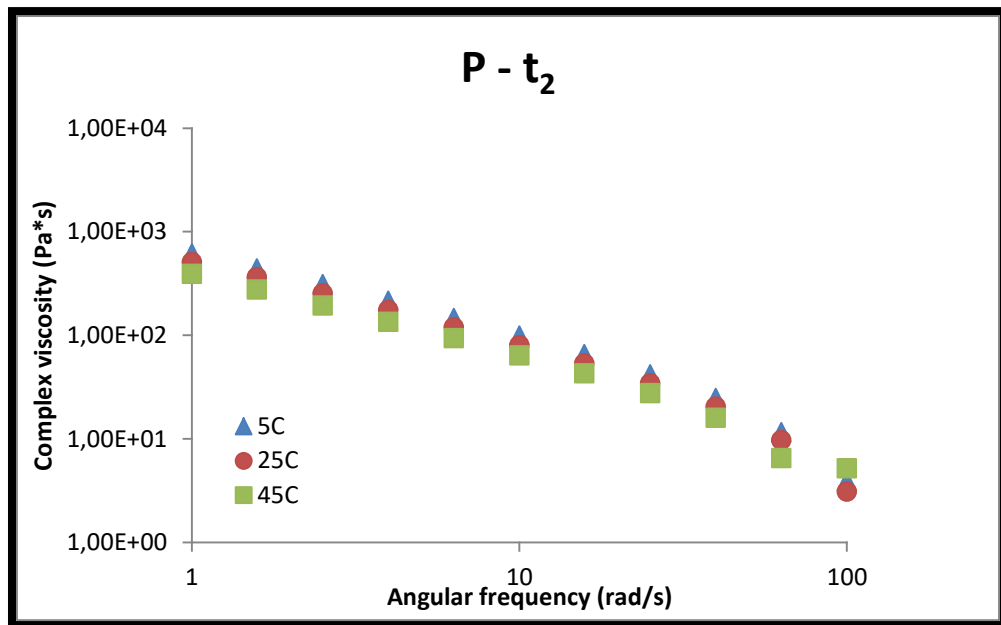


Διάγραμμα 34: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα βάση (C) στις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης για χρόνο αποθήκευσης 50 ημέρες

- Κρέμα με ναοΐνες ροδιού (P)

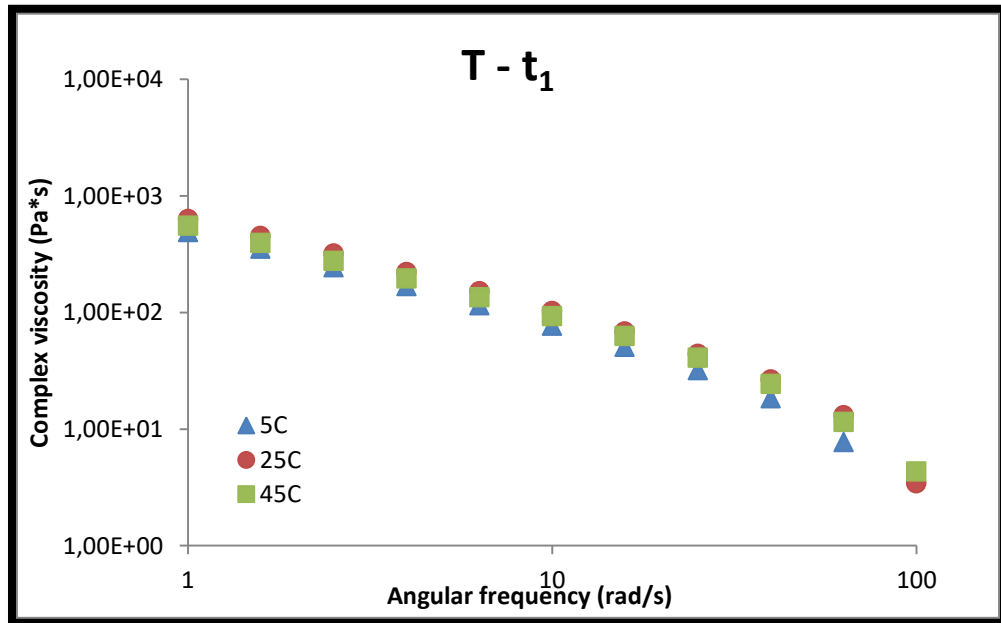


Διάγραμμα 35: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις ναοΐνες εκχυλίσματος ροδιού (P) στις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης για χρόνο αποθήκευσης 30 ημέρες

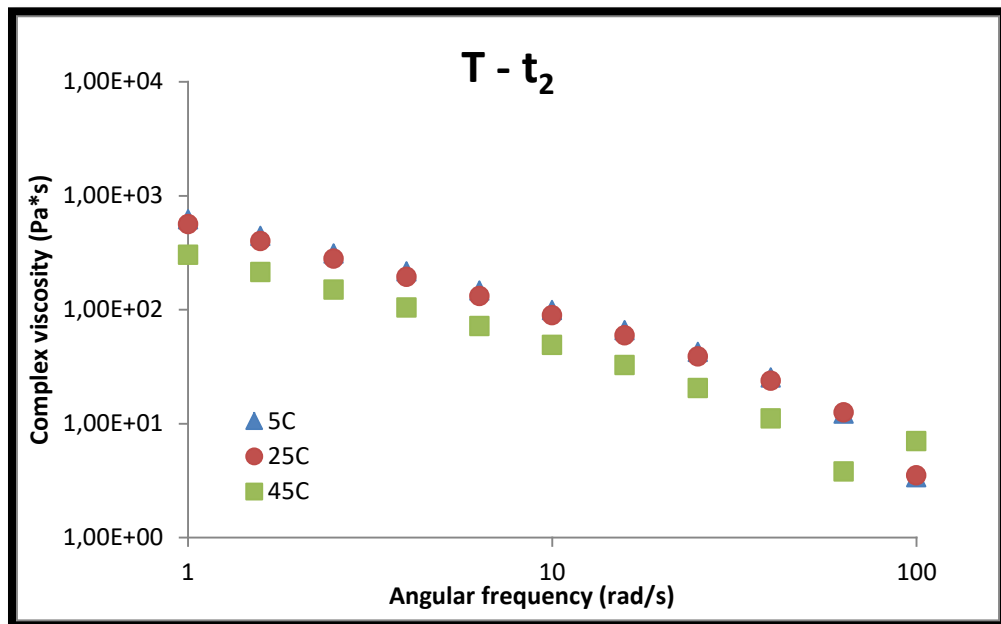


Διάγραμμα 36: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις ναοΐνες εκχυλίσματος ροδιού (P) στις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης για χρόνο αποθήκευσης 50 ημέρες

- Κρέμα με νανοΐνες Tea Tree Oil (T)



Διάγραμμα 37: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις νανοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil (T) στις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης για χρόνο αποθήκευσης 30 ημέρες



Διάγραμμα 38: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την κρέμα με τις νανοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil (T) στις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης για χρόνο αποθήκευσης 50 ημέρες

Από τα Διαγράμματα 33 και 34 για την κρέμα βάση (C), προκύπτει ότι η θερμοκρασία αποθήκευσης δεν επηρεάζει το σύνθετο ιξώδες στις 30 ημέρες αποθήκευσης. Ωστόσο, στις 50

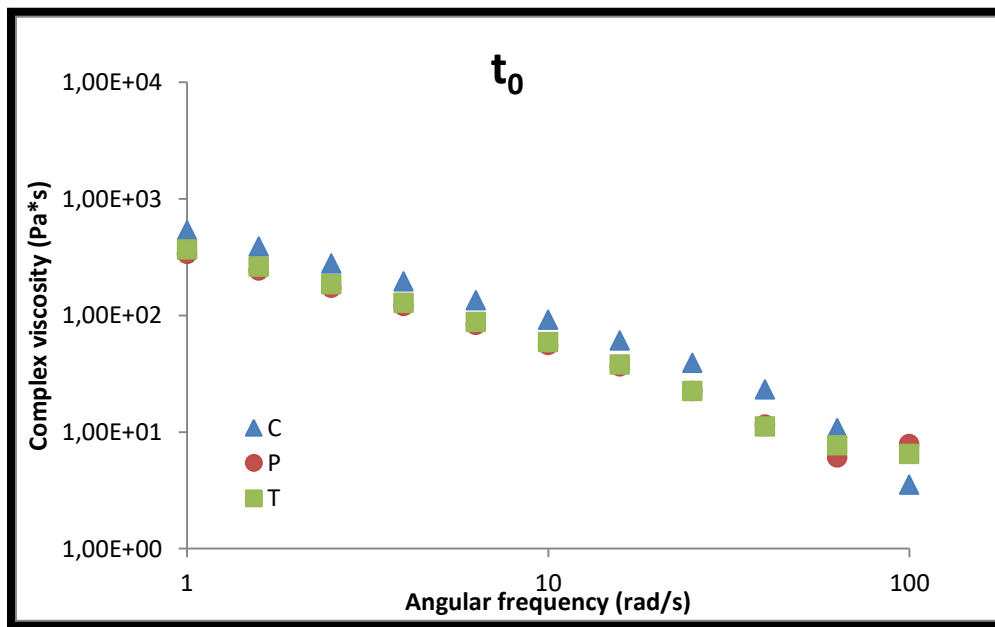
ημέρες αποθήκευσής το σύνθετο ιξώδες της κρέμας, μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας με μεγαλύτερη μείωση στη θερμοκρασία των 45 °C.

Από τα Διαγράμματα 35 και 36 για την κρέμα με τις νανοϊνες εκχυλίσματος ροδιού (P), προκύπτει ότι για όλες τις θερμοκρασίες αποθήκευσης το σύνθετο ιξώδες δεν μεταβάλλεται σε μεγάλο βαθμό τόσο στις 30 όσο και στις 50 ημέρες. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει τη σταθερότητα στη δομή της εν λόγω κρέμας.

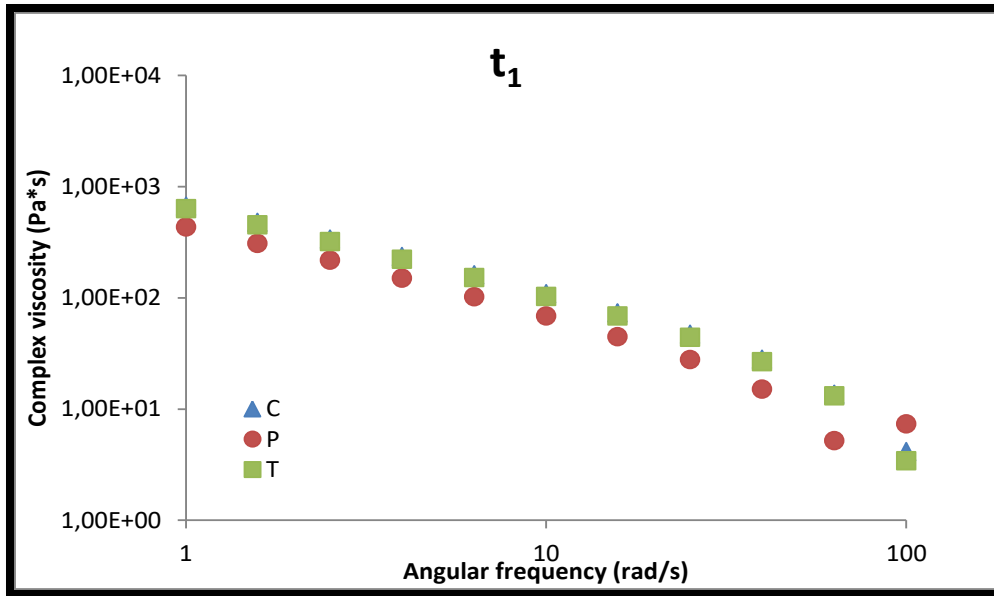
Από τα Διαγράμματα 37 και 38 για την κρέμα με τις νανοϊνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil (T), προκύπτει ότι παρουσιάζει ανάλογη συμπεριφορά με αυτήν της κρέμας βάση.

#### Επίδραση της εγκλεισμένης ουσίας στο σύνθετο ιξώδες για 0, 30 και 50 ημέρες στους 25 °C

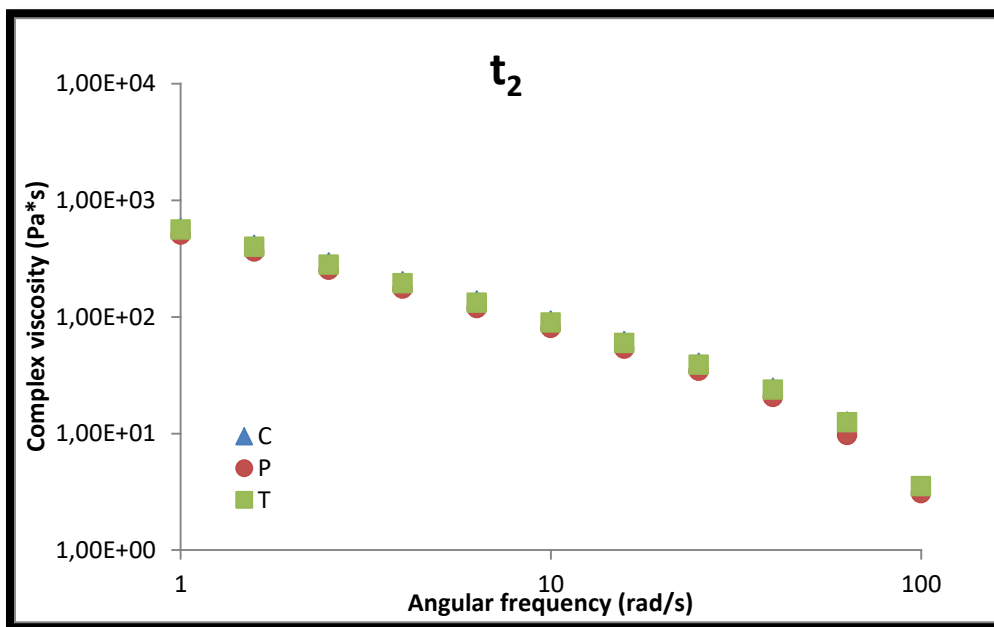
Στα Διαγράμματα 39 – 41, παρουσιάζεται η επίδραση της εγκλεισμένης ουσίας (εκχύλισμα ροδιού και εκχύλισμα Tea Tree Oil) στο σύνθετο ιξώδες  $\eta^*$  σε όλο το εύρος της γωνιακής συχνότητας στις ημέρες αποθήκευσης.



Διάγραμμα 39: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για τις τρεις κρέμες την ημέρα 0 (T = 25 °C)



Διάγραμμα 40: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για τις τρεις κρέμες την 30<sup>η</sup> ημέρα ( $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$ )



Διάγραμμα 41: Σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για τις τρεις κρέμες την 50<sup>η</sup> ημέρα ( $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$ )

Από το Διάγραμμα 39, προκύπτει ότι η κρέμα με τις νανοϊνες εκχυλίσματος ροδιού και αυτή με τις νανοϊνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil, την ημέρα 0, έχουν χαμηλότερο σύνθετο ιξώδες από αυτό της κρέμας βάση.

Στο Διάγραμμα 40, παρατηρείται ότι την 30<sup>η</sup> ημέρα αποθήκευσης η κρέμα με τις νανοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil και η κρέμα βάση, παρουσιάζουν υψηλότερο σύνθετο ιξώδες από αυτό της κρέμας με νανοΐνες εκχυλίσματος ροδιού.

Από το Διάγραμμα 41, προκύπτει ότι την 50<sup>η</sup> ημέρα αποθήκευσης το σύνθετο ιξώδες και των τριών κρεμών παρουσιάζει την ίδια συμπεριφορά.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η εγκλεισμένη ουσία δεν επηρέασε σε μεγάλο βαθμό το σύνθετο ιξώδες.





## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ - ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Οι σύγχρονες τάσεις στη βιομηχανία καλλυντικών, επιβάλλουν τη δημιουργία ολοένα και πιο καινοτόμων προϊόντων. Τέτοια είναι και αυτά, στα οποία προστίθενται βιοδραστικές ουσίες από φυσικές πηγές και παρουσιάζουν πληθώρα βελτιωμένων και ευεργετικών για το ανθρώπινο δέρμα ιδιοτήτων, έναντι των κλασσικών χημικής φύσεως συντηρητικών.

Ο εγκλεισμός παρέχει την απάντηση στις σύγχρονες τάσεις της βιομηχανίας καλλυντικών, καθώς συμβάλλει στην προστασία και τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας των βιοδραστικών ουσιών, στην κάλυψη των ανεπιθύμητων ιδιοτήτων τους καθώς και στην ελεγχόμενη αποδέσμευσή τους. Ανεπιθύμητες οργανοληπτικές ιδιότητες, όπως το χρώμα και η οσμή των βιοδραστικών ουσιών, δεν αποτελούν πλέον τροχοπέδη στη χρήση αυτών (των βιοδραστικών ουσιών) στη βιομηχανία καλλυντικών.

Έτσι, το διεθνές επιστημονικό ενδιαφέρον έχει στραφεί στη μελέτη καινοτόμων μεθόδων νανοεγκλεισμού, όπως αυτή της Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης. Στα πλεονεκτήματα της μεθόδου αυτής, έναντι άλλων μεθόδων νανοεγκλεισμού, συγκαταλέγονται η ευελιξία, η αποτελεσματικότητα στον εγκλεισμό και η προστασία των βιοδραστικών συστατικών από αλλοιώσεις κατά την διεξαγωγή της διεργασίας. Οι παράμετροι της εν λόγω διεργασίας και το πως αυτές επηρεάζουν τις νανοδομές εγκλεισμού και κατ' επέκταση τις ιδιότητες τους στο τελικό προϊόν είναι υψίστης σημασίας γι' αυτό και εξετάστηκαν ενδελεχώς στην παρούσα διπλωματική εργασία.

Από την εφαρμογή και τη **μελέτη της τεχνικής της ηλεκτροστατικής ινοποίησης για τον εγκλεισμό αντισηπτικών** (εκχύλισμα Tea Tree Oil) και **αντιοξειδωτικών** (εκχύλισμα ροδιού) **ουσιών**, προέκυψαν συνοπτικά τα παρακάτω συμπεράσματα:

- Το εκχύλισμα ροδιού, που παραλήφθηκε και διέθετε κοκκομετρία 0 – 500 nm, είχε πολύ υψηλό ολικό φαινολικό φορτίο άρα και πολύ ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα. Υψηλή συγκέντρωση, άρα και μεγάλη αντισηπτική ικανότητα, είχε και το εμπορικά διαθέσιμο εκχύλισμα Tea Tree Oil, που χρησιμοποιήθηκε.
- Ιδανική για εφαρμογή σε νανοεγκλεισμό, ήταν και η κυκλοδεξτρίνη, που χρησιμοποιήθηκε ως μήτρα, καθώς διαθέτει λιπόφιλη κοιλότητα (που συμπλοκοποιείται άριστα με υδρόφοβα συστατικά, όπως το εκχύλισμα Tea Tree Oil) και παρέχει διευρυμένη βιοδιαθεσιμότητα σε ουσίες, που περιέχουν γαλλικό οξύ (όπως το εκχύλισμα ροδιού).

- Από την εξέταση των ναοϊνών στο Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης, προέκυψε, αρχικά ότι καταλληλότερο για χρήση στον ναοεγκλεισμό ήταν το υδατικό διάλυμα κυκλοδεξτρίνης, συγκέντρωσης 60%, καθώς τα διαλύματα χαμηλότερης συγκέντρωσης δεν ευνοούν τη δημιουργία κώνου Taylor και τη συνεχόμενη έγχυση. Επιπλέον, προέκυψε ότι με αύξηση της παροχής των ουσιών και της επιβαλλόμενης τάσης, προκύπτουν ναοΐνες με μορφολογίες ανομοιογενών συσσωματωμάτων (beads – αστοχίες) και το πλέγμα των ναοϊνών γίνεται πιο πυκνό. Δεδομένων των αποτελεσμάτων αυτών, επιλέχθηκαν οι καλύτερες για τις συγκεκριμένες ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν, συνθήκες.
- Το ποσοστό εγκλεισμού για τις ναοΐνες εκχυλίσματος ροδιού προέκυψε μικρότερο από αυτό των ναοϊνών εκχυλίσματος Tea Tree Oil. Αυτό εξηγείται από τη μοριακή δομή της κυκλοδεξτρίνης (υδροφοβική, λιπόφιλη κουλότητα, η οποία σχηματίζει πιο σταθερά σύμπλοκα εγκλεισμού με υδροφοβικές ουσίες, όπως το Tea Tree Oil, ενώ το εκχύλισμα ροδιού ήταν υδατικό, άρα υδρόφιλο, διάλυμα).
- Η μέθοδος της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης, έδειξε ότι οι εγκλεισμένες ουσίες και οι συνθήκες παροχής και επιβαλλόμενης τάσης δεν επηρεάζουν σημαντικά το σημείο τήξης της κυκλοδεξτρίνης. Ακόμη, επιβεβαίωσε την καλύτερη συμβατότητα το εκχυλίσματος ΤΤΟ κατά τη συμπλοκοποίησή του με την κυκλοδεξτρίνη.

Φυσικά, μολονότι η μέθοδος της Ομοαξονικής Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης, αποτελεί μία πολλά υποσχόμενη μέθοδο με προοπτικές, απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση της τεχνολογίας της προκειμένου να αναπτυχθεί. Σε πειραματικό επίπεδο οι περισσότερες έρευνες και τα πειράματα, που έχουν γίνει για τη μέθοδο της Ομοαξονικής Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης, βασίζονται στην εμπειρία των εκάστοτε πειραματιστών, σε συγκεκριμένους συνδυασμούς υλικών και σε εμπειρική επιλογή των παραμέτρων της διεργασίας. Η αξιόπιστη και επαναλήψιμη κατασκευή ναοϊνών με την εν λόγω τεχνική, δυσχεραίνεται λόγω της έλλειψης ενός συστηματικού τρόπου ελέγχου της διαδικασίας και τυποποιημένων πρωτοκόλλων. Επιπλέον, η μαζική παραγωγή ναοϊνών παρεμποδίζεται λόγω του ότι δεν έχει βρεθεί κάποια αρκετά αποτελεσματική μέθοδος συλλογής της παραγόμενης ουσίας από τον συλλέκτη, ούτε έχει σχεδιασθεί ένα αρκετά παραγωγικό ακροφύσιο. Μελλοντικά, απαιτείται η διεξαγωγή ενδεδειγμένων πειραματικών, θεωρητικών και αριθμητικών μελετών, προκειμένου να κατανοηθεί καλύτερα η φύση της εν λόγω μεθόδου και να προκύψουν ποσοτικά στοιχεία για τον έλεγχο της διεργασίας.

Οι ενδεδειχθείσες αυτές μελέτες κρίνονται απαραίτητες, προκειμένου η πολλά υποσχόμενη τεχνολογία της Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης να μεταφερθεί από την εργαστηριακή σε βιομηχανική κλίμακα. Για την επίτευξη αυτού του εγχειρήματος, απαιτείται η συνεργασία

ερευνητών διαφόρων επιστημονικών πεδίων, συμπεριλαμβανομένων της χημείας, της μηχανικής, της φυσικής, της βιολογίας, της κοσμετολογίας και της φαρμακευτικής.

**Από την εφαρμογή των νανοϊνών, που παράχθηκαν και ελέχθηκαν σε καλλυντικές κρέμες προσώπου** (Κρέμα βάση χωρίς νανοΐνες – C, κρέμα βάση με νανοΐνες εκχυλίσματος ροδιού – P και κρέμα βάση με νανοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil – T) προέκυψαν τα παρακάτω συμπεράσματα:

- Παρά τις μεγάλες πιθανότητες μικροβιακής επιμόλυνσης των καλλυντικών προϊόντων, οι εν λόγω καλλυντικές κρέμες, δεν παρουσίασαν μικροβιακή επιμόλυνση (ήταν μικροβιολογικά σταθερές) κατά τη διάρκεια των μικροβιακών αναλύσεων για το σύνολο των θερμοκρασιών αποθήκευσης. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι η χρήση νανοϊνών αντιμικροβιακών, αντισηπτικών (εκχύλισμα Tea Tree Oil) και αντιοξειδωτικών ουσιών (εκχύλισμα ροδιού), ενίσχυσε τη μικροβιολογική σταθερότητα των κρεμών.
- Από την ανάλυση pH για τις θερμοκρασίες και τις ημέρες αποθήκευσης προέκυψε αρχικά, ότι οι κρέμες διέθεταν pH εντός των επιτρεπτών ορίων (pH) για χρήση στο ανθρώπινο δέρμα. Οι μικρές αλλαγές του pH των κρεμών, που περιείχαν τις νανοΐνες, έναντι του pH της κρέμας βάσης, οφείλονται στη σταδιακή αποδέσμευση των βιοδραστικών συστατικών τους (αντισηπτικές, αντιμικροβιακές, αντιοξειδωτικές ουσίες), τα οποία ταυτόχρονα σταθεροποιούν τη δομή τους.
- Όσον αφορά στο χρώμα των καλλυντικών κρεμών, η κρέμα με τις νανοΐνες εκχυλίσματος Tea Tree Oil, παρουσίασε το πιο πράσινο χρώμα (παράγοντας a\*) από τις τρεις κρέμες και η κρέμα με τις νανοΐνες εκχυλίσματος ροδιού το πιο κόκκινο χρώμα (παράγοντας b\*) από τις τρεις κρέμες, κατά την αποθήκευσή τους στις τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες (5, 25 και 45 °C). Τα αποτελέσματα αυτά οφείλονται στη φυτική προέλευση των δύο εκχυλισμάτων και στις εκάστοτε βιοδραστικές ουσίες που περιέχουν οι δύο τύποι νανοϊνών, οι οποίες αποδεσμεύονται από αυτές με την πάροδο του χρόνου. Επιπλέον, οι τρεις κρέμες παρουσίασαν παρόμοια φωτεινότητα (παράγοντας L\*). Όσον αφορά στη μέτρηση της συνολικής μεταβολής του χρώματος και οι τρεις κρέμες επέδειξαν παρόμοια συμπεριφορά και δεν παρουσίασαν μεγάλες μεταβολές, γεγονός που υποδεικνύει τη σταθερότητα τους.
- Τέλος, από τα αποτελέσματα της Δυναμικής Μηχανικής Ανάλυσης των καλλυντικών κρεμών, προέκυψε ότι τα τρία δείγματα κρέμας παρουσιάζουν ελαστική συμπεριφορά και είναι κατάλληλα για πρακτική εφαρμογή στη βιομηχανία καλλυντικών. Επιπλέον, αποδείχθηκε ότι εν γένει το σύνθετο ιξώδες των τριών κρεμών παρουσιάζει παρόμοια συμπεριφορά για τη μεταβολή τόσο της θερμοκρασίας αποθήκευσης όσο και των ημερών αποθήκευσης και παραμένει σχετικά σταθερό, γεγονός που υποδεικνύει τη συνεκτικότητά τους.

Εν γένει, στο πλαίσιο της παρούσας διπλωματικής εργασίας και για την ανάλυση για χρονικό διάστημα αποθήκευσης 50 ημερών, που πραγματοποιήθηκε, προέκυψε ότι η προσθήκη των νανοϊών εκχυλίσματος ροδιού και εκχυλίσματος Tea Tree Oil σε περιεκτικότητα 1% στις καλλυντικές κρέμες, προσέδωσε σε αυτές ιδιαίτερες ιδιότητες ως ένα βαθμό. Έτσι, δημιουργήθηκε ένα καινοτόμο, πρωτότυπο και με μοναδικά χαρακτηριστικά προϊόν, του οποίου η εφαρμογή στη βιομηχανία καλλυντικών μπορεί μελλοντικά να αποβεί καθοριστική.

Εν κατακλείδι, οι μεθοδολογίες και τα επιστημονικά ευρήματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας, ενδείκνυται να χρησιμοποιηθούν στο μέλλον για αντίστοιχα πειράματα από άλλους ερευνητές, ούτως ώστε η παραγωγή των προϊόντων που μελετήθηκαν σε καθαρά πειραματικό πλαίσιο, να εδραιωθεί σε βιομηχανική κλίμακα.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Morrow Jr K. J., Bawa R., and Wei C. (2007). "Recent Advances in Basic and Clinical Nanomedicine", *Medical Clinics of North America*, 91/ 5, pages 805-843.
2. Gharsallaoui A., Roudaut G., Chambin O., Voilley A., and Saurel R. (2007). "Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview", *Food Research International*, 40/ 9, pages 1107-1121.
3. Ταυρίδου Ε. (2012). " Η εφαρμογή της ενθυλάκωσης στην ανάπτυξη διατροφικών συμπληρωμάτων".
4. Γαϊτανάρου Α. Μ. (2013). "Εγκλεισμός βιοδραστικών μορίων νε νανοσωματίδια βιοδιασπάσιμου πολυμερούς".
5. Hu X., Liu S., Zhou G., Huang Y., Xie Z., and Jing X. (2014). "Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications", *Journal of Controlled Release*, 185/ pages 12-21.
6. Ashammakhi N., Wimpenny I., Nikkola L., and Yang Y. (2009). "Electrospinning: Methods and Development of Biodegradable Nanofibres for Drug Release", *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 5/ 1, pages 1-19.
7. Zambaux M. F., Bonneaux F., Gref R., Dellacherie E., and Vigneron C. (1999). "Preparation and characterization of protein C-loaded PLA nanoparticles", *Journal of Controlled Release*, 60/ 2–3, pages 179-188.
8. Ji J., Hao S., Wu D., Huang R., and Xu Y. (2011). "Preparation, characterization and in vitro release of chitosan nanoparticles loaded with gentamicin and salicylic acid", *Carbohydrate Polymers*, 85/ 4, pages 803-808.
9. Nguyen T. T. T., Ghosh C., Hwang S.-G., Chanunpanich N., and Park J. S. (2012). "Porous core/sheath composite nanofibers fabricated by coaxial electrospinning as a potential mat for drug release system", *International Journal of Pharmaceutics*, 439/ 1–2, pages 296-306.
10. Jamileh M. (2007). "Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems".
11. Biesalski H.-K., Dragsted L. O., Elmadfa I., Grossklaus R., Müller M., Schrenk D., Walter P., and Weber P. "Bioactive compounds: Definition and assessment of activity", *Nutrition*, 25/ 11, pages 1202-1205.
12. Joana Gil-Chávez G., Villa J. A., Fernando Ayala-Zavala J., Basilio Heredia J., Sepulveda D., Yahia E. M., and González-Aguilar G. A. (2013). "Technologies for Extraction and Production of Bioactive Compounds to be Used as Nutraceuticals and Food Ingredients: An Overview", *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12/ 1, pages 5-23.
13. Wang S., Marccone M. F., Barbut S., and Lim L.-T. (2013). "Electrospun soy protein isolate-based fiber fortified with anthocyanin-rich red raspberry (*Rubus strigosus*) extracts", *Food Research International*, 52/ 2, pages 467-472.
14. de Vos P., Faas M. M., Spasojevic M., and Sikkema J. (2010). "Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components", *International Dairy Journal*, 20/ 4, pages 292-302.

15. Χρανιώτη Χ. and Τζιά Κ. (2012). "ΜΙΚΡΟΕΓΚΛΕΙΣΜΟΣ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ".
16. Anu Bhushani J. and Anandharamakrishnan C. (2014). "Electrospinning and electro spraying techniques: Potential food based applications", *Trends in Food Science & Technology*, 38/ 1, pages 21-33.
17. Ray S., Raychaudhuri U., and Chakraborty R. (2016). "An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology", *Food Bioscience*, 13/ pages 76-83.
18. Gouin S. (2004). "Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends", *Trends in Food Science & Technology*, 15/ 7–8, pages 330-347.
19. Shao S., Li L., Yang G., Li J., Luo C., Gong T., and Zhou S. (2011). "Controlled green tea polyphenols release from electrospun PCL/MWCNTs composite nanofibers", *International Journal of Pharmaceutics*, 421/ 2, pages 310-320.
20. Lohani A., Verma A., Joshi H., Yadav N., and Karki N. (2014). "Nanotechnology-Based Cosmeceuticals", *ISRN Dermatology*, 2014/ pages 14.
21. Nirvesh Chaudhri G. C. S., S. K. Prajapati (2015). "Nanotechnology: An Advance Tool for Nano-cosmetics Preparation", 4/ 4, pages 28-40.
22. Agarwal S., Wendorff J. H., and Greiner A. (2008). "Use of electrospinning technique for biomedical applications", *Polymer*, 49/ 26, pages 5603-5621.
23. Krasaekoopt W., Bhandari B., and Deeth H. (2003). "Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt", *International Dairy Journal*, 13/ 1, pages 3-13.
24. Heidebach T., Först P., and Kulozik U. (2012). "Microencapsulation of Probiotic Cells for Food Applications", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52/ 4, pages 291-311.
25. Martín M. J., Lara-Villoslada F., Ruiz M. A., and Morales M. E. (2015). "Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects", *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 27/ pages 15-25.
26. Marques H. M. C. (2010). "A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles", *Flavour and Fragrance Journal*, 25/ 5, pages 313-326.
27. Ramakrishna S. (2005). "An Introduction to Electrospinning and Nanofibers", World Scientific.
28. Kriegel C., Kit K. M., McClements D. J., and Weiss J. (2009). "Nanofibers as Carrier Systems for Antimicrobial Microemulsions. Part I: Fabrication and Characterization", *Langmuir*, 25/ 2, pages 1154-1161.
29. Celebioglu A. and Uyar T. (2013). "Electrospinning of nanofibers from non-polymeric systems: Electrospun nanofibers from native cyclodextrins", *Journal of Colloid and Interface Science*, 404/ pages 1-7.
30. Dong H., Wang D., Sun G., and Hinestroza J. P. (2008). "Assembly of Metal Nanoparticles on Electrospun Nylon 6 Nanofibers by Control of Interfacial Hydrogen-Bonding Interactions", *Chemistry of Materials*, 20/ 21, pages 6627-6632.
31. Kayaci F. and Uyar T. (2012). "Electrospun zein nanofibers incorporating cyclodextrins", *Carbohydrate Polymers*, 90/ 1, pages 558-568.
32. Camerlo A., Bühlmann-Popa A. M., Vebert-Nardin C., Rossi R. M., and Fortunato G. (2014). "Environmentally controlled emulsion electrospinning for the encapsulation of

- temperature-sensitive compounds", *Journal of Materials Science*, 49/ 23, pages 8154-8162.
33. Crespy D., Friedemann K., and Popa A.-M. (2012). "Colloid-Electrospinning: Fabrication of Multicompartment Nanofibers by the Electrospinning of Organic or/and Inorganic Dispersions and Emulsions", *Macromolecular Rapid Communications*, 33/ 23, pages 1978-1995.
  34. Blanco-Padilla A., López-Rubio A., Loarca-Piña G., Gómez-Mascaraque L. G., and Mendoza S. (2015). "Characterization, release and antioxidant activity of curcumin-loaded amaranth-pullulan electrospun fibers", *LWT - Food Science and Technology*, 63/ 2, pages 1137-1144.
  35. Camerlo A., Vebert-Nardin C., Rossi R. M., and Popa A. M. (2013). "Fragrance encapsulation in polymeric matrices by emulsion electrospinning", *European Polymer Journal*, 49/ 12, pages 3806-3813.
  36. Aytac Z., Kusku S. I., Durgun E., and Uyar T. (2016). "Encapsulation of gallic acid/cyclodextrin inclusion complex in electrospun polylactic acid nanofibers: Release behavior and antioxidant activity of gallic acid", *Materials Science and Engineering: C*, 63/ pages 231-239.
  37. Wenguo C., Yue Z., and Jiang C. (2010). "Electrospun nanofibrous materials for tissue engineering and drug delivery", *Science and Technology of Advanced Materials*, 11/ 1.
  38. Ghitescu R.-E., Popa A.-M., Popa V. I., Rossi R. M., and Fortunato G. (2015). "Encapsulation of polyphenols into pHEMA e-spun fibers and determination of their antioxidant activities", *International Journal of Pharmaceutics*, 494/ 1, pages 278-287.
  39. Aytac Z., Kusku S. I., Durgun E., and Uyar T. (2016). "Quercetin/ $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex embedded nanofibres: Slow release and high solubility", *Food Chemistry*, 197, Part A/ pages 864-871.
  40. Raghavan P., Lim D.-H., Ahn J.-H., Nah C., Sherrington D. C., Ryu H.-S., and Ahn H.-J. (2012). "Electrospun polymer nanofibers: The booming cutting edge technology", *Reactive and Functional Polymers*, 72/ 12, pages 915-930.
  41. Kai D., Liow S. S., and Loh X. J. (2014). "Biodegradable polymers for electrospinning: Towards biomedical applications", *Materials Science and Engineering: C*, 45/ pages 659-670.
  42. Kayaci F., Sen H. S., Durgun E., and Uyar T. (2014). "Functional electrospun polymeric nanofibers incorporating geraniol–cyclodextrin inclusion complexes: High thermal stability and enhanced durability of geraniol", *Food Research International*, 62/ pages 424-431.
  43. Nirvesh Chaudhri G. C. S., S. K. Prajapati (April 2015). "Nanotechnology: An Advance Tool for Nano-cosmetics Preparation", *International Journal of Pharma Research & Review*, 4/ 4, pages 28 - 40.
  44. Martina R., Subramanian S., Damian P., Seeram R., and Michele M. (2008). "Multifunctional membranes based on spinning technologies: the synergy of nanofibers and nanoparticles", *Nanotechnology*, 19/ 28.
  45. Παπαστεργίου Α. (2008). "Εγκλεισμός αμοξικιλίνης σε ινώδη ικρίωματα οξικής κυτταρίνης".

46. Bazilevsky A. V., Yarin A. L., and Megaridis C. M. (2007). "Co-electrospinning of Core-Shell Fibers Using a Single-Nozzle Technique", *Langmuir*, 23/ 5, pages 2311-2314.
47. Theron A., Zussman E., and Yarin A. L. (2001). "Electrostatic field-assisted alignment of electrospun nanofibres", *Nanotechnology*, 12/ 3, pages 384.
48. Li D., Wang Y., and Xia Y. (2003). "Electrospinning of Polymeric and Ceramic Nanofibers as Uniaxially Aligned Arrays", *Nano Letters*, 3/ 8, pages 1167-1171.
49. Khajavi R. and Abbasipour M. (2012). "Electrospinning as a versatile method for fabricating coreshell, hollow and porous nanofibers", *Scientia Iranica*, 19/ 6, pages 2029-2034.
50. Qian W., Yu D.-G., Li Y., Li X.-Y., Liao Y.-Z., and Wang X. (2013). "Triple-Component Drug-Loaded Nanocomposites Prepared Using a Modified Coaxial Electrospinning", *Journal of Nanomaterials*.
51. Neo Y. P. (2014). "Electrospinning as a Novel Encapsulation Method for Food Applications".
52. Riddick J. A., Bunger W. B., and Sakano T. K. (1986). "Organic Solvents: Physical Properties and Methods of Purification", Wiley.
53. Deitzel J. M., Kleinmeyer J., Harris D., and Beck Tan N. C. (2001). "The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles", *Polymer*, 42/ 1, pages 261-272.
54. Eda G. and Shivkumar S. (2007). "Bead-to-fiber transition in electrospun polystyrene", *Journal of Applied Polymer Science*, 106/ 1, pages 475-487.
55. Yang Q., Li Z., Hong Y., Zhao Y., Qiu S., Wang C., and Wei Y. (2004). "Influence of solvents on the formation of ultrathin uniform poly(vinyl pyrrolidone) nanofibers with electrospinning", *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 42/ 20, pages 3721-3726.
56. Brandenberger H., Nüssli D., Piëch V., and Widmer F. (1999). "Monodisperse particle production: A method to prevent drop coalescence using electrostatic forces", *Journal of Electrostatics*, 45/ 3, pages 227-238.
57. Koski A., Yim K., and Shivkumar S. (2004). "Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning", *Materials Letters*, 58/ 3-4, pages 493-497.
58. Zhao Y. Y., Yang Q. B., Lu X. F., Wang C., and Wei Y. (2005). "Study on correlation of morphology of electrospun products of polyacrylamide with ultrahigh molecular weight", *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 43/ 16, pages 2190-2195.
59. Larrondo L. and St. John Manley R. (1981). "Electrostatic fiber spinning from polymer melts. I. Experimental observations on fiber formation and properties", *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition*, 19/ 6, pages 909-920.
60. Ki C. S., Baek D. H., Gang K. D., Lee K. H., Um I. C., and Park Y. H. (2005). "Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin-formic acid solution", *Polymer*, 46/ 14, pages 5094-5102.
61. Chen X., Jia L., Yin X., Cheng J., and Lu J. (2005). "Spraying modes in coaxial jet electrospray with outer driving liquid", *Physics of Fluids*, 17/ 3.
62. Haghi A. K. and Akbari M. (2007). "Trends in electrospinning of natural nanofibers", *physica status solidi (a)*, 204/ 6, pages 1830-1834.



63. López-Herrera J. M., Barrero A., López A., Loscertales I. G., and Márquez M. (2003). "Coaxial jets generated from electrified Taylor cones. Scaling laws", *Journal of Aerosol Science*, 34/ 5, pages 535-552.
64. Chaobo H., Shuiliang C., Chuilin L., Darrell H. R., Haiyan Q., Ying Y., and Haoqing H. (2006). "Electrospun polymer nanofibres with small diameters", *Nanotechnology*, 17/ 6.
65. Zong X., Kim K., Fang D., Ran S., Hsiao B. S., and Chu B. (2002). "Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes", *Polymer*, 43/ 16, pages 4403-4412.
66. Yuan X., Zhang Y., Dong C., and Sheng J. (2004). "Morphology of ultrafine polysulfone fibers prepared by electrospinning", *Polymer International*, 53/ 11, pages 1704-1710.
67. Demir M. M., Yilgor I., Yilgor E., and Erman B. (2002). "Electrospinning of polyurethane fibers", *Polymer*, 43/ 11, pages 3303-3309.
68. Yördem O. S., Papila M., and Menciloğlu Y. Z. (2008). "Effects of electrospinning parameters on polyacrylonitrile nanofiber diameter: An investigation by response surface methodology", *Materials & Design*, 29/ 1, pages 34-44.
69. Buchko C. J., Chen L. C., Shen Y., and Martin D. C. (1999). "Processing and microstructural characterization of porous biocompatible protein polymer thin films", *Polymer*, 40/ 26, pages 7397-7407.
70. Mit-uppatham C., Nithitanakul M., and Supaphol P. (2004). "Ultrafine Electrospun Polyamide-6 Fibers: Effect of Solution Conditions on Morphology and Average Fiber Diameter", *Macromolecular Chemistry and Physics*, 205/ 17, pages 2327-2338.
71. Casper C. L., Stephens J. S., Tassi N. G., Chase D. B., and Rabolt J. F. (2004). "Controlling Surface Morphology of Electrospun Polystyrene Fibers: Effect of Humidity and Molecular Weight in the Electrospinning Process", *Macromolecules*, 37/ 2, pages 573-578.
72. Li Z. and Wang C. (2013). "Effects of Working Parameters on Electrospinning", in *One-Dimensional nanostructures: Electrospinning Technique and Unique Nanofibers*, Springer Berlin Heidelberg, pages 15-28.
73. Fong H., Chun I., and Reneker D. H. (1999). "Beaded nanofibers formed during electrospinning", *Polymer*, 40/ 16, pages 4585-4592.
74. Zhang L., Huang J., Si T., and Xu R. X. (2012). "Coaxial electrospray of microparticles and nanoparticles for biomedical applications", *Expert Review of Medical Devices*, 9/ 6, pages 595-612.
75. Aburjai T. and Natsheh F. M. (2003). "Plants used in cosmetics", *Phytotherapy Research*, 17/ 9, pages 987-1000.
76. Behravan J., Bazzaz F., and Malaekheh P. (2005). "Survey of bacteriological contamination of cosmetic creams in Iran (2000)", *International Journal of Dermatology*, 44/ 6, pages 482-485.
77. Kneifel W., Czech E., and Kopp B. (2002). "Microbial Contamination of Medicinal Plants - A Review", *Planta Med*, 68/ 01, pages 5-15.
78. Leistner L. (2000). "Basic aspects of food preservation by hurdle technology", *International Journal of Food Microbiology*, 55/ 1-3, pages 181-186.

79. Varvaresou A., Papageorgiou S., Tsirivas E., Protopapa E., Kintziou H., Kefala V., and Demetzos C. (2009). "Self-preserving cosmetics", *International Journal of Cosmetic Science*, 31/ 3, pages 163-175.
80. Wang K.-H., Lin R.-D., Hsu F.-L., Huang Y.-H., Chang H.-C., Huang C.-Y., and Lee M.-H. (2006). "Cosmetic applications of selected traditional Chinese herbal medicines", *Journal of Ethnopharmacology*, 106/ 3, pages 353-359.
81. Mandeel Q. A. (2005). "Fungal contamination of some imported spices", *Mycopathologia*, 159/ 2, pages 291-298.
82. Herrera A. G. (2004). "Microbiological Analysis of Cosmetics", in *Public Health Microbiology: Methods and Protocols*, Spencer J.F.T. and Ragout de Spencer A.L., Humana Press, pages 293-295.
83. Siegert W. (2012). "Microbiological quality management for the production of cosmetics and detergents", *SOFW Journal-Seifen Ole Fette Wachse*, 138/ 11, page 30.
84. Ravita T. D., Tanner R. S., Ahearn D. G., Arms E. L., and Crockett P. W. (2009). "Post-consumer use efficacies of preservatives in personal care and topical drug products: relationship to preservative category", *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 36/ 1, pages 35-38.
85. Abu Shaqra Q. M. and Al-Groom R. M. (2012). "Microbiological quality of hair and skin care cosmetics manufactured in Jordan", *International Biodeterioration & Biodegradation*, 69/ pages 69-72.
86. Orus P. and Leranoz S. (2005). "Current trends in cosmetic microbiology", *International Microbiology*, 8/ pages 77-79.
87. Ibănescu C., Danu M., Nanu A., Lungu M., and Simionescu B. C. (2010). "Stability of disperse systems estimated using rheological oscillatory shear tests", *Rev. Roum. Chim*, 55/ 11-12, pages 933-940.
88. Holzner G. (1994). "RHEOLOGICAL PROPERTIES OF COSMETICS AND TOILETRIES (Cosmetic Science and Technology Series No. 13), edited by Dennis Laba, Marcel Dekker, New York, 1993. No of pages: 440, price US\$165.00. ISBN 0-8247-9090-1", *Flavour and Fragrance Journal*, 9/ 3, pages 143-144.
89. Morton J. (1987). "Pomegranate, Fruits of warm climates.", pages 352 - 355.
90. Singh R. P., Chidambara Murthy K. N., and Jayaprakasha G. K. (2002). "Studies on the Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel and Seed Extracts Using in Vitro Models", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50/ 1, pages 81-86.
91. Masci A., Coccia A., Lendaro E., Mosca L., Paolicelli P., and Cesa S. (2016). "Evaluation of different extraction methods from pomegranate whole fruit or peels and the antioxidant and antiproliferative activity of the polyphenolic fraction", *Food Chemistry*, 202/ pages 59-69.
92. Munin A. and Edwards-Lévy F. (2011). "Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review", *Pharmaceutics*, 3/ 4, page 793.
93. Pool H., Quintanar D., Figueroa J. d. D., Marinho Mano C., Bechara J. E. H., God, #xed, nez L. A., and Mendoza S. (2012). "Antioxidant Effects of Quercetin and Catechin Encapsulated into PLGA Nanoparticles", *Journal of Nanomaterials*, page 12.

94. Bakowska-Barczak A. M. and Kolodziejczyk P. P. (2011). "Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation", *Industrial Crops and Products*, 34/ 2, pages 1301-1309.
95. Asbahani A. E., Miladi K., Badri W., Sala M., Addi E. H. A., Casabianca H., Mousadik A. E., Hartmann D., Jilale A., Renaud F. N. R., and Elaissari A. (2015). "Essential oils: From extraction to encapsulation", *International Journal of Pharmaceutics*, 483/ 1–2, pages 220-243.
96. Nerio L. S., Olivero-Verbel J., and Stashenko E. (2010). "Repellent activity of essential oils: A review", *Bioresource Technology*, 101/ 1, pages 372-378.
97. Deans S. G. and Ritchie G. (1987). "Antibacterial properties of plant essential oils", *International Journal of Food Microbiology*, 5/ 2, pages 165-180.
98. Ait-Ouazzou A., Cherrat L., Espina L., Lorán S., Rota C., and Pagán R. (2011). "The antimicrobial activity of hydrophobic essential oil constituents acting alone or in combined processes of food preservation", *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12/ 3, pages 320-329.
99. CFR (2015). "Code of Federal Regulations - Title 21".
100. Fukumoto S., Sawasaki E., Okuyama S., Miyake Y., and Yokogoshi H. (2006). "Flavor components of monoterpenes in citrus essential oils enhance the release of monoamines from rat brain slices", *Nutritional Neuroscience*, 9/ 1-2, pages 73-80.
101. Matura M., Sköld M., Börje A., Andersen K. E., Bruze M., Frosch P., Goossens A., Johansen J. D., Svedman C., White I. R., and Karlberg A.-t. (2005). "Selected oxidized fragrance terpenes are common contact allergens", *Contact Dermatitis*, 52/ 6, pages 320-328.
102. Karlberg A.-T., Magnusson K., and Nilsson U. (1992). "Air oxidation of d-limonene (the citrus solvent) creates potent allergens", *Contact Dermatitis*, 26/ 5, pages 332-340.
103. Sansukcharearnpon A., Wanichwecharungruang S., Leepipatpaiboon N., Kerdcharoen T., and Arayachukeat S. (2010). "High loading fragrance encapsulation based on a polymer-blend: Preparation and release behavior", *International Journal of Pharmaceutics*, 391/ 1–2, pages 267-273.
104. Carson C. F., Hammer K. A., and Riley T. V. (2006). "Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties", *Clinical Microbiology Reviews*, 19/ 1, pages 50-62.
105. Huynh Q., Phan T. D., Thieu V. Q. Q., Tran S. T., and Do S. H. (2012). "Extraction and refining of essential oil from Australian tea tree, Melaleuca alterfornia, and the antimicrobial activity in cosmetic products", *Journal of Physics: Conference Series*, 352/ 1.
106. Pazyar N., Yaghoobi R., Bagherani N., and Kazerouni A. (2013). "A review of applications of tea tree oil in dermatology", *International Journal of Dermatology*, 52/ 7, pages 784-790.
107. Sánchez-Navarro M. M., Cuesta-Garrote N., Arán-Aís F., and Orgilés-Barceló C. (2011). "Microencapsulation of Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil as Biocide for Footwear Applications", *Journal of Dispersion Science and Technology*, 32/ 12, pages 1722-1727.
108. Del Valle E. M. M. (2004). "Cyclodextrins and their uses: a review", *Process Biochemistry*, 39/ 9, pages 1033-1046.

109. Kayaci F. and Uyar T. (2012). "Encapsulation of vanillin/cyclodextrin inclusion complex in electrospun polyvinyl alcohol (PVA) nanowebs: Prolonged shelf-life and high temperature stability of vanillin", *Food Chemistry*, 133/ 3, pages 641-649.
110. Kant A., Linforth R. S. T., Hort J., and Taylor A. J. (2004). "Effect of  $\beta$ -Cyclodextrin on Aroma Release and Flavor Perception", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52/ 7, pages 2028-2035.
111. Fourmentin S., Ciobanu A., Landy D., and Wenz G. (2013). "Space filling of  $\beta$ -cyclodextrin and  $\beta$ -cyclodextrin derivatives by volatile hydrophobic guests", *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 9/ pages 1185-1191.
112. Szejtli J. (1998). "Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry", *Chemical Reviews*, 98/ 5, pages 1743-1754.
113. Mylona A.-E., Bimpilas A., Tsimogiannis D., and Oreopoulou V. (2013). "Characteristic phenolic composition of the Greek variety Mavrokountoura grape and wine", *Food Science and Biotechnology*, 22/ 6, pages 1515-1522.
114. Biolnicia I. P. A. (2015). "FLUIDNATEK LE -10 USER GUIDE".
115. Chorilli M., Oliveira M. B., Vieira D. C., Fiúza T. M., and Salgado H. R. (2013). "Microbiological control of moisturising mask formulation added of hibiscus flowers, assai palm, black mulberry and papaw glycolic extracts", *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5/ 1, pages 342-345.
116. Brannan D. K. and Geis P. A. (2009). "Cosmetics Microbiology. Applied Microbiology: Industrial | Cosmetics Microbiology.", *Elsevier*, pages 270-280.
117. ISO-NF-16212. (2008). "Cosmetics- Microbiology- Enumeration of yeast and mold.
118. Pharmacopeia U. S. (2012). "USP-35".
119. Matousek J. L., Campbell K. L., Kakoma I., Solter P. F., and Schaeffer D. J. (2003). "Evaluation of the effect of pH on in vitro growth of *Malassezia pachydermatis*", *Canadian Journal of Veterinary Research*, 67/ 1, pages 56-59.
120. Khan B. A., Akhtar N., Khan H., and Braga V. d. A. (2013). "Development, characterization and antioxidant activity of polysorbate based O/W emulsion containing polyphenols derived from *Hippophae rhamnoides* and *Cassia fistula*", *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49/ 4, pages 763-773.