



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΕΙΩΝ – ΜΕΤΑΛΛΟΥΡΓΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΜΕΤΑΛΛΟΥΡΓΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΥΛΙΚΩΝ

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΥΜΕΝΙΩΝ ΣΕ ΜΕΤΑΛΛΙΚΑ ΕΜΦΥΤΕΥΜΑΤΑ

Διπλωματική Εργασία

Δεμέτζος Νικόλαος

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Αθηνά Τσετσέκου, Καθηγήτρια ΕΜΠ

Αθήνα, 2021



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΕΙΩΝ – ΜΕΤΑΛΛΟΥΡΓΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΜΕΤΑΛΛΟΥΡΓΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΥΛΙΚΩΝ

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΥΜΕΝΙΩΝ ΣΕ ΜΕΤΑΛΛΙΚΑ ΕΜΦΥΤΕΥΜΑΤΑ

Διπλωματική Εργασία

Δεμέτζος Νικόλαος

Τριμελής εξεταστική επιτροπή:

Αθηνά Τσετσέκου, Καθηγήτρια ΕΜΠ (Επιβλέπουσα)

Ηλιάνα Χαλικιά, Καθηγήτρια ΕΜΠ

Δημήτρης Πάνιας, Καθηγητής ΕΜΠ

Αθήνα, 2021

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στη Σχολή Μηχανικών Μεταλλείων Μεταλλουργών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, υπό την ακαδημαϊκή επίβλεψη της κας. Α. Τσετσέκου. Τα πειράματα σύνθεσης πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Μεταλλογνωσίας. Οι μετρήσεις των αντιβιοτικών ιδιοτήτων των μεμβρανών πραγματοποιήθηκαν στο Πανεπιστήμιο του Οβιέδο (Felipe Lombó) ενώ οι μετρήσεις των αντιβιοφίλμ ιδιοτήτων στο ινστιτούτο ISGlobal της Βαρκελώνης (Sara M. Soto González).

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Αθηνά Τσετσέκου, Καθηγήτρια Ε.Μ.Π. , για την ανάθεση του θέματος της διπλωματικής, την συνολική βοήθεια καθ' όλη την διάρκεια εκπόνησής της, καθώς και για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου.

Να ευχαριστήσω επίσης και τους κ. Ηλιάνα Χαλικιά, Καθηγήτρια της Σχολής Μηχανικών Μεταλλείων Μεταλλουργών του Ε.Μ.Π., και Δημήτρη Πάνια Καθηγητή της Σχολής Μηχανικών Μεταλλείων Μεταλλουργών του Ε.Μ.Π., που με τίμησαν με την παρουσία τους στην τριμελή εξεταστική επιτροπή αξιολόγησης της διπλωματικής μου εργασίας

Επιπλέον, ευχαριστώ ιδιαίτερα την Δρα. Ιωάννα Κίτσου για την αμέριστη βοήθεια, τις πολύτιμες συμβουλές και διορθώσεις, που με τη συνεχή της στήριξη συνέβαλε τα μέγιστα σε όλα τα βήματα αυτής της προσπάθειας.

Ευχαριστώ επίσης τους Sara M. Soto González, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, του Ινστιτούτου ISGlobal της Βαρκελώνης και τα μέλη του εργαστηρίου της για τις μετρήσεις των αντιβιοφίλμ ιδιοτήτων καθώς και τον κ. Felipe Lombó, Αναπληρωτή Καθηγητή του Πανεπιστημίου του Οβιέδο και τα μέλη του εργαστηρίου του για τις μετρήσεις των αντιβιοτικών ιδιοτήτων. Τα πειράματα αυτά πραγματοποιήθηκαν και στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος NOMORFILM.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου και όλους τους δικούς μου ανθρώπους για την αγάπη, τη στήριξη και τη βοήθεια που μου προσέφεραν όλα αυτά τα χρόνια.

Στην κυρία Χαρούλα

Περίληψη

Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε ανάπτυξη και μελέτη νανοσωματιδίων πυριτίας – πολυμερών με δομή πυρήνα – κελύφους, μέσω απλών, περιβαλλοντικά φιλικών και οικονομικών μεθόδων, με σκοπό τη δημιουργία επικαλύψεων σε μεταλλικά εμφυτεύματα.

Η διεργασία περιελάμβανε την παρασκευή νανοσφαιριδίων πυριτίας μέσω βιομημικής μεθόδου καταβύθισης, τη δημιουργία του κατάλληλου διαλύματος των πολυμερών (χιτοζάνης και πολυαιθυλενογλυκόλης) και του αντιβιοτικού (γενταμικίνης) και ακολούθως την ανάπτυξη των δομών πυρήνα-κελύφους των νανοσωματιδίων SiO₂@PEG-Gentamicin-Chitosan.

Ακολούθησε φυσικοχημική μελέτη των παραγόμενων υλικών και των πολυμερικών μεμβρανών μέσω πληθώρας τεχνικών, όπως φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FTIR), φασματοσκοπία υπερύθρου-ορατού (UV-Visible) και μικροσκόπιο διερχόμενης δέσμης ηλεκτρονίων (TEM). Επιπρόσθετα πραγματοποιήθηκε ανάπτυξη επικαλύψεων με τη χρήση των πολυμερικών μεμβρανών και των υλικών πυρήνα-κελύφους σε δοκίμια ανοξειδώτου χάλυβα ψεκασμένου με μεταλλικό τιτάνιο (SST) και μελέτη αυτών μέσω μικροσκοπίου σάρωσης (SEM).

Τέλος μελετήθηκε η αντιβιοτική λειτουργία των πολυμερικών μεμβρανών που προέκυψαν έναντι των βακτηρίων E. Coli και S. Aureus και έναντι του μύκητα C. Parapsilosis, όπως επίσης και η δραστηριότητα των μεμβρανών έναντι της δημιουργίας βιοφίλμ.

Abstract

In the present dissertation, development and study of silica - polymer nanoparticles with core-shell structure was carried out, through simple, environmentally friendly and economical methods, in order to create coatings on metal implants.

The procedure included the production of the silica nanospheres through a biomimetic precipitation method, the preparation of the suitable solution of the polymers (chitosan and poly-ethylene glycol) and the antibiotic (gentamicin) and then the development of the core-shell structures of the SiO₂@ PEG-Gentamicin-Chitosan nanoparticles.

This was followed by a physicochemical study of the biomaterials produced and the polymeric membranes through a variety of techniques, such as Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), UltraViolet-Visible Spectroscopy (UV-Visible) and Transmission Electron Microscopy (TEM). In addition, coatings were developed using polymeric membranes and core-shell biomaterials on titanium-sprayed stainless steel (SST) specimens and studied under a Scanning Electron Microscope (SEM).

Finally, the antibiotic function of the resulting polymeric membranes against *E. coli*, *S. aureus* and *C. parapsilosis*, as well as the activity of the membranes against biofilm formation were studied.

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	4
Περίληψη	6
Abstract	7
Κατάλογος Εικόνων	11
Κατάλογος Πινάκων	14
Κεφάλαιο 1: Νανοτεχνολογία και Νανοδομημένα	15
1.1 Νανοτεχνολογία	15
1.2 Νανοδομημένα	18
1.3 Τεχνικές Παραγωγής Νανοδομημένων	19
1.4 Νανοδομημένα Πυρήνα-Κελύφους (Core-Shell / CSNp)	20
1.4.1 Κατηγορίες	21
1.4.2 Εφαρμογές	24
1.5 Νανοδομημένα Διοξειδίου του πυριτίου (SiO ₂ NPs)	25
Κεφάλαιο 2: Βιοϋλικά	28
2.1 Κριτήρια Επιλογής Βιοϋλικών	29
2.2 Ιδιότητες των Βιοϋλικών	31
2.2.1 Μηχανικές Ιδιότητες	31
2.2.2 Φυσικοχημικές Ιδιότητες	32
2.3 Είδη Βιοϋλικών	33
2.4 Μεταλλικά Βιοϋλικά	34
2.5 Πολυμερή Βιοϋλικά	36

Κεφάλαιο 3: Υλικά που χρησιμοποιήθηκαν	38
3.1 Χιτοζάνη (Chitosan)	38
3.2 Πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG)	42
3.2.1 Πολυμερικές Μεμβράνης Χιτοζάνης-Πολυαιθυλενογλυκόλης	44
3.3 Υπερδιακλαδισμένη Πολυαιθυλενιμίνη (HBPEI).....	45
3.4 Γενταμικίνη (Gentamicin)	47
Κεφάλαιο 4: Η Μέθοδος της Καταβύθισης	50
4.1 Υγρές χημικές μέθοδοι: Γενικά στοιχεία	50
4.2 Μέθοδος της Καταβύθισης: Περιγραφή	50
Κεφάλαιο 5: Αντιδραστήρια και Όργανα	53
5.1 Αντιδραστήρια	53
5.2 Όργανα	53
5.2.1 Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM)	54
5.2.2 Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Διερχόμενης Δέσμης Ηλεκτρονίων (Transmission Electron Microscopy, TEM)	57
5.2.3 Υπεριώδης και Ορατή Φασματομετρία (Ultraviolet & Visible Spectrometry, UV – Vis)	59
5.2.4 Φασματοσκοπία Υπερύθρου με Μετασχηματισμό Fourier (Fourier- Transform Infrared Spectroscopy, FTIR)	60
Κεφάλαιο 6: Πειραματική Διαδικασία	63
6.1 Σύνθεση των Υλικών	63
6.1.1 Παρασκευή πυρήνων πυριτίας (SiO ₂)	63
6.1.2 Παρασκευή διαλύματος πολυμερών και αντιβιοτικού (PEG-GM-CS) ...	63

6.1.3 Παρασκευή δομών CSNp SiO ₂ @ PEG-GM-CS	64
6.2 Προκατεργασία δοκιμίων Χάλυβα ψεκασμένων με Τιτάλιο (SST)	64
6.3 Επικαλύψεις δοκιμίων	64
Κεφάλαιο 7: Αποτελέσματα Σύνθεσης Υλικών	66
7.1 Χαρακτηρισμός της δομής των CSNp SiO ₂ @ PEG-GM-CS με τη χρήση Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου Σάρωσης (TEM)	66
7.2 Χαρακτηρισμός των νανοσωματιδίων PEG-GM-CS με τη χρήση Φασματοσκοπίας με Μετασχηματισμό Fourier (FTIR)	71
7.3 Χαρακτηρισμός της ενθυλάκωσης του αντιβιοτικού με τη χρήση Φασματοσκοπίας Υπεριώδους Ορατού (UV-Vis)	72
7.4 Αξιολόγηση αποτελεσμάτων των επικαλύψεων σε επιφάνεια SST δοκιμίων με τη χρήση Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου Διερχόμενης Δέσμης Ηλεκτρονίων (SEM)	73
Κεφάλαιο 8: Μελέτη αντιβακτηριακών και αντιβιοφίλμ ιδιοτήτων των μεμβρανών .	81
Κεφάλαιο 9: Ανακεφαλαίωση – Συμπεράσματα - Μελλοντική Έρευνα	84
BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	87

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1.1.1: Νανοκλίμακα και Νανοδομές	15
Εικόνα 1.2.1: Στρώματα Νανოსωματιδίων	19
Εικόνα 1.4.1: Σχηματική απεικόνιση της διαφορετικής μορφολογίας νανοϋλικών πυρήνα/ κελύφους: (a) σφαιρικού σχήματος, (b) εξαγωνικού σχήματος, (c) πολλαπλών μικρών πυρήνων που καλύπτονται από ένα κέλυφος, (d) ομόκεντρα νανοκελύφη που φέρουν επικαλύψεις διαφορετικών υλικών εναλλάξ πάνω σε ένα διηλεκτρικό πυρήνα, (e) κινούμενου πυρήνα μέσα σε ένα κοίλο κέλυφος	21
Εικόνα 1.5.1: (a) Δομική μονάδα τετραέδρου (SiO ₄) ⁴⁻ , (b) κρυσταλλική πυριτία όπου τα τετράεδρα έχουν τάξη μακράς εμβέλειας, (c) άμορφη πυριτία στην οποία απουσιάζει η τάξη μακράς εμβέλειας	25
Εικόνα 1.5.2: Τρισδιάστατο υαλώδες πλέγμα πυριτίας	26
Εικόνα 3.1.1: Φυσικές πηγές Χιτίνης και Χιτοζάνης	38
Εικόνα 3.1.2: Χημική δομή των επαναλαμβανόμενων μονάδων χιτίνης και χιτοζάνης	39
Εικόνα 3.1.3: Χημική δομή χιτοζάνης σε διαφορετικές τιμές pH	41
Εικόνα 3.2.1: Χημική δομή πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG)	43
Εικόνα 3.3.1: Χημική δομή υπερδιακλαδισμένης πολυαιθυλενιμίνης (HBPEI)	46
Εικόνα 3.3.2: Πορεία αντιδράσεων για το σχηματισμό της στερεής πολυαιθυλενιμίνης (PEI)	46
Εικόνα 3.4.1: Χημική δομή γενταμικίνης (Gentamicin).....	49
Εικόνα 5.2.1.1: Σχηματικό διάγραμμα των βασικών τμημάτων ενός μικροσκοπίου SEM.....	55
Εικόνα 5.2.1.2: Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης JEOL JSM6380LV	57
Εικόνα 5.2.2.1: Βασικά μέρη και πορεία ηλεκτρονίων στο Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Διερχόμενης Δέσμης (TEM)	58

Εικόνα 5.2.4.1: Σχηματική Αναπαράσταση Φασματομέτρου IR Μετασχηματισμού Fourier	61
Εικόνα 7.1.1: Εικόνα φωτεινού πεδίου TEM νανοσωματιδίων μη επικαλυμμένης SiO ₂	66
Εικόνα 7.1.2: (a) Εικόνα φωτεινού πεδίου TEM νανοσωματιδίων SiO ₂ @PEG-GM-CS με μη πυρωμένη πυριτία, (b) Στοιχειομετρική ανάλυση EDS	67
Εικόνα 7.1.3: (a) Εικόνα φωτεινού πεδίου TEM νανοσωματιδίων SiO ₂ @PEG-GM-CS με μη πυρωμένη πυριτία, (b) Στοιχειομετρική ανάλυση EDS	68
Εικόνα 7.1.4: (a) Εικόνα φωτεινού πεδίου TEM νανοσωματιδίων SiO ₂ @PEG-GM-CS με μη πυρωμένη πυριτία, (b) Στοιχειομετρική ανάλυση EDS	69
Εικόνα 7.1.5: (a) Εικόνα φωτεινού πεδίου TEM νανοσωματιδίων SiO ₂ @PEG-GM-CS με πυρωμένη πυριτία, (b) Στοιχειομετρική ανάλυση EDS	70
Εικόνα 7.1.6: (a) Εικόνα φωτεινού πεδίου TEM νανοσωματιδίων SiO ₂ @PEG-GM-CS με πυρωμένη πυριτία, (b) Στοιχειομετρική ανάλυση EDS	71
Εικόνα 7.2.1: Φάσματα FTIR των νανοσωματιδίων PEG _{0,2} -Chit _{0,8} και PEG _{0,2} -Gentamicin-Chit _{0,8}	71
Εικόνα 7.3.1: Φάσματα UV-Vis των PEG, Gentamicin και της σύζευξής τους	72
Εικόνα 7.4.1: Εικόνα SEM της επιφάνειας του ανοξειδωτού χάλυβα μετά από θερμικό ψεκασμό με μεταλλικό τιτάνιο	73
Εικόνα 7.4.2: Απεικόνιση της αστοχίας επικαλύψεων σε επιφάνειες που δεν είχαν υποστεί χημική επιφανειακή τροποποίηση μετά από εμβάπτιση σε υδατικό περιβάλλον	74
Εικόνα 7.4.3: Εικόνα SEM δοκίμου SST μετά από χημική επιφανειακή τροποποίηση με NaOH συγκέντρωσης 5 M για 24h	74
Εικόνα 7.4.4: Φάσματα FTIR των δοκιμών πριν και μετά την επιφανειακή τροποποίηση με NaOH	75

Εικόνα 7.4.5: Εικόνες SEM και οι αντίστοιχες αναλύσεις EDS της επικάλυψης PEG-GM-CS του Δοκιμίου 1 με τη μέθοδο της εμβάπτισης (5 φορές)	76
Εικόνα 7.4.6: Εικόνες SEM και οι αντίστοιχες αναλύσεις EDS της επικάλυψης PEG-GM-CS του Δοκιμίου 2 με τη μέθοδο της εμβάπτισης (10 φορές)	77-78
Εικόνα 7.4.7: Εικόνα SEM και η αντίστοιχη ανάλυση EDS της επικάλυψης μη πυρωμένης SiO ₂ @PEG-GM-CS του Δοκιμίου 3 με τη μέθοδο της εμβάπτισης (5 φορές)	79
Εικόνα 7.4.8: Εικόνα SEM και η αντίστοιχη ανάλυση EDS της επικάλυψης μη πυρωμένης SiO ₂ @PEG-GM-CS του Δοκιμίου 4 με τη μέθοδο της σταγόνας	79
Εικόνα 7.4.9: Φάσματα FTIR των επικαλυμμένων δοκιμίων με πολυμερική μεμβράνη	80
Εικόνα 8.1: Μembrάνη PEG _{0.2} Chit _{0.8}	82
Εικόνα 8.2: Μembrάνη PEG _{0.2} GM _{0.02} Chit _{0.8}	82

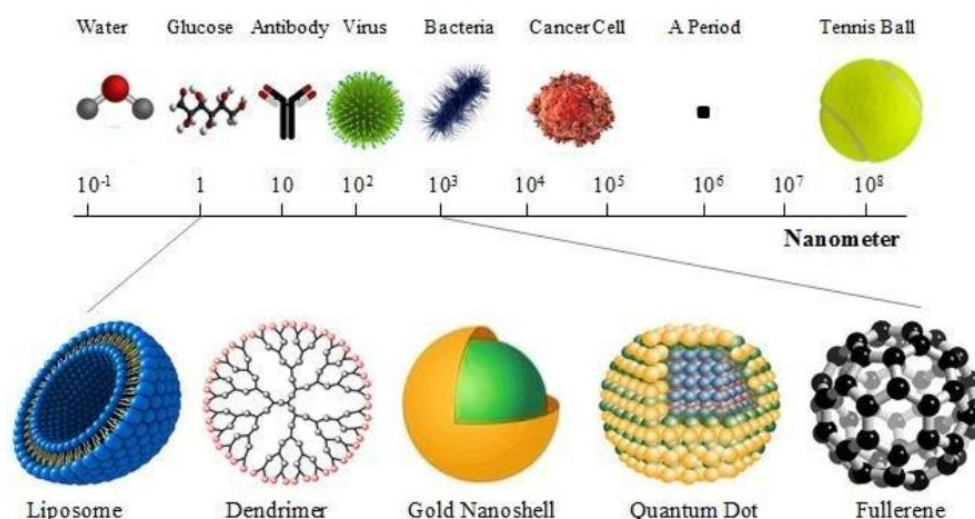
Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 6.1: Καταγραφή βάρους των δοκιμίων πριν και μετά τις επικαλύψεις.....	65
Πίνακας 8.1.1: Ζώνες αναστολής σε cm.....	81
Πίνακας 8.1.2: Αριθμός CFU/cm ² κάθε μικροοργανισμού για την εκάστοτε μεμβράνη.....	83

Κεφάλαιο 1^ο: Νανοτεχνολογία και Νανοδομίες

1.1 Νανοτεχνολογία

Η νανοτεχνολογία αναφέρεται στην επιστήμη και στην τεχνολογία όπου οι δομικές μονάδες της ύλης αναπτύσσονται σε νανομετρική κλίμακα, μεταξύ 1-100 nm (10^{-9} m), για τη δημιουργία σύνθετων μακρομοριακών συστημάτων, ενώ νέες ιδιότητες των υλικών παρουσιάζονται λόγω της κλιμάκωσης αυτής κατά την εξέλιξή τους. **(1)** Η νανοτεχνολογία είναι ένας διεπιστημονικός κλάδος, αφού απαιτείται η συνεισφορά γνώσεων από πολλές επιστήμες (φυσικής, χημείας, μηχανικών, υλικών, φαρμακευτικής και άλλων), ενώ περιλαμβάνεται στα ταχύτερα αναπτυσσόμενα ερευνητικά πεδία στον επιστημονικό και τεχνικό τομέα.



Εικόνα 1.1.1: Νανοκλίμακα και Νανοδομίες

Σύμφωνα με τους N. Islam, K. Miyazaki **(2)**, η Νανοτεχνολογία μπορεί να διακριθεί σε τέσσερις βασικούς τομείς: τη Νανοηλεκτρονική, τα Νανούλικά, τη Νανοβιοτεχνολογία και τη Νανοκατασκευαστική.

Νανοηλεκτρονική (Nanoelectronics): Έτσι ονομάζεται ο κλάδος που χρησιμοποιεί νανομετρικές διατάξεις σε εφαρμογές της Ηλεκτρονικής. Η Ηλεκτρονική ορίζεται ως το σύνολο των τεχνικών που χρησιμοποιούν τις μεταβολές ηλεκτρικών μεγεθών (ηλεκτρομαγνητικών πεδίων, πληθυσμών φωτονίων, ηλεκτρικών φορέων και άλλα) για να συλλάβουν, να διαβιβάσουν και να αξιοποιήσουν μια πληροφορία. Σύμφωνα με τον ορισμό αυτό, η ηλεκτρονική ξεφεύγει από τον περιορισμένο κόσμο των

κυκλωμάτων, των ηλεκτρονικών διατάξεων, των καλωδίων και των αντιστάσεων, και ανάγεται σε τεχνολογία της πληροφορίας. Έτσι η έννοια της πληροφορίας συνιστά τον κεντρικό πυρήνα ανάπτυξης της ηλεκτρονικής τις τελευταίες δεκαετίες.

Νανοϋλικά (Nanomaterials): Το 2011, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή υιοθέτησε τον παρακάτω ορισμό του νανοϋλικού: «Νανοϋλικό είναι ένα φυσικό ή κατασκευασμένο υλικό που περιέχει σωματίδια, σε αδέσμευτη κατάσταση ή ως συσσωματώματα, για το οποίο ισχύει ότι το 50% ή περισσότερο των σωματιδίων έχουν μια ή περισσότερες εξωτερικές διαστάσεις στην περιοχή 1 nm – 100 nm». Τα βιομηχανικά νανοϋλικά (engineered nanomaterials, ENMs) είναι χημικές ουσίες ή υλικά που παρασκευάζονται και χρησιμοποιούνται σε πολύ μικρές διαστάσεις, ενώ το μέγεθός τους κυμαίνεται μεταξύ 1 και 100 nm.

Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα των υλικών αυτής της κλίμακας μεγεθών είναι ο μεγάλος αριθμός ατόμων στην επιφάνειά τους, γεγονός που συνεπάγεται πολύ υψηλή ενεργή επιφάνεια για κάθε είδους φυσική, χημική ή βιολογική αλληλεπίδραση. Ένα άλλο πλεονέκτημα των νανοϋλικών είναι η ικανότητά τους να μεταβάλλουν τις ιδιότητές τους, όπως μαγνητικές, ηλεκτρικές ή μηχανικές, σε σχέση με τη μακροσκοπική μορφή τους (bulk), χωρίς ωστόσο να αλλάζει η χημική τους σύσταση.

Νανοβιοτεχνολογία (Bionanotechnology): Πρόκειται για έναν ραγδαία αναπτυσσόμενο κλάδο της σύγχρονης νανοτεχνολογίας, στον οποίον βρίσκουν εφαρμογή τα εργαλεία και οι διεργασίες κατασκευής νανοδομών και νανოსυστημάτων που προορίζονται για τη μελέτη ή την επίδραση σε βιολογικά συστήματα. Σήμερα μπορούν να κατασκευαστούν διάφορες δομές και συστήματα σε διαστάσεις νανομέτρων τα οποία επιτρέπουν μεγαλύτερη αλληλεπίδραση με τα βιολογικά συστήματα.

Νανοκατασκευαστική (Nanomanufacturing): Ο κλάδος αυτός ασχολείται με την κατασκευή εξελιγμένων και πολύπλοκων νανοδομών, καθώς επίσης και με την κατασκευή εργαλείων τόσο για τον χαρακτηρισμό όσο και για τον έλεγχο των νανοσωματιδίων.

Οι επιδράσεις της νανοτεχνολογίας θα επεκταθούν στο μέλλον σε πολλές πτυχές της ανθρώπινης ζωής (1). Πιο συγκεκριμένα:

Στον τομέα των ιατρικών εφαρμογών της θεραπείας και της διάγνωσης των νόσων.

Η βιοϊατρική μηχανική έχει γεφυρώσει το χάσμα μεταξύ της βιολογίας και της συμβατικής ιατρικής με την εφαρμογή δεξιοτήτων μηχανικής στη χειρουργική διάγνωση, παρακολούθηση, θεραπεία κλπ. Το μικρότερο μέγεθος και η υψηλή αναλογία επιφάνειας προς όγκο νανοσωματιδίων είναι τα βασικά χαρακτηριστικά που τα καθιστούν χρήσιμα στα βιοϊατρικά πεδία λόγω της ανάπτυξης πολλών νέων ιδιοτήτων, της ευκολίας της λειτουργικότητας, της σύζευξης βιομορίων κ.λπ. Τεχνολογικά επιτεύγματα με νανοϋλικά θα μπορούν να βελτιώσουν τη βιοσυμβατότητα των εμφυτευμάτων μετά την επικάλυψή της με αυτά. Βιομιμητικά υλικά (bio-mimetic material) με δυνατότητα αυτο-οργάνωσης (self-organization) και με ιδιότητες αυτο-ομοιότητας (self-similarity) μπορούν να οδηγήσουν στην κατασκευή τεχνητών οργάνων. Βιοεμπνευσμένα συστήματα (bio-inspired systems) μεταφοράς βιοδραστικών μορίων με αισθητήρες στόχευσης των πασχόντων ιστών αποτελούν την εξέλιξη στο χώρο της θεραπευτικής των νόσων. Η εφαρμογή των νανοσωματιδίων από ανόργανα υλικά με τη μέθοδο της θερμικής ίασης αποτελεί επίσης αναδυόμενο πεδίο στη θεραπευτική του καρκίνου.

Στον τομέα της επιστήμης των υλικών.

Στον συγκεκριμένο τομέα οι εφαρμογές της νανοτεχνολογίας είναι εξαιρετικά μεγάλες. Οι τροποποιημένες επιφάνειες με επίστρωση νανοϋλικών ώστε να μην χαράσσονται, να είναι αδιάβροχες και ακόμα καθαρές και αποστειρωμένες αποτελούν μερικές από τις εφαρμογές. Η παραγωγή βιοαισθητήρων και μοριακών ηλεκτρικών συσκευών αποτελεί τομέα εφαρμογής των νέων ιδιοτήτων των υλικών σε διάσταση νανόμετρου.

Στον τομέα της αποθήκευσης ενέργειας.

Η αποθήκευση αλλά και η εξοικονόμηση ενέργειας αποτελούν σημαντικούς τομείς εφαρμογής της νανοτεχνολογίας. Η αποθήκευση υδρογόνου ως καύσιμου υλικού μπορεί να γίνει από στερεές νανοδομές πολύ μικρού βάρους και υψηλού δυναμικού αποθήκευσης ενέργειας.

Στον τομέα της οικονομίας.

Η νανοτεχνολογία θα παράσχει τα μέσα για τη δημιοεργία υλικών και βιοϋλικών για

ιατρικούς σκοπούς, με την ελαχιστοποίηση του κόστους λόγω της αντικατάστασης των βιοσυμβατών τεχνολογιών με νέες, που θα εξοικονομούν πόρους. Κάτι αντίστοιχο θα συμβεί και με τις συσκευές που θα ενσωματώνουν τη νανοτεχνολογία, καθώς θα μπορούν να λειτουργήσουν με ελάχιστο κόστος και συνεπώς κατανάλωση ενέργειας. Στο ίδιο πλαίσιο, η ηλιακή ενέργεια από μη εκμεταλλεύσιμη / πειραματική μορφή ενέργειας που είναι σήμερα θα γίνει και βιώσιμη και επικερδής και θα χρησιμοποιείται ακόμα και για την κίνηση αεροσκαφών και πλοίων.

Στον τομέα της ανάπτυξης και της ανακάλυψης νέων τεχνικών.

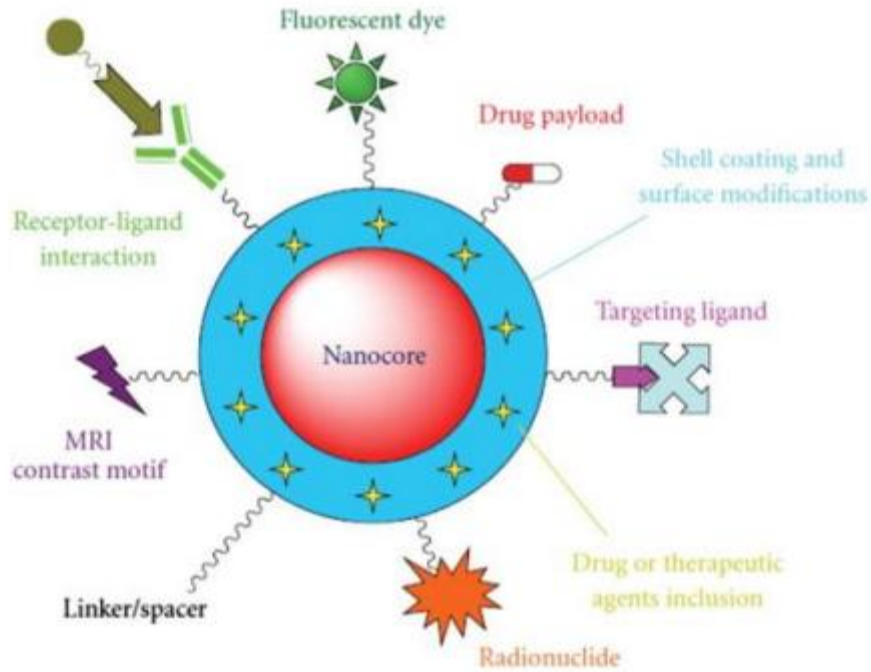
Οι νανοσωλήνες άνθρακα αποτελούν ένα πρώτης τάξης υλικό για τη δημιουργία συμπαγών κατασκευών. Προοδευτικά, η πλειονότητα των δομικών υλικών θα βασίζεται στους νανοσωλήνες άνθρακα και αυτό θα δώσει την ευκαιρία για τη δημιουργία διαφόρων οικοδομημάτων. Την περίοδο αυτή η NASA μελετά τον τρόπο αποστολής στο διάστημα πυραύλων και δορυφόρων μέσω ειδικών σχοινιών που θα συγκροτούν ένα είδος ανελκυστήρα.

1.2 Νανοσωματίδια

Αντικείμενο έρευνας της νανοτεχνολογίας αποτελούν τα νανοσωματίδια.

Νανοσωματίδιο (NanoParticle – NP) ονομάζεται κάθε στερεό σωματίδιο με μέγεθος περίπου 100 nm, με μέγιστο όριο τα 500 nm. **(3)** Τα νανοσωματίδια συντελούν στα νανοϋλικά και αποτελούν τη γέφυρα ανάμεσα στα συμπαγή υλικά (bulk materials) και στα μόρια και στις δομές σε ατομικό επίπεδο. Τα νανοϋλικά μπορεί να είναι είτε συμπαγή είτε σε μορφή νανοδιασποράς. Ο όρος συμπαγή αναφέρεται σε υλικά ιστροπικά, ως προς τη σύστασή τους, ενώ οι νανοδιασπορές περιλαμβάνουν ένα ομογενές μέσο διασποράς, στο οποίο διασπείρονται οι νανοδομές και απομονώνονται μεταξύ τους.

Τα νανοσωματίδια αποτελούνται από τρία στρώματα: i) το επιφανειακό στρώμα, που αλληλεπιδρά με διάφορα μόρια, μεταλλικά ιόντα, επιφανειοδραστικά και πολυμερή, ii) το κέλυφος, το οποίο διαφέρει χημικά ως υλικό από τον πυρήνα, και iii) τον πυρήνα, ο οποίος αποτελεί ουσιαστικά το κέντρο του νανοσωματιδίου και συνήθως αναφέρεται στο ίδιο το νανοσωματίδιο, όπως φαίνεται στην εικόνα. **(4)**



Εικόνα 1.2.1: Στρώματα Νανοσωματιδίων (5)

1.3 Τεχνικές Παραγωγής Νανοσωματιδίων

Στη νανοτεχνολογία υπάρχουν δύο βασικές τεχνικές παραγωγής νανοσωματιδίων, οι οποίες αναφέρονται ως ‘από κάτω προς τα πάνω’ (bottom-up) και ως ‘από πάνω προς τα κάτω’ (top-down). Η πρώτη τεχνική περιλαμβάνει τη συγκέντρωση των ατόμων ή μορίων σε νανοδομικές διατάξεις. Η top-down τεχνική αναφέρεται στη δημιουργία υλικών νανομετρικής διάστασης από ένα υλικό μεγαλύτερων διαστάσεων.

Η τεχνική bottom-up, «εκμεταλλευόμενη» τις χημικές ιδιότητες των μορίων με σκοπό το σχηματισμό της επιθυμητής δομής, επιτρέπει τον έλεγχο του μεγέθους, της μορφολογίας και της σύστασης του τελικού προϊόντος χωρίς ιδιαίτερα υψηλό κόστος, με αποτέλεσμα την παραγωγή σημαντικών ποσοτήτων νανοϋλικών. Από την άλλη, η τεχνική top-down εμφανίζει πολύ υψηλό κόστος επεξεργασίας, ιδιαίτερα όσο μειώνεται το μέγεθος των παραγόμενων σωματιδίων. Ακόμα μπορεί να υπάρξει συνδυασμός των δύο τεχνικών παραγωγής νανοσωματιδίων, με παραγωγή του πυρήνα μέσω την παραγωγική μέθοδο (top-down) και στη συνέχεια του κελύφους με την επαγωγική μέθοδο (bottom-up), με σκοπό τη διατήρηση ομοιόμορφου και συγκεκριμένου πάχους.

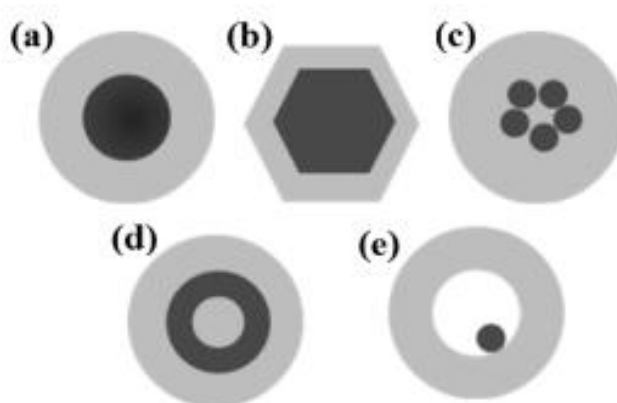
1.4 Νανοσωματίδια Πυρήνα-Κελύφους (Core-Shell / CSNp)

Η ραγδαία ανάπτυξη της νανοτεχνολογίας και η επιθυμία για νέες λειτουργίες οδήγησαν, όπως ήδη αναφέρθηκε, στην αύξηση σύνθεσης και χρήσης νανοϋλικών σε όλους τους τομείς της έρευνας και της τεχνολογίας. Πολλά από τα συνηθισμένα υλικά, όπως τα μέταλλα, τα κεραμικά ή τα πλαστικά δεν μπορούν να εκπληρώσουν όλα τα ζητούμενα για τις διάφορες νέες εφαρμογές. Τα τελευταία χρόνια οι έρευνες για την παρασκευή νανοσωματιδίων πυρήνα-κελύφους με καλά καθορισμένη δομή έχουν προσελκύσει σημαντικό ενδιαφέρον λόγω των εξαιρετικών φυσικών και χημικών ιδιοτήτων τους όπως οπτικές, ηλεκτρικές, θερμικές, μηχανικές, μαγνητικές και καταλυτικές, συγκριτικά με τα αμιγή υλικά. **(6),(7)** Τα υλικά στην κλίμακα των νανομετρών γενικά αποτελούνται από κόκκους που χαρακτηρίζονται από διαφορετικές φυσικές, δομικές και χημικές ιδιότητες από τα υλικά όγκου (bulk materials). Καθώς το μέγεθος του κόκκου μειώνεται, υπάρχει μια σημαντική αύξηση στο κλάσμα όγκου των ορίων του κόκκου ή των διεπιφανειών. Αυτό το χαρακτηριστικό επηρεάζει σημαντικά τις χημικές και φυσικές ιδιότητες του υλικού, στις οποίες συγκαταλέγονται οι ηλεκτρικές, οι μαγνητικές και οι οπτικές ιδιότητες.

Τα σύνθετα νανοϋλικά που έχουν πυρήνα κατασκευασμένο από υλικό επικαλυμμένο με άλλο υλικό πάνω του συνήθως αναφέρονται ως CSNs ή CSNp (Core-shell nanomaterials-nanoparticles / νανοϋλικά-νανοσωματίδια πυρήνα-κελύφους). **(8)** Τα νανοσωματίδια πυρήνα – κελύφους εμφανίζουν μοναδικές, χρήσιμες, προσαρμοστικές ιδιότητες, οι οποίες μπορεί να είναι και συνεργετικές μεταξύ των ιδιοτήτων του πυρήνα και του κελύφους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να προσφέρουν πολλές φορές τελείως διαφορετικές ιδιότητες, εξαρτώμενες από τις αλληλεπιδράσεις των δύο συστατικών. **(8),(9)**

Οι εξελίξεις στις νέες τεχνικές σύνθεσης καθιστούν δυνατή τη σύνθεση όχι μόνο των συμμετρικών (σφαιρικών) νανοσωματιδίων αλλά και μιας ποικιλίας άλλων σχημάτων όπως κύβου, πρίσματος, εξαγώνου, οκταέδρου, δίσκου, καλωδίου, ράβδου, σωλήνα κ.λπ. **(10)** Οι ιδιότητες των νανοσωματιδίων δεν εξαρτώνται μόνο από το μέγεθος αλλά συνδέονται και με το σχήμα. Για παράδειγμα, ορισμένες ιδιότητες μαγνητικών νανοκρυστάλλων, όπως η θερμοκρασία αποκλεισμού, ο μαγνητικός κορεσμός και ο μόνιμος μαγνητισμός εξαρτώνται από το μέγεθος των σωματιδίων, αλλά ο καταναγκασμός των νανοκρυστάλλων εξαρτάται πλήρως από το σχήμα των

σωματιδίων λόγω των επιδράσεων της ανισοτροπίας στην επιφάνεια. Διαφορετικά σχήματα μαγνητικών νανοκρυστάλλων παρέχουν τη δυνατότητα θεμελιώδους κατανόησης όχι μόνο του μαγνητισμού αλλά και των τεχνολογικών τους εφαρμογών στον τομέα. Ακόμα διάφορες φυσικές και χημικές ιδιότητες νανοσωματιδίων όπως η καταλυτική δραστηριότητα και επιλεκτικότητα, οι ηλεκτρικές και οπτικές τους ιδιότητες και το σημείο τήξης εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από το σχήμα.



Εικόνα 1.4.1: Σχηματική απεικόνιση της διαφορετικής μορφολογίας νανοϋλικών πυρήνα-κελύφους: (a) σφαιρικού σχήματος, (b) εξαγωνικού σχήματος, (c) πολλαπλών μικρών πυρήνων που καλύπτονται από ένα κέλυφος, (d) ομόκεντρα νανοκελύφη που φέρουν επικαλύψεις διαφορετικών υλικών εναλλάξ πάνω σε ένα διηλεκτρικό πυρήνα, (e) κινούμενου πυρήνα μέσα σε ένα κοίλο κέλυφος. **(10)**

1.4.1 Κατηγορίες

Με βάση τη σύσταση και τη διάταξη των δύο συστατικών του τελικού υλικού αλλά και τις υλικές τους ιδιότητες, τα CSNs μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τέσσερις κύριες διαφορετικές ομάδες: (i) ανόργανα / ανόργανα, (ii) ανόργανα / οργανικά, (iii) οργανικά / ανόργανα, (iv) οργανικά / οργανικά. **(10)**

(i) Ανόργανα / Ανόργανα CSNs

Αποτελούν την πιο σημαντική κατηγορία όλων των διαφορετικών τύπων νανοσωματιδίων πυρήνα / κελύφους. Οι πυρήνες αλλά και τα κελύφη μπορεί να αποτελούνται από μέταλλο, οξείδιο μετάλλου, κάποιο άλλο ανόργανο υλικό ή από πυριτία. Με βάση τη φύση του κελύφους, τα σωματίδια αυτά μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δύο υποκατηγορίες, σε αυτά που το κέλυφος είναι η πυριτία

και σε αυτά που το κέλυφος είναι οποιοδήποτε άλλο ανόργανο υλικό. Τα βασικότερα πλεονεκτήματα της επικάλυψης διοξειδίου του πυριτίου σε σύγκριση με άλλα ανόργανα ή οργανικά επιχρίσματα είναι τα εξής: Αρχικά μειώνει τη μαζική αγωγιμότητα ενώ αυξάνει τη σταθερότητα της ανάρτησης των σωματιδίων του πυρήνα. Επιπλέον, το διοξείδιο του πυριτίου είναι το πιο χημικά αδρανές υλικό, με αποτέλεσμα να μπορεί να μπλοκάρει την επιφάνεια του πυρήνα χωρίς να παρεμβαίνει στην αντίδραση οξειδοαναγωγής στην επιφάνεια του πυρήνα. Ακόμα οι επικαλύψεις πυριτίας μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διαμόρφωση της θέσης και της έντασης της ζώνης απορρόφησης επιφανειακών πλασμών, καθώς η πυριτία είναι οπτικά διαφανής.

(ii) Ανόργανα / Οργανικά CSNs

Τα νανοσωματίδια ανόργανου / οργανικού πυρήνα / κελύφους είναι κατασκευασμένα από μέταλλο, μεταλλική ένωση, οξείδιο μετάλλου ή πυρήνα πυριτίας, με κέλυφος πολυμερούς ή οποιοδήποτε άλλου οργανικού υλικού υψηλής πυκνότητας. Τα πλεονεκτήματα της οργανικής επικάλυψης στον ανόργανο πυρήνα είναι πολλά. Ένα παράδειγμα είναι το γεγονός ότι αυξάνεται η σταθερότητα στην οξείδωση του μεταλλικού πυρήνα όταν τα επιφανειακά άτομα του μεταλλικού πυρήνα μπορούν να οξειδωθούν σε μεταλλικά οξείδια σε συνθήκες περιβάλλοντος. Επιπλέον, παρουσιάζουν αυξημένη βιοσυμβατότητα, γεγονός που τα καθιστά κατάλληλα για βιοεφαρμογές. Τα επικαλυμμένα με πολυμερές ανόργανα υλικά έχουν ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών, που κυμαίνεται από κατάλυση έως πρόσθετα, χρωστικές ουσίες, χρώματα, καλλυντικά και μελάνια. Σε πολλές εφαρμογές, τα σωματίδια επικαλύπτονται προκειμένου να δημιουργηθεί ένα σταθερό αιώρημα. Η σταθερότητα ενός τέτοιου κολλοειδούς αιωρήματος εξαρτάται κυρίως από τις ελκυστικές και απωθητικές δυνάμεις που αναπτύσσονται μεταξύ των σωματιδίων. Υπάρχουν τέσσερις διαφορετικοί τύποι δυνάμεων: (i) δυνάμεις Van der Waals, (ii) προκαλούμενες ισοτροπικές έλξεις μικρής εμβέλειας, (iii) ηλεκτροστατική απώθηση και (iv) στερική απώθηση. Ανάλογα με τα μέσα σύνθεσης, μπορούν να ελεγχθούν οι δυνάμεις ηλεκτροστατικής και στερικής απωθήσεως και επομένως μπορεί να αποφευχθεί η συσσωμάτωση των νανοσωματιδίων. Για υδατικά μέσα οι ηλεκτροστατικές και για οργανικά μέσα οι στερικές δυνάμεις απωθήσεως καθορίζουν το σημείο στο οποίο το αιώρημα είναι σταθερό. Επομένως, για τον έλεγχο αυτών των δυνάμεων είναι απαραίτητη μια ομοιόμορφη επικάλυψη. Με βάση τις ιδιότητες του

υλικού που χρησιμοποιείται ως πυρήνας, τα υλικά αυτά μπορούν να υποκατηγοριοποιηθούν σε (α) Μαγνητικό / Οργανικό και (β) Μη Μαγνητικό / Οργανικό.

(iii) Οργανικά / Ανόργανα CSNs

Τα νανοσωματίδια οργανικού / ανόργανου πυρήνα / κελύφους είναι δομικά ακριβώς το αντίστροφο των προηγούμενων τύπων που περιγράφονται παραπάνω. Ο πυρήνας αυτής της συγκεκριμένης κλάσης νανοσωματιδίων είναι κατασκευασμένος από ένα πολυμερές, όπως πολυστυρένιο, πολυουρεθάνιο, πολυβινυλοχλωρίδιο, ενώ ως κέλυφος διάφορα υλικά όπως μέταλλα, οξειδία μετάλλων, μεταλλικά χαλκογόνα ή πυριτία. Αυτοί οι τύποι νανοσωματιδίων έχουν διπλές ιδιότητες, τόσο των ανόργανων όσο και των οργανικών υλικών. Το ανόργανο υλικό, ιδίως μια επίστρωση μεταλλικού οξειδίου σε ένα οργανικό υλικό, είναι ευεργετικό από πολλές απόψεις, όπως αυξημένη αντοχή του συνολικού υλικού, αντίσταση στην οξείδωση, θερμική και κολλοειδή σταθερότητα και αντοχή στην τριβή. Ταυτόχρονα, η πολυμερική φάση ενισχύει τις οπτικές ιδιότητες, την ευκαμψία και την αντοχή, ενώ μπορεί να βελτιώσει την ευθραυστότητα του τελικού υλικού. Τα τελευταία χρόνια, η κατηγορία των υλικών αυτών έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον των ερευνητών λόγω του μεγάλου εύρους εφαρμογών στην επιστήμη των υλικών, όπως για παράδειγμα στα χρώματα, στην μικροηλεκτρονική, στην κατάλυση και στη βιοτεχνολογία.

(iv) Οργανικά / Οργανικά CSNs

Ο πυρήνας και το κέλυφος αποτελούνται από κάποιο πολυμερές ή από άλλο οργανικό υλικό. Τα υλικά αυτά είναι γνωστά και ως «έξυπνα υλικά» και βρίσκουν εφαρμογή σε διάφορους τομείς όπως στα βιοϋλικά, στη μεταφορά φαρμάκων, στο χημικό διαχωρισμό και στην κατάλυση. Βασικό τους πλεονέκτημα αποτελεί η δυνατότητα τροποποίησης των φυσικών ιδιοτήτων του τελικού υλικού όπως η σκληρότητα ή η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης, σύμφωνα με την οποία και επιλέγονται για κάποια εφαρμογή.

(v) Σωματίδια πυρήνα / πολλαπλών κελυφών

Τα πιο σημαντικά αυτής της κατηγορίας είναι τα διμεταλλικά. Οι Rodriguez-Gonzalez et al. (11) έδειξαν ότι το σχήμα τους εξαρτάται άμεσα από τον μεταλλικό πυρήνα.

(vi) Σωματίδια κινούμενου πυρήνα / κοίλου κελύφους

Οι προηγούμενες κατηγορίες νανοσωματιδίων αφορούσαν στον διαφορετικό κάθε φορά τύπο του πυρήνα ή του κελύφους και τις εν δυνάμει εφαρμογές τους. Εδώ πρόκειται για την πιο πρόσφατη επιστημονική ανακάλυψη ενός πραγματικά ενδιαφέροντος τύπου νανοσωματιδίων. Πιο συγκεκριμένα, πρόκειται για κοίλα σωματίδια με κινούμενο πυρήνα και πολλές ενδιαφέρουσες εφαρμογές. Η πιο συνηθισμένη μέθοδος παρασκευής αυτών των υλικών βασίζεται στην “template assist route”. Κατά αυτή τη μέθοδο, αρχικά παρασκευάζονται σωματίδια πυρήνα / διπλού κελύφους και στη συνέχεια το ενδιάμεσο κέλυφος απομακρύνεται με την κατάλληλη μέθοδο όπως διάλυση ή έψηση.

1.4.2 Εφαρμογές

Σε σύγκριση με τα αμιγή υλικά, τα νανοϋλικά πυρήνα - κελύφους, λόγω των εξαιρετικών ιδιοτήτων τους, έχουν πολλές πρακτικές εφαρμογές σε ένα ευρύ φάσμα πεδίων όπως στη βιοϊατρική, στη φαρμακευτική, στην κατάλυση, στην προσρόφηση, στην ηλεκτρονική, στην αύξηση της φωτοφωταύγειας, κ.ά.

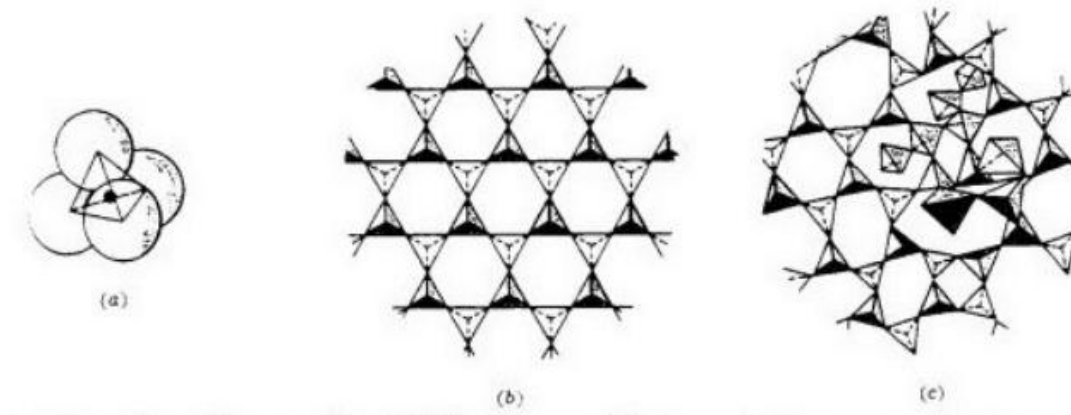
Στον τομέα της βιοϊατρικής, τα νανοϋλικά αυτά δύνανται να χρησιμοποιηθούν κυρίως για ελεγχόμενη χορήγηση φαρμάκων, στη βιοαπεικόνιση, στη σήμανση-ταυτοποίηση κυττάρων, ως βιοαισθητήρες και στη μηχανική των ιστών. Σε βιολογικές εφαρμογές, τα νανοσωματίδια πυρήνα - κελύφους έχουν σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι των απλών νανοσωματιδίων που οδηγούν στη βελτίωση των ιδιοτήτων τους όπως λιγότερη κυτταρο-τοξικότητα, αύξηση της διασποράς, βιοσυμβατότητα και κυτταροσυμβατότητα, καλύτερη σύζευξη με άλλα βιοδραστικά μόρια καθώς και αυξημένη θερμική και χημική σταθερότητα κ.ά. **(5)**

Οι Jalaja et al. παρασκεύασαν νανοϊνες με πυρήνα ζελατίνης και κέλυφος χιτοζάνης με σκοπό την εφαρμογή αυτών στην αναγέννηση ιστών. **(12)** Οι Venditti et al. παρασκεύασαν νανοσωματίδια χρυσού με πολυμερικό κέλυφος [poly(3-dimethylammonium-1-propyne hydrochloride)] και μελέτησαν την αλληλεπίδραση αυτών με το ένζυμο BSAO (Bovine Serum Amine Oxidase) που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία του καρκίνου. **(13)**

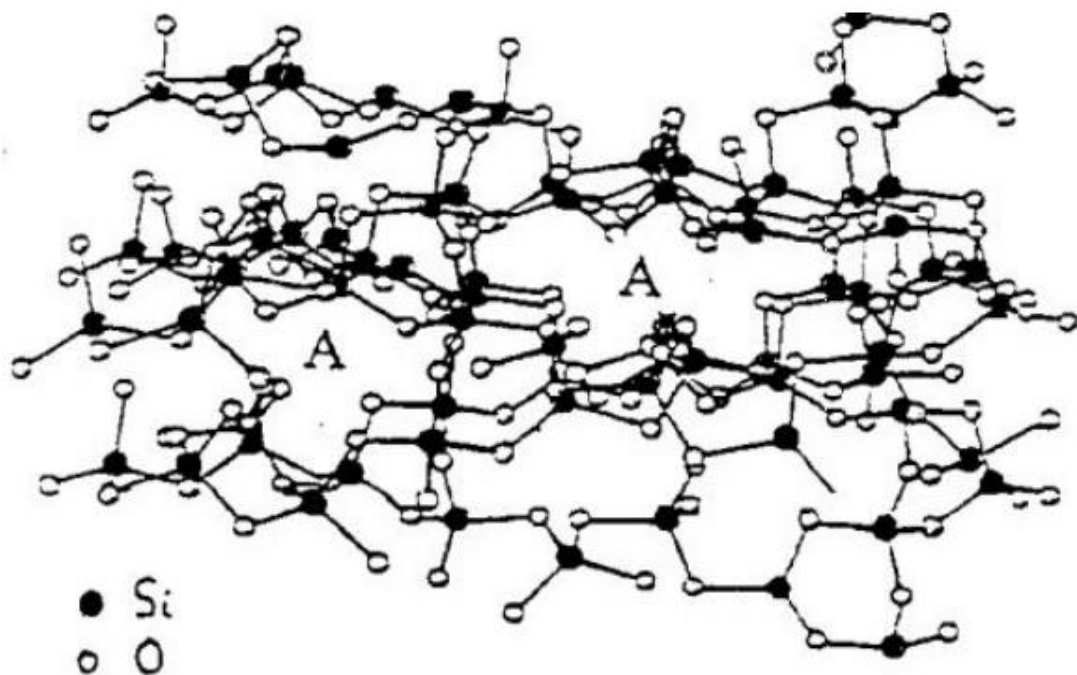
1.5 Νανοσωματίδια Διοξειδίου του Πυριτίου (SiO₂ NPs)

Το διοξείδιο του πυριτίου ή πυριτία (silica) είναι η δυαδική ανόργανη ένωση με μοριακό τύπο SiO₂. Συνήθως βρίσκεται στη φύση ως χαλαζίας, που αποτελεί περισσότερο από το 10% της μάζας του φλοιού της γης. Πρόκειται για ένα κεραμικό με τρισδιάστατο πλέγμα στο οποίο τα τετράεδρα (SiO₄)⁴⁻ συνδέονται μεταξύ τους μέσω κοινών ατόμων οξυγόνου στις κορυφές των τετραέδρων (corner-sharing tetrahedral). Έτσι, τα άτομα του υλικού αποκτούν σταθερές ηλεκτρονικές δομές, γεγονός που συνεπάγεται και σταθερότητα της χωρικής δομής του κεραμικού.

Η πυριτία είναι πολυμορφικό κεραμικό και εμφανίζεται σε διάφορες κρυσταλλικές δομές, αλλά και σε άμορφη (υαλώδη) φάση. (14) Όπως στην κρυσταλλική πυριτία, έτσι και στην υαλώδη, η δομική μονάδα είναι το τετράεδρο (SiO₄)⁴⁻. Η δομή της υαλώδους πυριτίας είναι τρισδιάστατη με τα τετράεδρα να συνδέονται μέσω κοινών κορυφών. Η τρισδιάστατη δομή της πυριτίας έχει μεγάλα διάκενα και κατιόντα άλλων μετάλλων μπορούν να καταλάβουν θέσεις σε αυτά τα διάκενα του υαλώδους πλέγματος. Από τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι η υαλώδης πυριτία είναι πορώδες υλικό. Αποτελεί το βασικό συστατικό για ένα ευρύ φάσμα γυαλιών καθώς και για την κατασκευή οπτικών ινών.



Εικόνα 1.5.1: (a) Δομική μονάδα τετραέδρου (SiO₄)⁴⁻, (b) κρυσταλλική πυριτία όπου τα τετράεδρα έχουν τάξη μακράς εμβέλειας, (c) άμορφη πυριτία στην οποία απουσιάζει η τάξη μακράς εμβέλειας



Εικόνα 1.5.2: Τρισδιάστατο υαλώδες πλέγμα πυριτίας

Τα νανοσωματίδια διοξειδίου του πυριτίου κατασκευάζονται μέσω συμπύκνωσης των σιλανίων για να σχηματίσουν νανοσωματίδια, που αποτελούνται από ένα άμορφο δίκτυο πυριτίου και οξυγόνου. Τα νανοσωματίδια εμφανίζουν μονοδιασπορά με υψηλή σταθερότητα και έχουν στενές κατανομές μεγέθους. Η πυκνότητα τους είναι περίπου ίση με 2 g/cm^{-3} , ελαφρώς επηρεασμένη από το βαθμό συμπύκνωσης. Τα νανοσωματίδια διασπείρονται ικανοποιητικά σε πολικούς διαλύτες, όπως το νερό και η αιθανόλη, και έχουν τη δυνατότητα να μετατραπούν σε υδρόφοβα μέσω σύζευξης διαφορετικών σιλανών στην επιφάνεια των νανοσωματιδίων.

Ορισμένα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του διοξειδίου του πυριτίου, όπως ο σχηματισμός σταθερών πορώδων δομών, η μεγάλη ειδική επιφάνεια, και η δυνατότητα ρύθμισης του μεγέθους των πόρων, που επιτρέπει την ελεγχόμενη ενθυλάκωση φαρμάκου, καθώς και οι καλά καθορισμένες ιδιότητες της επιφάνειας για συγκεκριμένη αποδέσμευση και ενθυλάκωση μορίων-φαρμάκων, με διαφορετικά μεγέθη, σχήματα και λειτουργίες, το καθιστούν ως ένα από τα καταλληλότερα υλικά για εφαρμογές ελεγχόμενης αποδέσμευσης φαρμάκων. Επίσης, το υλικό της πυριτίας είναι βιοσυμβατό σε *in vivo* εφαρμογές και στην επιφάνεια τους εντοπίζονται ομάδες

σιλανόλης (Si-OH), οι οποίες μπορούν να ενεργοποιηθούν από διάφορες οργανικές ομάδες.

Τα νανοσωματίδια πυριτίας χρησιμοποιούνται ευρύτατα σε βιολογικές εφαρμογές, καθώς παρουσιάζουν πολύ χαμηλή τοξικότητα, υψηλή θερμική και χημική σταθερότητα, είναι διαθέσιμα σε μεγάλη κλίμακα και η σύνθεσή τους αποτελεί σχετικά απλή διαδικασία. Επίσης, εμφανίζουν εξαιρετική βιοσυμβατότητα, καθώς η πυριτία ανήκει στις αδρανείς ενώσεις και συνδέονται με θειόλες, γεγονός που επιτρέπει την αποτελεσματική και ενδοκυτταρική στοχευμένη αποδέσμευση φαρμάκου. **(15)**

Πολλές έρευνες που πραγματοποιούνται συνεχώς εστιάζουν στη σύνθεση νανοσωματιδίων πυρήνα-κελύφους με χρήση πυριτίας ως πυρήνα για διάφορες εφαρμογές. Η σύνθεση νανοσωματιδίων πυριτίας-πολυμερούς συνδυάζει τις ιδιότητες του λειτουργικού κελύφους και την υψηλή κολλοειδή σταθερότητα του πυρήνα, η οποία μπορεί να διευρύνει την εφαρμογή τους σε πολλούς τομείς, όπως των μαγνητικών, των οπτικών και των αντιμικροβιακών. **(16),(17),(18)** Για παράδειγμα, πολλοί ερευνητές στράφηκαν στη σύνθεση νανοσωματιδίων πυρήνα – κελύφους πυριτίας – αργύρου. Οι κύριοι λόγοι που τους ώθησαν σε αυτό είναι οι εξαιρετικές αντιμικροβιακές ιδιότητες που εμφανίζει ο άργυρος, η μεγάλη ποικιλία των μεθόδων σύνθεσης, το γεγονός ότι ο άργυρος αποτελεί μη τοξικό και φυσικό ανόργανο μέταλλο, αλλά και παλαιότερες μελέτες που έχουν δείξει ότι τα νανοσωματίδια πυριτίας – αργύρου ανταποκρίνονται ικανοποιητικά σε εφαρμογές όπως η κατάλυση. **(19),(20)**

Κεφάλαιο 2^ο: Βιοϋλικά

Βιοϋλικό είναι κάθε υλικό, απλό μέρος μιας γενικής κατηγορίας υλικών ή συνδυασμός δύο ή περισσότερων μελών της ίδιας ή διαφορετικών κατηγοριών, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ένα ζωντανό οργανισμό για κάποιο συγκεκριμένο εμφύτευμα ή ομάδα εμφυτευμάτων και το οποίο δεν προκαλεί αρνητικές αντιδράσεις στον οργανισμό, είναι σταθερό ή αποδομείται κατά ελεγχόμενο τρόπο.

Στόχος των βιοϋλικών είναι η αντικατάσταση ενός οργάνου του σώματος, που έχει αλλοιωθεί από ασθένεια, με ένα αδρανές φαρμακολογικά αλλά λειτουργικό υλικό, ώστε να αποκατασταθεί η λειτουργία του αντίστοιχου οργάνου χωρίς όμως να τεθεί σε κίνδυνο η ζωή. Το υλικό αυτό ονομάζεται βιοϋλικό εφόσον αντικαθιστά επιτυχώς το φυσιολογικό όργανο ή μέρος του και γίνεται αποδεκτό από τον ανθρώπινο οργανισμό. Στην ουσία γίνεται μεταμόσχευση ενός οστού ή οργάνου με ένα βιοϋλικό το οποίο θα είναι συμβατό με το βιολογικό περιβάλλον και τη λειτουργία του οργανισμού.

Η ανάπτυξη νέων βιοϋλικών τις προηγούμενες δεκαετίες ήταν αποτέλεσμα της εξέλιξης των φυσικών επιστημών και της τεχνολογίας, αλλά κυρίως της κατανόησης της αλληλεπίδρασης των υλικών με τους ζώντες οργανισμούς σε κυτταρικό επίπεδο και σε επίπεδο οργανωμένων συστημάτων (ιστοί).

Η πρώτη γενιά βιοϋλικών (1940-1950) συμπεριλάμβανε κυρίως μεταλλικά υλικά, κράματα και πολυεστερικά πολυμερή. Χαρακτηριστικό των υλικών αυτών ήταν η βιοανοχή (biotolerance, bioacceptance), δηλαδή η ικανότητά τους να γίνονται ανεκτά από τον οργανισμό, χωρίς απαραίτητα να συνδέονται χημικά με τους ιστούς (bioinert), και να ικανοποιούν κυρίως μηχανικές ανάγκες. Γενικά, αν και τα υλικά αυτά δεν προκαλούσαν τοξικότητα, όμως η βιο-πρόσδεσή τους με το βιολογικό περιβάλλον ήταν αδύνατη. **(21)**

Στη δεύτερη γενιά βιοϋλικών (1960-1990) τα υλικά που χρησιμοποιούνται είναι περισσότερο βιοενεργά (bioactive) και αποδεκτά από τον οργανισμό γι' αυτό ονομάστηκαν «φαρμακευτικής τάξης». Τα υλικά αυτά έχουν ως στόχο τη μόνιμη αποκατάσταση της βλάβης και να είναι βιοαπορροφήσιμα. Στην κατηγορία αυτή συμπεριλαμβάνονται τα χειρουργικά ράμματα, πλέγματα κ.ά. Παρ' όλα αυτά, για τα περισσότερα προσθετικά υλικά δεν επιτεύχθηκε η πλήρης βιοαπορροφησιμότητα και

απαιτείται τις περισσότερες φορές η αντικατάστασής τους, συνήθως μετά την παρέλευση δεκαετίας. Αν και αυτά τα υλικά έχουν καλύτερη ανάπτυξη και δεν είναι τοξικά, όμως δεν γίνονται απόλυτα αποδεκτά από τους ιστούς. (21)

Η τρίτη γενιά βιοϋλικών, η οποία άρχισε να αναπτύσσεται μετά το 2000, στοχεύει στην παραγωγή υβριδικών υλικών τα οποία πρέπει, όχι μόνο να είναι συμβατά, αλλά και να συνεργάζονται καλύτερα με τους ιστούς στην περιοχή της εμφύτευσης. (21)

Η ιατρική πρακτική αξιοποιεί σήμερα ένα μεγάλο αριθμό συσκευών και εμφυτευμάτων. Βιοϋλικά με τη μορφή εμφυτευμάτων, όπως χειρουργικά ράμματα, αντικαταστάτες αρθρώσεων και συνδέσμων, μοσχεύματα αρτηριών, βαλβίδες καρδιάς, ενδοφθάλμοι φακοί, φακοί επαφής, οδοντικά εμφυτεύματα, και με τη μορφή ιατρικών συσκευών όπως βηματοδότες, καθετήρες, βιοαισθητήρες, τεχνητές καρδιές, αιμοφόρα αγγεία κ.ά χρησιμοποιούνται ευρέως σε διάφορες εφαρμογές μέσα στο ανθρώπινο σώμα, προκειμένου να αντικαταστήσουν ή να βελτιώσουν τη λειτουργία τραυματισμένων ή εκφυλισμένων ιστών ή οργάνων, να βοηθήσουν στη θεραπεία, να διορθώσουν μη φυσιολογικές αποκρίσεις και επομένως να βελτιώσουν την ποιότητα ζωής των ασθενών. (22)

Όσον αφορά στην εφαρμογή των βιοϋλικών στην παρασκευή και μεταφορά βιοδραστικών μορίων, όπως αντιβιοτικών, η βιβλιογραφία είναι πλούσια σε εφαρμογές με αποτέλεσμα την αύξηση της αποτελεσματικότητας και τη μείωση της τοξικότητας βιοδραστικών μορίων. Επίσης ο έλεγχος του ρυθμού αποδέσμευσης των βιοδραστικών μορίων από τα βιοϋλικά, όπως πολυμερικά ή λιπιδικά συστήματα, οδηγεί σε πλεονέκτημα όσον αφορά την αποτελεσματικότητά τους. Η χρήση των βιοϋλικών για την παρασκευή τεχνητών βιολογικών μεμβρανών δίνει τη δυνατότητα μελέτης των φυσιολογικών λειτουργιών των κυττάρων και των ιστών.

2.1 Κριτήρια Επιλογής Βιοϋλικών

Το βιοϋλικό μετά την τοποθέτηση του βρίσκεται σε συνεχή επαφή με τους ζωντανούς ιστούς του οργανισμού και οι διεπιφανειακές του ιδιότητες σε επίπεδο βιοϋλικού-ιστού παίζουν σπουδαίο ρόλο στη συμβατότητα και στην αποτελεσματικότητά του. Η σταθερότητα και η αντοχή της διεπιφάνειας του

βιοϋλικού είναι ιδιότητες που πρέπει να είναι γνωστές ώστε να προβλεφθεί η συμπεριφορά του. Για τον χαρακτηρισμό ενός υλικού ως βιοϋλικό και της συμβατότητάς του απαιτούνται συστηματικές μελέτες τόσο in vitro όσο και in vivo σε επίπεδο μεταλλάξεων. Τα καρδιολογικά εμφυτεύματα ή τα ορθοπεδικά, οφθαλμολογικά, οδοντιατρικά και άλλα πρέπει να μελετώνται για την αντοχή τους με τον χρόνο, ώστε να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με την συμπεριφορά τους με την αποδέκτρια περιοχή του οργανισμού και σχετικά με την όλη κατάσταση του ασθενούς. Σύμφωνα λοιπόν με τα παραπάνω, **τα κριτήρια** με βάση τα οποία επιλέγεται ένα υλικό να χρησιμοποιηθεί ως βιοϋλικό είναι πολλά.

Καταρχήν πρέπει να έχει τέτοιες μηχανικές ιδιότητες ώστε να αντικαταστήσει τη λειτουργία του οργανικού ιστού ή του οργάνου που έχει υποστεί βλάβη. Δηλαδή πρέπει να είναι συμβατό ως προς τη δομή του, ώστε να προσαρμοστεί, όσο το δυνατόν καλύτερα, στη μηχανική συμπεριφορά του ιστού ξενιστή. Στα βιοϋλικά μπορεί να δοθεί το σχήμα και οι διαστάσεις του τμήματος που θα αντικαταστήσουν ή μπορούν να διαμορφωθούν κατάλληλα με επικαλύψεις, φιλμ ή με πορώδη επιφάνεια ή να είναι ίνες κλπ. Έτσι η συμβατότητα δομής αναφέρεται στις μηχανικές ιδιότητες του εμφυτεύματος, όπως είναι το μέτρο ελαστικότητας (Young's modulus), η αντοχή, η σκληρότητα και η σωστή μεταφορά τάσης στη διεπιφάνεια εμφυτεύματος-ιστού. **(22),(23)**

Το βιοϋλικό κατά δεύτερο λόγο πρέπει να είναι βιοσυμβατό. Με τον όρο βιοσυμβατότητα εννοούμε τη δυνατότητα ενός υλικού να προσαρμόζεται κατάλληλα με τον βιολογικό υποδοχέα με ελεγχόμενο και προβλεπόμενο τρόπο, ώστε να εξασφαλίζεται η αρμονική συμβίωση βιοϋλικού και ζώντος οργανισμού. Ο ορισμός αυτός σήμερα έχει επεκταθεί για να συμπεριληφθούν και άλλες συνθήκες, οι οποίες εκδηλώθηκαν με τη χρήση «έξυπνων» υλικών. Απαραίτητη επίσης προϋπόθεση της βιοσυμβατότητας είναι το υλικό να μην προκαλεί φλεγμονές, αλλεργίες, επιμεταλλώσεις (εναπόθεση ανόργανων αλάτων, mineralization) ούτε να είναι τοξικό (non-toxic), να μην εκλύει δηλαδή τοξικές ουσίες οι οποίες μπορούν να νεκρώσουν τον ιστό που το περιβάλλει. Για το λόγο αυτό, η μελέτη της βιοσυμβατότητας δεν απορρέει από μία και μόνο πειραματική μέθοδο, αλλά από μία σειρά σχεδιασμένων βημάτων, με τελικό στάδιο τις in vivo δοκιμές, οι οποίες πρέπει να αποδείξουν στατιστικά ότι η εφαρμογή του βιοϋλικού, όταν εφαρμοστεί στον άνθρωπο θα είναι ασφαλής σε έναν μέσο όρο πληθυσμού και για αρκετά χρόνια. **(22)**

Επίσης η εμφάνιση νοσοκομειακών σηψαιμικών επεισοδίων σχετιζόμενων με λοιμώξεις που προκαλούνται από βιοϋλικά που εμφυτεύονται στο ανθρώπινο σώμα, κάτω από άσηπτες συνθήκες, είναι μια από τις κύριες αιτίες που εμποδίζουν τη μακροχρόνια χρήση τους και αυξάνουν τη νοσηρότητα, το κόστος νοσηλείας αλλά και τη θνητότητα.

Επομένως η χρήση αντιμικροβιακών υλικών ή υλικών που αποτρέπουν την προσκόλληση σε αυτά μικροοργανισμών αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση προκειμένου το βιοϋλικό να μην προκαλεί αρνητικές αντιδράσεις. (24),(25)

Η καταλληλότερη λοιπόν αλληλεπίδραση βιοϋλικού και ξενιστή-οργανισμού-ιστού επιτυγχάνεται όταν εξασφαλίζεται παράλληλα η συμβατότητα δομής (μηχανικές ιδιότητες) και επιφάνειας του υλικού (βιοσυμβατότητα). Πρέπει να σημειωθεί όμως ότι η επιτυχία του βιοϋλικού εξαρτάται και από τη χειρουργική τεχνική καθώς και από τη γενικότερη κατάσταση της υγείας του ασθενούς και τις δραστηριότητές του.

2.2 Ιδιότητες των Βιοϋλικών

Οι ιδιότητες των υλικών είναι πολλές, μηχανικές, φυσικοχημικές, θερμικές, μαγνητικές κ.τ.λ. Αυτές που κυρίως ενδιαφέρουν για υλικά που χρησιμοποιούνται ως βιοϋλικά είναι οι μηχανικές και οι φυσικοχημικές. Γι' αυτές έχουμε:

2.2.1 Μηχανικές Ιδιότητες

Κάθε εμφύτευμα και τεχνητό όργανο σχεδιάζεται με βάση τις μηχανικές απαιτήσεις της βιοιατρικής εφαρμογής για την οποία προορίζεται και εξαρτάται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του υλικού από το οποίο αποτελείται. Συγκεκριμένα μια εμφύτευση ισχίου πρέπει να είναι άκαμπτη και δεν πρέπει να αστοχεί κάτω από μεγάλα φορτία για τουλάχιστον 10 χρόνια, ενώ το βιοϋλικό που θα αντικαταστήσει ένα τένοντα πρέπει να είναι εύκαμπτο. Μια βαλβίδα καρδιάς πρέπει να είναι εύκαμπτη αλλά και να αντέχει σε πολλούς κύκλους κόπωσης. Οι οφθαλμικοί φακοί πρέπει να είναι εύκαμπτοι και διαυγείς. Οι καθετήρες πρέπει επίσης να είναι αρκετά εύκαμπτοι προκειμένου να επιτρέπουν την κίνηση της φλέβας και του ασθενούς χωρίς να τραυματίζει τη φλέβα και το περίβλημά της.

Πρέπει λοιπόν να διαπιστώνεται αν ένα υλικό έχει τέτοιες μηχανικές ιδιότητες ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοϋλικό σε μια συγκεκριμένη ιατρική εφαρμογή. Για το σκοπό αυτό, γνωρίζοντας τις προϋποθέσεις που πρέπει να πληρεί, οι μηχανικές ιδιότητες που ελέγχονται είναι η αντοχή στον εφελκυσμό, τη θλίψη, τη διάτμηση, την κόπωση και τον ερπυσμό.

Από άποψη μηχανικών ιδιοτήτων, τα πολυμερή είναι σε γενικές γραμμές εύκαμπτα αλλά και αδύναμα να αντιμετωπίσουν τις μηχανικές απαιτήσεις της ορθοπεδικής χειρουργικής στις περιπτώσεις των σκληρών ιστών, δηλαδή στα οστά. Αντίθετα τα μέταλλα και λιγότερο τα κεραμικά, είναι ανθεκτικά και με μέτρο ελαστικότητας 10-20 φορές μεγαλύτερο από αυτό των σκληρών ιστών, με αποτέλεσμα αυτή η διαφορά στο μέτρο ελαστικότητας να οδηγεί σε μη σωστή μετάδοση τάσεων από το εμφύτευμα στους ιστούς-οστά, οπότε το οστό δέχεται μικρότερες τάσεις σε σχέση με το εμφύτευμα και σταδιακά ατροφεί.

Το πρόβλημα αυτό τείνει να αντιμετωπιστεί με τη χρήση σύνθετων υλικών, δηλαδή πολυμερών υλικών ενισχυμένων με ίνες, τα οποία έχουν μεγάλη ανθεκτικότητα, οπότε ενδείκνυται η χρήση τους και σε πολυάριθμες ορθοπεδικές εφαρμογές. Ακόμα καθορίζοντας κάθε φορά τον όγκο των ινών και τη διάταξή τους μέσα στο σύνθετο υλικό, οι ιδιότητες του εμφυτεύματος μπορούν να προσαρμόζονται κάθε φορά στις μηχανικές και φυσικοχημικές απαιτήσεις των διαφόρων εφαρμογών. Έτσι, τα σύνθετα υλικά προσφέρουν μεγαλύτερη δυνατότητα δομικής συμβατότητας με τους ιστούς, σε σχέση με τα ομογενή υλικά.

2.2.2 Φυσικοχημικές Ιδιότητες

Τα στερεά ξεχωρίζονται από τις άλλες καταστάσεις (υγρά και αέρια) στο ότι τα άτομα που τα αποτελούν συγκρατούνται μεταξύ τους μέσω ισχυρών ενδομοριακών δυνάμεων. Οι ηλεκτρονικές και ατομικές δομές αλλά και οι μηχανικές όπως και πολλές φυσικοχημικές ιδιότητες των υλικών εξαρτώνται από τη φύση και την ισχύ των ενδοατομικών και ενδομοριακών δεσμών. Υπάρχουν δύο διαφορετικοί τύποι ενδοατομικών (ισχυρών) δεσμών, ο ιοντικός και ο ομοιοπολικός, και οι ασθενείς ενδομοριακοί δεσμοί υδρογόνου και Van der Waals.

Το είδος των ενδοατομικών και ενδομοριακών δεσμών είναι αυτό που καθορίζει τόσο τις μηχανικές όσο και τις φυσικοχημικές ιδιότητες. Έτσι λέγοντας

φυσικοχημικές ιδιότητες ενός υλικού και συγκεκριμένα της επιφάνειας, μιας και μόνο η επιφάνεια έρχεται σε επαφή με το βιολογικό υλικό, είτε αυτό είναι πρωτεΐνες, κύτταρα ή ιστοί συνήθως εννοούνται η χημική σύσταση της επιφάνειας, η επιφανειακή ενέργεια, το φορτίο, η μορφολογία και η τραχύτητα.

2.3 Είδη Βιοϋλικών

Η κλινική εμπειρία έχει δείξει ότι δεν μπορούν όλα τα υλικά που συνήθως χρησιμοποιούνται σε μηχανικές κατασκευές να χρησιμοποιηθούν και ως βιοϋλικά . Επειδή λοιπόν κανένα υλικό δεν μπορεί να θεωρηθεί απόλυτα αδρανές για τον οργανισμό, πολλοί κατατάσσουν τα βιοϋλικά σε κατηγορίες με βάση την αλληλεπίδραση τους με το όργανο, ιστό -στόχο και αυτές είναι:

- το υλικό απελευθερώνει κάποιες τοξικές ουσίες που περιέχει και αυτές οδηγούν στη νέκρωση του ιστού που το περιβάλλει (τοξικό), **(22)**
- το υλικό δεν έχει τοξικότητα αλλά απορροφάται σταδιακά από τον υπό θεραπεία ιστό, καθίσταται λειτουργικό και στη συνέχεια αποικοδομείται φυσιολογικά (βιοαποικοδομήσιμο),
- το υλικό δεν έχει τοξικότητα και είναι βιολογικά ανενεργό αλλά δεν μπορεί να αποσυντεθεί από τον οργανισμό (βιοσταθερό), **(24)**
- το υλικό δεν έχει τοξικότητα και αλληλεπιδρά έντονα μέσω χημικών δεσμών με τον ιστό-στόχο , σχηματίζοντας χημικούς δεσμούς που το σταθεροποιούν (βιοσύνθετο-βιοενεργό). **(26)**

Τα βιοϋλικά μπορούν επίσης να καταταχθούν με βάση το υλικό από το οποίο είναι κατασκευασμένα. Έτσι χωρίζονται σε τέσσερις κατηγορίες:

- μέταλλα και κράματα τους. Τα μέταλλα που με επιτυχία χρησιμοποιούνται ως βιοϋλικά είναι ο χρυσός και ο ανοξείδωτος χάλυβας αλλά και τα κράματα τιτανίου και κοβαλτίου. Μεταλλικά εμφυτεύματα και συσκευές βρίσκουν εφαρμογή στην ορθοπαιδική, στην οδοντιατρική, άλλα και σε καρδιαγγειακά εμφυτεύματα όπως τμήματα τεχνητής καρδιάς βηματοδότες, προσθετικές βαλβίδες, διάνοικτες στενώσεων, καθετήρες. **(27)**
- κεραμικά. Τα κεραμικά που χρησιμοποιούνται με επιτυχία είναι: αλούμινα, τιτανία, ζirkονία, βιοενεργά γυαλιά, άνθρακας και υδροξυαπατίτης και

χαρακτηρίζονται και από την αρκετά καλή βιοσυμβατότητά τους.

Χρησιμοποιούνται για την κατασκευή οπτικών γυαλιών και διαγνωστικών συσκευών στην ορθοπεδική και την οδοντιατρική. **(26)**

- πολυμερή. Τα πολυμερή χρησιμοποιούνται ευρέως για την κατασκευή βιοϋλικών με ποικίλες βιοϊατρικές εφαρμογές. Εκείνα που χρησιμοποιούνται συχνότερα είναι τα: πολυαιθυλένιο (PE), πολυουρεθάνη (PU), πολυμεθακρυλικός μεθυλεστέρας (PMMA), πολυτερεφθαλικός αιθυλενεστέρας (PET), πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC), σιλικόνη (Si), πολυσουλφόνη (PS), πολυλακτικό οξύ (PLA), πολυγλυκολικό οξύ (PGA) κ.ά **(28)**
- σύνθετα. Τα σύνθετα φτιάχνονται με συνδυασμούς των τριών πρώτων κατηγοριών. **(29)**
- λιπιδικά. Τα λιπιδικά βιολικά αποτελούνται από ουσίες λιπαρής δομής οι οποίες βρίσκονται στους έμβιους οργανισμούς και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή συσκευών, ικανών να αλληλοεπιδράσουν αποτελεσματικά με τους ιστούς-στόχους. Τα υλικά αυτά είναι βιοσυμβατά και βιοαποικοδομήσιμα. **(1)**

2.4 Μεταλλικά Βιοϋλικά

Τα μεταλλικά βιοϋλικά είναι τα παλαιότερα βιοϋλικά που έχουν χρησιμοποιηθεί τόσο για την αποκατάσταση της μερικής νωδότητας, όσο και στη χειρουργική αντιμετώπιση οστικών βλαβών και συνεχίζουν να χρησιμοποιούνται αδιάλειπτα μέχρι τις ημέρες μας. Τα μεταλλικά εμφυτεύματα χρησιμοποιήθηκαν αρχικά στην ορθοπαιδική και οδοντιατρική, λόγω της σκληρότητας και της αντοχής που εμφανίζουν σε μηχανικές καταπονήσεις. Επειδή η πρόσβαση στα οστά του προσώπου και στα δόντια ήταν άμεσα προσιτή, οι επιστήμονες μπορούσαν να παρακολουθούν το αποτέλεσμα. Ταυτόχρονα, είναι δυνατή και η διατήρηση καλών αντισηπτικών συνθηκών.

Οι φυσικές ιδιότητες των μετάλλων, όπως η μηχανική αντοχή, η σχετικά εύκολη κατεργασία και μορφοποίησή τους όπως χύτευση, σφυρηλάτηση, ολκιμότητα, ελατότητα κ.ά, μαζί με την άριστη θερμική και ηλεκτρική αγωγιμότητα, τα κατέστησε περισσότερο εύχρηστα. Οι ιδιότητες αυτές οφείλονται στον μεταλλικό δεσμό που επικρατεί στα μέταλλα και τα αδέσμευτα ηλεκτρόνια τα οποία διαθέτουν

που μπορούν γρήγορα να μεταφέρουν ηλεκτρικό φορτίο και θερμική ενέργεια. Τα κινούμενα ελεύθερα ηλεκτρόνια δρουν ως συνδετική δύναμη που συγκρατούν τα θετικά μεταλλικά ιόντα μαζί. Αυτή η επίδραση είναι δυνατή, όπως γίνεται αντιληπτό, από τη διάταξη μέγιστης συμύκνωσης έχοντας ως αποτέλεσμα υψηλό ειδικό βάρος και τα υψηλά σημεία τήξης των περισσότερων μετάλλων. Καθώς ο μεταλλικός δεσμός είναι μη κατευθυντικός, η θέση των μεταλλικών ιόντων μπορεί να τροποποιηθεί χωρίς να καταστραφεί η κρυσταλλική δομή, οδηγώντας σε ένα στερεό που παραμορφώνεται πλαστικά.

Μερικά μέταλλα χρησιμοποιούνται ως παθητικά υποκατάστατα για σκληρούς ιστούς, όπως επί παραδείγματι στην ολική αρθροπλαστική ισχίου και γόνατος, για την υποστήριξη της επούλωσης καταγμάτων με τη μορφή οστεοσυνθετικών πλακών ή κοχλιών, σε συσκευές συγκράτησης της σπονδυλικής στήλης, αλλά και στα οδοντικά εμφυτεύματα χάρη στις άριστες μηχανικές ιδιότητες. Ωστόσο, εξαιτίας των έντονων διαβρωτικών συνθηκών που επικρατούν στο στόμα, λόγω διατροφής και των υγρών του στόματος, τα μεταλλικά εμφυτεύματα των δοντιών καταστρέφονται πολύ εύκολα, δόθηκε η δυνατότητα ανάπτυξης της έρευνας στον τομέα της Οδοντιατρικής και κατόπιν της επέκτασή της σε άλλα μέρη του σώματος. Μερικά μεταλλικά κράματα χρησιμοποιούνται με πιο ενεργό ρόλο σε συσκευές, όπως οι αγγειακές ενδοπροθέσεις (stents), τα σύρματα καθοδήγησης σε καθετηριασμούς, ορθοδοντικά τόξα και κοχλιακά εμφυτεύματα.

Το πρώτο μεταλλικό κράμα που αναπτύχθηκε ειδικά για εφαρμογές στον άνθρωπο ήταν ο κραματοποιημένος χάλυβας με βανάδιο στην κατασκευή οστεοσυνθετικών πλακών και κοχλιών. Τα περισσότερα μέταλλα, όπως ο σίδηρος (Fe), το χρώμιο (Cr), το κοβάλτιο (Co), το νικέλιο (Ni), το τιτάνιο (Ti), το ταντάλιο (Ta), το νιόβιο (Nb), το μολυβδαίνιο (Mo) και το βολφράμιο (W), που δοκιμάστηκαν σε κράματα για ανάλογες εφαρμογές ήταν ανεκτά από τον οργανισμό μόνο σε ελάχιστες ποσότητες. Μερικές φορές αυτά τα μεταλλικά στοιχεία στις φυσικές τους μορφές είναι σημαντικά για τις λειτουργίες των ερυθροκυττάρων (σίδηρος) ή τη σύνθεση της βιταμίνης B12 (κοβάλτιο), ωστόσο δεν είναι ανεκτά σε μεγάλες ποσότητες. Η βιοσυμβατότητα των μεταλλικών εμφυτευμάτων είναι ένα θέμα στο οποίο επικεντρώνεται σε μεγάλο βαθμό το ερευνητικό ενδιαφέρον, καθώς αυτά τα εμφυτεύματα είναι δυνατόν να διαβρωθούν και σε in vivo περιβάλλον, προκαλώντας την κάθε αυτή αποσύνθεση του εμφυτεύματος που το αποδυναμώνει, αλλά και

βλαβερή επίδραση των προϊόντων της διάβρωσης στους περιβάλλοντες ιστούς και όργανα. (30)

2.5 Πολυμερή Βιοϋλικά

Πολυμερή χαρακτηρίζονται τα υλικά που αποτελούνται από πολύ μεγάλα μόρια-αλυσίδες ατόμων άνθρακα, στα οποία συνδέονται διάφορα άτομα ή ρίζες. Γίνεται αντιληπτό ότι τα μακρομόρια αυτά αποτελούνται από ομάδες μονομερών, δηλαδή μικρότερες δομικές μονάδες, που επαναλαμβάνονται κατά μήκος της αλυσίδας, με αποτέλεσμα το μοριακό βάρος να είναι πολύ υψηλό. Οι αλυσίδες δεν είναι πάντα γραμμικές, αλλά συχνά μπορούν να διακλαδώνονται, να διασταυρώνονται ή να δικτυώνονται σχηματίζοντας τρισδιάστατες δομές. Αυτές οι διαμορφώσεις επιφέρουν αλλαγές στα φυσικά χαρακτηριστικά και τη συμπεριφορά του υλικού.

Τα πολυμερή που χρησιμοποιούνται ως βιοϋλικά είναι είτε φυσικά είτε τεχνητά. Τα φυσικά πολυμερή, που ανήκουν στην κατηγορία των βιομοριακών υλικών, παράγονται μέσα από βιολογικές διεργασίες και απαντώνται, κατά κύριο λόγο, στο εξωκυττάριο υλικό των συνδετικών ιστών, όπως για παράδειγμα στους τένοντες, στο δέρμα, στα οστά, στα δόντια και στα αιμοφόρα αγγεία. Αντιπροσωπευτικά δείγματα είναι το κολλαγόνο, η ελαστίνη, το μετάνι, η κερατίνη, η ακτίνη και η μυοσίνη. Λειτουργικός τους ρόλος είναι η μηχανική στήριξη, η εξωτερική προστασία, η θερμική μόνωση, η συστολή και κινητικότητα, μπορεί όμως να έχουν και δομικό ρόλο. Η δομή και οι ιδιότητές τους παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον και, ως εκ τούτου, αξιοποιούνται και στα τεχνητά εμφυτεύματα στην προσπάθεια μίμησης των φυσικών βιολογικών δομών. Στα πλεονεκτήματα των φυσικών πολυμερών συγκαταλέγονται η χημική τους ομοιότητα με μακρομόρια του περιβάλλοντος όπου εμφυτεύονται, το γεγονός ότι δεν προκαλούν φλεγμονές τοξικές αντιδράσεις και η ικανότητα αποικοδόμησής τους με φυσικό μεταβολικό τρόπο από τον οργανισμό. Τροχοπέδη στην αξιοποίησή τους αποτελούν η ανοσολογική αντίδραση του οργανισμού εναντίον τους, με εξαίρεση το κολλαγόνο, η διαφοροποίησή τους από ιστό σε ιστό και η απώλεια της δραστητικότητάς τους σε θερμοκρασίες πολύ χαμηλότερες από το σημείο τήξεως. (31)

Αρκετά εκτεταμένη, ωστόσο, είναι και η χρήση των τεχνητών πολυμερών ως βιοϋλικών, κυρίως χάρη στην ικανότητά τους να μορφοποιούνται εύκολα και να

αποκτούν διάφορες μορφές, όπως νήματα, ράβδοι, ιξώδη υγρά και υμένια. Παρά το γεγονός, όμως, ότι κατασκευάζονται και μορφοποιούνται αρκετά εύκολα, υστερούν σε σχέση με άλλα βιοϋλικά στη συμπεριφορά τους μεσομακροπρόθεσμα. Οι κυριότερες κατηγορίες τεχνητών πολυμερών με εφαρμογές στα βιοϋλικά είναι το πολυαιθυλένιο, τα πολυαμίδια, ο πολυμεθακρυλικός μεθυλεστέρας, το πολυτετραφθοροαιθυλένιο, οι πολουρεθάνες και άλλες κατηγορίες η δομή και οι ιδιότητες των οποίων αναπτύσσονται παρακάτω.

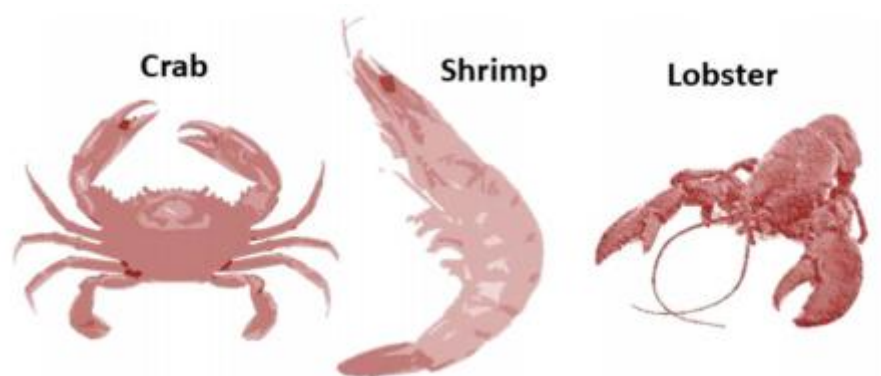
Οι κυριότερες απαιτήσεις που τίθενται όσον αφορά στη χρησιμοποίηση των πολυμερών ως βιοϋλικών είναι:

- η βιοσυμβατότητα, δηλαδή η ικανότητα του υλικού να μην προκαλεί καρκινογένεση, τοξικότητα και αλλεργική αντίδραση
- οι φυσικές ιδιότητες, δηλαδή η αντοχή, η ελαστικότητα και η σταθερότητα του υλικού
- η ικανότητα μορφοποίησης, με εξώθηση, σε καλούπι ή σχηματισμός ινών
- η ικανότητα αποστείρωσης, σε αυτόκλειστο, με θερμή ξήρανση, με αέριο αιθυλενοξειδίο και ακτινοβολία
- η ικανότητα απόκρισης σε εξωτερικά ερεθίσματα (π.χ. θερμοκρασία, pH), η οποία τους δίνει τη δυνατότητα αυξημένης λειτουργικότητας

Κεφάλαιο 3^ο: Υλικά που χρησιμοποιήθηκαν

3.1 Χιτοζάνη (Chitosan)

Η χιτοζάνη αποτελεί ένα κατιονικό πολυσακχαρίτη που προκύπτει έπειτα από την μερική αποακετυλίωση της χιτίνης. Η χιτίνη αποτελεί το δεύτερο σε αφθονία στη φύση βιοπολυμερές, με πρώτο την κυτταρίνη. Εντοπίζεται στον εξωσκελετό καρκινοειδών, εντόμων, αρθρόποδων, καθώς και στο μυκητιακό κυτταρικό τοίχωμα. Η εμπορική διαθέσιμη χιτοζάνη προέρχεται κυρίως από θαλάσσια χιτίνη που λαμβάνεται από πηγές όπως γαρίδες, αστακό και κέλυφος καβουριών. (32)

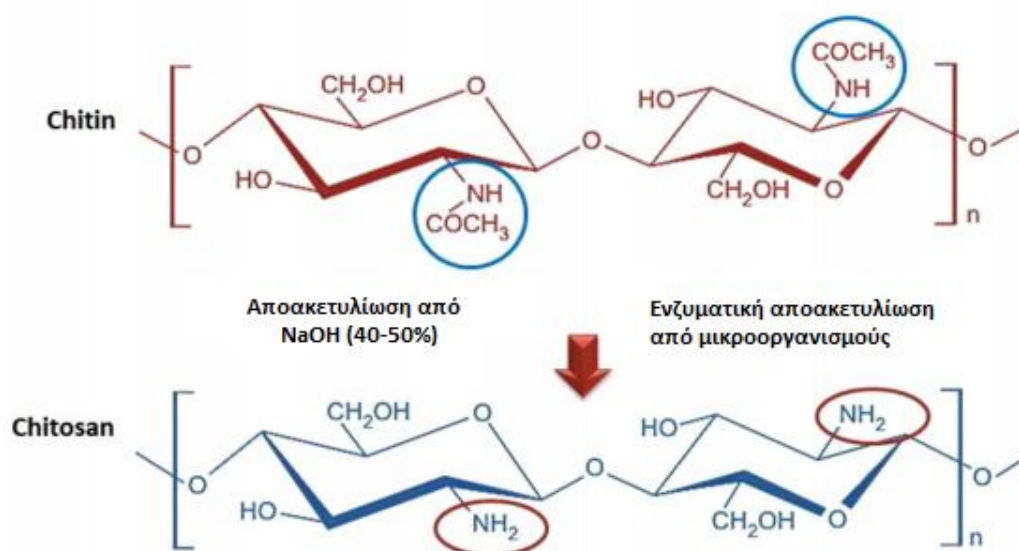


Εικόνα 3.1.1: Φυσικές πηγές Χιτίνης και Χιτοζάνης (32)

Η χιτοζάνη για πρώτη φορά ανακαλύφθηκε και συζητήθηκε από τον Rouget το 1859 ως αποακετυλιωμένη μορφή ενός φυσικού πολυμερούς, της χιτίνης. Στις αρχές της δεκαετίας του 1990 η χιτοζάνη εισήλθε στον χώρο των φαρμακευτικών προϊόντων, παρακινώντας το ενδιαφέρον των ερευνητών και των βιομηχάνων να δημιουργήσουν ένα πιο αποτελεσματικό και καινοτόμο θεραπευτικό σύστημα βασισμένο σε αυτή. Η ευελιξία της οφείλεται στις δραστικές της αμινομάδες που την καθιστούν υδρόφιλο υλικό και ικανό να αντιδράσει με άλλες ομάδες, χρησιμοποιώντας ήπιες συνθήκες αντίδρασης. (33)

Δομικά αποτελείται από μονάδες D – γλυκοζαμίνης και N – ακετυλο – D – γλυκοζαμίνης συνδεδεμένες με β-(1-4) γλυκοσιδικό δεσμό, με μία αμινομάδα (NH₂) και δύο υδροξυλομάδες (OH) σε κάθε επαναλαμβανόμενη γλυκοσιδική μονάδα. (34) Σε αντίθεση με τη χιτίνη που έχει περιορισμούς στη χρήση της, λόγω κακής

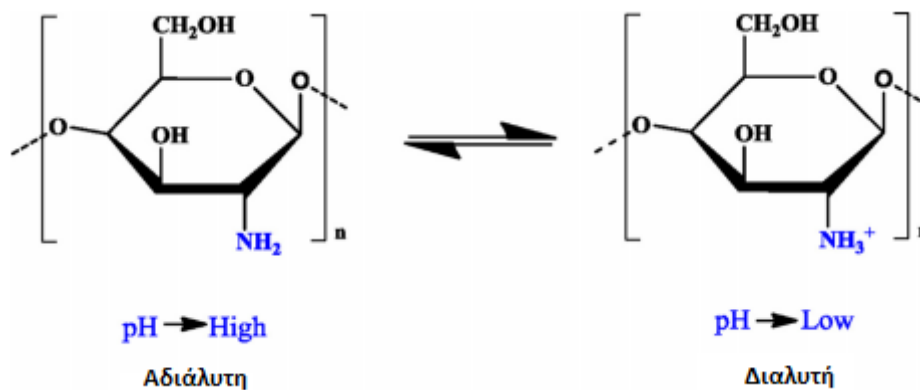
υδατοδιαλυτότητας και χαμηλής αντιδραστικότητας, η χιτοζάνη είναι πιο υδρόφιλη και διαθέτει βελτιωμένη υδατοδιαλυτότητα, ενώ έχει περισσότερες πιθανότητες για χημικές τροποποιήσεις λόγω των δραστικών ομάδων που περιέχει, δηλαδή μια πρωτοταγή αμινομάδα, καθώς και μια πρωτοταγή και μια δευτεροταγή υδροξυλομάδα. (33) Υπάρχουν πολλές μορφές χιτοζάνης που διαφέρουν από πλευράς βαθμού αποακετυλίωσης και μοριακού βάρους. Ο βαθμός αποακετυλίωσης αντιπροσωπεύει την αναλογία γλυκοζαμίνης και N – ακετυλο – γλυκοζαμίνης και συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 30 – 95%. Το μοριακό βάρος της εμπορικά διαθέσιμης χιτοζάνης κυμαίνεται μεταξύ 300 – 1000 kDa, εξαρτώμενο άμεσα από τις συνθήκες αποακετυλίωσης. (35) Η παρασκευή της γίνεται με αποακετυλίωση της χιτίνης σε στερεή κατάσταση υπό ισχυρά αλκαλικές συνθήκες ή με ενζυμική υδρόλυση παρουσία ενός ενζύμου (αποακετυλάσης). Η διαδικασία παραγωγής μέσω της αλκαλικής αποακετυλίωσης περιλαμβάνει βρασμό σε πυκνό διάλυμα NaOH (40-45%) στους 120°C για 1-3 ώρες. Για να είναι κατάλληλη η χρήση της χιτοζάνης για βιολογικές αλλά και φαρμακευτικές εφαρμογές πρέπει να γίνεται επαρκής καθαρισμός των ενδοτοξινών της. Η διαδικασία παραγωγής από την πρώτη ύλη (π.χ κοχύλια) γίνεται σε τέσσερα βασικά στάδια, την αποπρωτεΐνωση, την αφαλάτωση, τον αποχρωματισμό της πρώτης ύλης όπου μετατρέπεται σε χιτίνη και τέλος την αποακετυλίωση της χιτίνης και την παραγωγή της χιτοζάνης. (32)



Εικόνα 3.1.2: Χημική δομή των επαναλαμβανόμενων μονάδων χιτίνης και χιτοζάνης (32)

Η κατιοντική φύση της χιτοζάνης την καθιστά ιδιαίτερα ελκυστική ως βιοϋλικό. Χάρη σε αυτήν, μπορεί να αλληλοεπιδρά με τα αρνητικά φορτισμένα τμήματα των κυτταρικών μεμβρανών, ενισχύοντας την δυνατότητα εισόδου θρεπτικών συστατικών εντός των κυττάρων. Ομοίως αιτιολογείται και η αιμοστατική συμπεριφορά του εν λόγω πολυσακχαρίτη, καθώς οι κυτταρικές μεμβράνες των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι αρνητικά φορτισμένες. **(36)** Επιπλέον, όπως και άλλα κατιοντικά πολυμερή, έτσι και η χιτοζάνη παρουσιάζει αντιμικροβιακές ιδιότητες, εξαρτώμενες από βασικούς παράγοντες, όπως τον τύπο του παθογόνου, το pH του μέσου, τις δομικές της ιδιότητες (δηλαδή το βαθμό ακετυλίωσης και το μοριακό βάρος), την πηγή και τη συγκέντρωσή της. **(32)** Πιο συγκεκριμένα, η χιτοζάνη εμφανίζει αντιμικροβιακή δράση σε τιμές pH κάτω από 6,5, ενώ όσο η τιμή του βαθμού αποακετυλίωσής της μειώνεται, τόσο πιο αντιμικροβιακή δραστηριότητα επιδικνύει. Παρόλο που οι μηχανισμοί δράσης δεν έχουν ακόμα εξακριβωθεί, φαίνεται ότι διαταράσσει τα αρνητικά φορτία των τοιχωμάτων των βακτηριακών κυττάρων, καταστέλλοντας την ανάπτυξή τους. **(37)** Ακόμα η αντιμικροβιακή δράση της χιτοζάνης επηρεάζεται από τον τύπο του μικροοργανισμού. Το βιοπολυμερές φαίνεται να εμφανίζει αντιβακτηριδιακή δράση έναντι κατά Gram-θετικών βακτηρίων (όπως *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *Bacillus megaterium*, *Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus brevis* και *Lactobacillus bulgaricus*) και κατά Gram-αρνητικών βακτηρίων (όπως *Salmonella typh*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Enterobacter aerogenes* και *Vibrio cholera*), χωρίς ωστόσο οι επιστήμονες να έχουν καταλήξει σε πιο τύπο βακτηρίων είναι πιο αποτελεσματική. **(32)**

Η χιτοζάνη είναι αδιάλυτη στο νερό και στους κοινούς οργανικούς διαλύτες, υπό ουδέτερες και βασικές συνθήκες. Ωστόσο αυτό το μειονέκτημα μπορεί να ξεπεραστεί με χημικές τροποποιήσεις, όπως με τη δημιουργία όξινων συνθηκών. Σε χαμηλές τιμές pH η χιτοζάνη παραμένει ως πολυκατιονικό είδος, λόγω της πρωτονίωσης της αμινομάδας της, με αποτέλεσμα να εμφανίζει αυξημένη διαλυτότητα. **(32)** Ο βαθμός της διαλυτότητας εξαρτάται από την συγκέντρωση και τον τύπο του οξέος, καθώς όσο η συγκέντρωση του οξέος αυξάνεται τόσο η διαλυτότητα μειώνεται (Salting-out effect). Ανάλογα το είδος οξέος που χρησιμοποιείται, δύναται να σχηματιστούν σύμπλοκα μορίων χιτοζάνης που φέρουν συνδυαστικές ιδιότητες. **(38)**



Εικόνα 3.1.3: Χημική δομή χιτοζάνης σε διαφορετικές τιμές pH

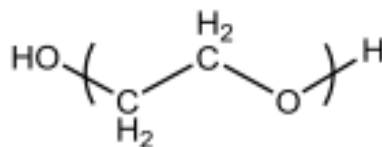
Η χιτοζάνη προσφέρει εξαιρετικές βιολογικές ιδιότητες, εξαιτίας των οποίων έχει αποκτήσει τεράστια σημασία στη σύνθεση βιοϋλικών. Το μοριακό βάρος και ο βαθμός ακετυλίωσής της, είναι οι δύο κυριότερες ιδιότητες που επηρεάζουν τις βιολογικές της δραστηριότητες, όπως τη χρήση της ως μητρικό μόριο σε συστήματα μεταφορά φαρμάκων, λόγω της επιρροής τους στην υδατική της διαλυτότητα και την υδροφοβικότητα. Η αντιμικροβιακή δραστηριότητα και η χαμηλή ανοσογονικότητα, σε συνδυασμό με τη βιοσυμβατότητα και τη βιοαποικοδομησιμότητά της, παρείχαν επαρκείς ευκαιρίες για την πρόοδό της σε πολλούς τομείς. Εκτός αυτού, ορισμένες άλλες ζωτικές ιδιότητες που προσφέρει είναι αιμοστατικές, βακτηριοστατικές, αντιχοληστερικές, αντικαρκινογόνες και μυκητιασικές.

Με βάση τα παραπάνω, η χιτοζάνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε διάφορες μορφές ανάλογα με τη λειτουργία και τις εφαρμογές του φορέα. Πιο συγκεκριμένα, η χιτοζάνη χρησιμοποιείται ευρέως στον τομέα της Ιστικής Μηχανικής και ειδικότερα στον σχεδιασμό υλικών ικανών να υποκαταστήσουν κατεστραμμένους ιστούς ή όργανα και να ενισχύσουν την κυτταρική προσκόλληση και πολλαπλασιασμό. Λόγω της δομικής της ομοιότητας με τις γλυκοζαμινογλυκάνες της εξωκυττάριας μήτρας, η χιτοζάνη βρίσκει εκτεταμένη εφαρμογή στην επιδιόρθωση πληθώρας ιστών. **(39)** Η χρήση αμιγώς του συγκεκριμένου πολυμερούς περιορίζεται στην επιδιόρθωση μαλακών ιστών όπως το δέρμα και τα νεύρα, εξαιτίας των μειωμένων μηχανικών του αντοχών. Ωστόσο, η εισαγωγή νέων τμημάτων στην πολυμερική της αλυσίδα μπορεί να βελτιώσει τις ιδιότητές της, καθιστώντας την πιο χρήσιμη για φαρμακευτικές εφαρμογές.

Οι Hu et al. συνέθεσαν ένα πολυστρωματικό νανοσύνθετο υλικό χιτοζάνης – υδροξυαπατίτη με υψηλή αντοχή και μέτρο κάμψης, με εν δυνάμει εφαρμογή ως εσωτερική στερέωση του κατάγματος των οστών στην επούλωση εκτεταμένων καταγμάτων. **(40)** Επιπλέον, οι υδρογέλες που περιέχουν χιτοζάνη βρίσκουν εκτενή εφαρμογή στην ανάπλαση του δέρματος και των νεύρων, λόγω της ομοιότητας των συστατικών με τα αντίστοιχα της εξωκυττάριας μήτρας του φυσικού ιστού. Ο C.A. Stone και οι συνεργάτες του απέδειξαν ότι η χιτοζάνη διευκόλυνε την ταχεία επανεπιθηλοποίηση των πληγών, ενισχύοντας την αναγέννηση των νεύρων μέσα στο κυτταρικό δέρμα και την κυτταρική μετανάστευση. **(41)** Τα περαιτέρω πλεονεκτήματα της χρήσης της χιτοζάνης είναι η διαπερατότητά της στο οξυγόνο, με αποτέλεσμα να μην απαιτείται η αφαίρεσή της μετά το πέρας της θεραπείας. Η ικανότητα της να προσδένεται στα ερυθροκύτταρα και να προωθεί τη συγκόλληση τους οδηγεί στη χρήση της ως αιμοστατικής ουσίας και ταυτόχρονα ερευνάται η χρήση της ως βακτηριοστατικού, αφού έχει την ιδιότητα να προσδένεται σε μία σειρά βακτηριακών ή ευκαρυωτικών κυττάρων. **(42)**

3.2 Πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG)

Η πολυαιθυλενογλυκόλη (polyethylene glycol, PEG) είναι ένας γραμμικός ουδέτερος πολυαιθέρας με χημική ένωση $-H-(O-CH_2-CH_2)_n-OH$ και εμπορικά διαθέσιμος από μοριακά βάρη 300 g/mol μέχρι 10.000.000 g/mol. Η παραγωγή του προέρχεται από την αντίδραση οξειδίων του αιθυλενίου με νερό ή με αιθυλενογλυκόλη ή με ολιγομερή αιθυλενογλυκόλης και οι καταλύτες της αντίδρασης μπορεί να είναι είτε βασικοί είτε όξινοι. Με την ονομασία PEG αναφερόμαστε συνήθως σε πολυμερή μοριακού βάρους μικρότερου από 20.000 g/mol, ενώ μεγαλύτερου μοριακού βάρους αποκαλούνται οξείδια του πολυαιθυλενίου (polyethylene oxide, PEO). Επίσης μπορεί να το συναντήσει κανείς με την ονομασία πολυοξυαιθylene (polyoxyethylene, POE), ανεξαρτήτως του μοριακού του βάρους.



Εικόνα 3.2.1: Χημική δομή πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG)

Για μικρά μοριακά βάρη από 100 έως 700 το PEG είναι παχύρευστο άχρωμο υγρό σε θερμοκρασία δωματίου, σε μοριακά βάρη από 1000 έως 2000 είναι μαλακά στερεά, ενώ με τιμή μοριακού βάρους πάνω από 2000 παρουσιάζονται ως σκληρά κρυσταλλικά στερεά με θερμοκρασία τήξης περίπου 63°C. **(43)** Καθώς αυξάνεται το μοριακό βάρος, αυξάνεται και το ιξώδες. Η διαλυτότητά του στο νερό μπορεί να χαρακτηριστεί γενικά ικανοποιητική, αλλά ελαττώνεται με την αύξηση του μοριακού βάρους του πολυμερούς. Χαρακτηριστικό πλεονέκτημα του πολυμερούς, όσον αφορά τη χρήση του στην παρασκευή στερεών διασπορών, αποτελεί το γεγονός ότι παρουσιάζει καλή διαλυτότητα και σε οργανικούς διαλύτες, όπως η τολουόλη, η μεθανόλη, η αιθανόλη, το ακετονιτρίλιο, το βενζόλιο και το διχλωρομεθάνιο, ενώ είναι αδιάλυτο σε διαιθυλαιθέρα και εξάνιο. Η διαλυτότητα αυτή, τόσο στο νερό όσο και σε μερικές άλλες πολικές ενώσεις, οφείλεται στο γεγονός ότι έχει παρόμοια μοριακή δομή με το νερό και μπορεί να συμμετέχει σε ισχυρό δεσμό υδρογόνου (strong hydrogen bonding) με το οξυγόνο σε αιθέρους και υδρογόνα στο νερό.

Γενικά συναντάται ως γραμμικό αλλά και ως διακλαδισμένο πολυμερές, ενώ παρά τη φαινομενική του απλότητα έχει κάποια ιδιαίτερα χαρακτηριστικά που το καθιστούν κατάλληλο για διάφορες βιοτεχνολογικές και βιοϊατρικές εφαρμογές. **(44)** Αυτό συμβαίνει κυρίως λόγω της ασυνήθιστης αποτελεσματικότητας του να απομακρύνει άλλα μόρια υπό την παρουσία του σε υδατικά διαλύματα. Αυτό μπορεί να μεταφραστεί σε αποκλεισμό πρωτεϊνών, δημιουργία διφασικών συστημάτων με άλλα πολυμερή, ανοσογονικότητα και μηδενική αντιγονικότητα, καθώς επίσης δεν βλάπτει τις ενεργές πρωτεΐνες ή τα κύτταρα ακόμη και όταν αλληλεπιδρά με αυτά άμεσα. **(45)** Επιπλέον είναι μη τοξική και αναγνωρισμένη από τον αμερικάνικο οργανισμό τροφίμων και φαρμάκων (US FDA) για χρήση σε στοματικές, τοπικές και ενδοφλέβιες συνθέσεις. **(43)** Από τα παραπάνω καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η πολυαιθυλενογλυκόλη αποτελεί ένα άριστο βιοσυμβατό υλικό, ικανό να αντιμετωπίσει ανεπιθύμητες αλληλεπιδράσεις ξένων υλικών που εισάγονται στο

σώμα με το ανοσοποιητικό σύστημα (π.χ. λευκοκύτταρα, φαγοκύτταρα) και βιομόρια όπως λιπίδια, πρωτεΐνες, λίπη και ένζυμα.

3.2.1 Πολυμερικές Μεμβράνης Χιτοζάνης-Πολυαιθυλενογλυκόλης

Η χιτοζάνη έχει αρκετά σημαντικά πλεονεκτήματα, συμπεριλαμβανομένης της βιοσυμβατότητας, της βιοδιασπασιμότητας, της τοξικότητας, των καλών χαρακτηριστικών σχηματισμού φιλμ και τις εξαιρετικές ιδιότητες χημικής αντίστασης. Μπορεί να σχηματίσει φυσικά συνδεδεμένες υδρογέλες μέσω δεσμών υδρογόνου ή υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις, αποτελούμενες αυτούσιες από μόρια χιτοζάνης. Αντίστοιχα δημιουργεί σύνθετες υδρογέλες αντιδρώντας με αρνητικά φορτισμένους πολυσακχαρίτες (πχ. άλας αλγινικού οξέος) ή πρωτεΐνες (πχ. ζελατίνη). Έτσι η χιτοζάνη έχει μελετηθεί ευρέως για χρήση σε κλινικές, συστήματα χορήγησης φαρμάκων, στερεούς πολυηλεκτρολύτες και μεμβράνες για υπερδιήθηση, αντίστροφη όσμωση και εξάτμιση.

Ωστόσο, εξαιτίας της διαλυτότητας της μόνο σε υδατικό μέσο παρουσίας ποσότητας οξέος, οι μηχανικές και άλλες φυσικοχημικές της ιδιότητες δεν είναι αρκετά καλές προκειμένου να καλύψουν αυτό το ευρύ φάσμα εφαρμογών. Η ενσωμάτωση με άλλα φυσικά ή συνθετικά πολυμερή είναι μια αποτελεσματική προσέγγιση για τη βελτίωση των ιδιοτήτων της μέσω των αμινομάδων και υδροξυλομάδων που διαθέτει, συμπεριλαμβανομένης της εισαγωγής διασταυρωμένης σύνδεσης με τη μεμβράνη (cross-linking structure) και ανάπτυξης οργανικής-ανόργανης υβριδικής μεμβράνης. Υπάρχει εντούτοις πάντα ο κίνδυνος απώλειας των εγγενών ιδιοτήτων της χιτοζάνης, σε περίπτωση χημικής τροποποίησης της δομής της. Πέραν αυτού, υπολείμματα του εκάστοτε χημικού διασυνδέτη, είναι ικανά να μολύνουν το ικρίωμα καθιστώντας το τοξικό προς τα κύτταρα του οργανισμού, υποβαθμίζοντας τη λειτουργικότητά του.

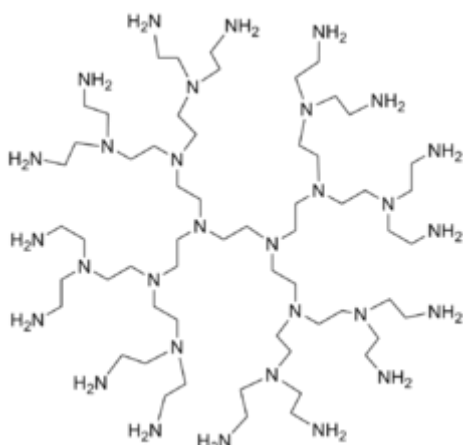
Μεταξύ όλων των εναλλακτικών λύσεων η πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG) παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω των χρήσιμων ιδιοτήτων της όπως χαμηλή τοξικότητα, ανοσογονικότητα, βιοσυμβατές και βιοδιασπώμενες επιδόσεις. Πολλές έρευνες έδειξαν ότι ο συνδυασμός των δύο πολυμερών έχει ευεργετικές επιδράσεις στα βιολογικά χαρακτηριστικά των σύνθετων μεμβρανών. Οι Alexeen et al. μετά από δοκιμές παρατήρησαν βελτίωση στις μηχανικές ιδιότητες της χιτοζάνης κατά την ανάμειξή της με PEG. (46) Οι Zhang et al. Εντόπισαν ότι τα φιλμ χιτοζάνης-PEG

είχαν βελτιωμένη απορρόφηση πρωτεΐνης και κυταρρική ανάπτυξη. (47) Οι Kohle και Kannan κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ανάμειξη με PEG είναι πιο αποτελεσματικός τρόπος βελτίωσης της ολκιμότητας της χιτοζάνης από το συμπολιμερισμό μαζί της. (48)

3.3 Υπερδιακλαδισμένη Πολυαιθυλενιμίνη (HBPEI)

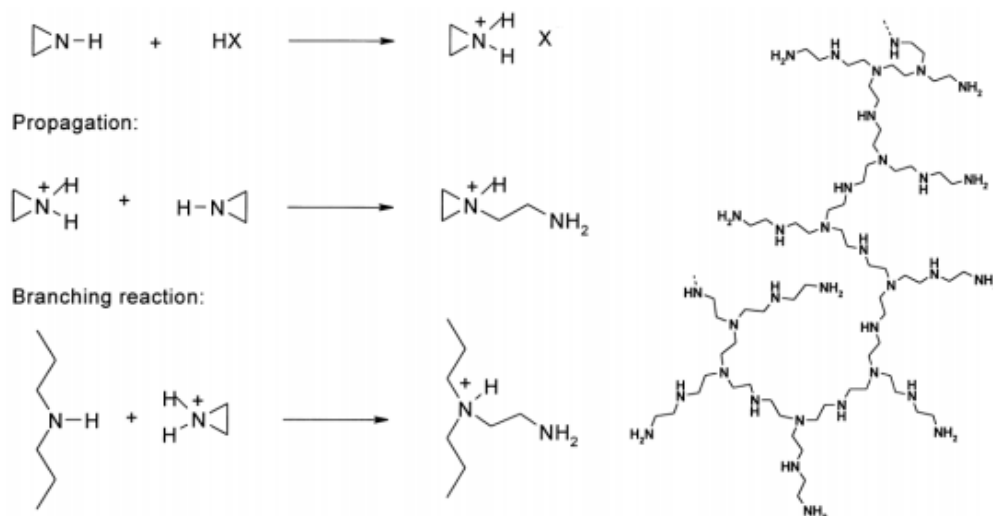
Τα δενδριτικά πολυμερή (δενδριμερή και υπερδιακλαδισμένα πολυμερή) είναι μακρομόρια μεγέθους νανοδιαστάσεων και υψηλού βαθμού διακλαδώσεως με μεγάλο αριθμό ενεργών ομάδων. Χρησιμοποιούνται ως διασυνδετικά μόρια κατά τη διάρκεια της τεχνικής sol-gel με σκοπό να συνδεθούν με τα ολιγομερή σιλοξάνια (μορφής νανοσωματιδίων) που παράγονται. Αυτό έχει ως συνέπεια τη δημιουργία λεπτών και ταυτόχρονα πυκνών επικαλύψεων, με αποτέλεσμα την αύξηση της αντίστασης της επικάλυψης προς την διάβρωση. Τα υπερδιακλαδισμένα πολυμερή, σε αντίθεση με τα δενδριμερή, παρουσιάζουν πολυδιασπορά και δεν είναι τέλεια διακλαδιζόμενα. Υπό αυτήν την έννοια η δομή τους μπορεί να συγκριθεί με αυτή ενός δένδρου το οποίο περιέχει μεγάλα και μικρότερα κλαδιά. Σε αντίθεση με τα δενδριμερή, τα υπερδιακλαδισμένα πολυμερή μπορούν να παρασκευαστούν εύκολα με μια πορεία ενός σταδίου. Οι περισσότερες εφαρμογές των υπερδιακλαδισμένων πολυμερών βασίζονται στις κοιλότητες στο εσωτερικό τους, στο σφαιρικό σχήμα, στηφύση και στον μεγάλο αριθμό λειτουργικών ομάδων που έχει το κάθε μόριο στην περιφέρεια. (49) Αμφότερα τα πολυμερή συνίστανται από τρία διακριτά τμήματα, δηλαδή από τον κεντρικό πυρήνα, τις επαναλαμβανόμενες μονάδες που συνιστούν τους κλάδους της δενδριτικής δομής και τις επιφανειακές λειτουργικές ομάδες. Η αρχιτεκτονική αυτή δίνει την δυνατότητα σχεδιασμού και ανάπτυξης δενδριτικών πολυμερικών συστημάτων ώστε να επιδεικνύουν συγκεκριμένη συμπεριφορά και λειτουργικότητα, ικανή να τα ξεχωρίσει από τα λοιπά είδη πολυμερών.

Η υπερδιακλαδισμένη πολυαιθυλενιμίνη (HBPEI) αποτελεί ένα τυπικό παράδειγμα μιας γενικότερης κατηγορίας δενδριτικών πολυμερών και έναν τύπο υδατοδιαλυτής πολυαμίνης. Πιο συγκεκριμένα πρόκειται για την υψηλής ενεργότητας αλειφατική πολυαμίνη που έχει πολλές λειτουργικές ομάδες στην περιφέρεια μιας, κατά προσέγγιση, σφαιροειδούς δομής. Παρουσιάζει βαθμό διακλαδώσεων μεταξύ 65-75% και μια σχετικώς στενή πολυδιασπορά. Είναι ένα διαφανές, άχρωμο, ημίρρευστο (viscous) υγρό με χαμηλό εγγενές ιξώδες σε διάλυμα.



Εικόνα 3.3.1: Χημική δομή υπερδιακλαδισμένης πολυαιθυλενιμίνης (HBPEI)

Η διακλαδιζόμενη πολυαιθυλενιμίνη (PEI) λαμβάνεται από τον κατιονικό πολυμερισμό της αζιριδίνης είτε σε υδατικό ή και αλκοολικό διάλυμα παρουσία θερμοκρασίας είτε σε στερεή μορφή και σε χαμηλή θερμοκρασία, ακολουθώντας την πορεία αντιδράσεων που απεικονίζονται στην εικόνα. (50)



Εικόνα 3.3.2: Πορεία αντιδράσεων για το σχηματισμό της στερεής πολυαιθυλενιμίνης (PEI)

Η διακλαδισμένη πολυαιθυλενιμίνη εξαιτίας των πρωτοταγών, δευτεροταγών και τριτοταγών αμίνων της έχει καλύτερη ικανότητα συμπλοκοποίησης έναντι των γραμμικών πολυμερών, που έχουν μόνο πρωτοταγείς και δευτεροταγείς αμίνες. (51) Εξαιτίας του μεγάλου αριθμού δραστικών ομάδων στις άκρες του μορίου (end groups), ένα σε κάθε άκρη μιας διακλάδωσης, τα υλικά αυτά παρουσιάζονται

εξαιρετικά λειτουργικά. Τα υλικά αυτά είναι διαλυτά σε ένα μεγάλο αριθμό οργανικών διαλυτών. Ο υψηλός βαθμός διακλαδώσεων εμποδίζει την κρυστάλλωσή τους και επιπρόσθετα το μικρό μήκος των διακλαδώσεων καθιστά σχεδόν αδύνατη την σύμπλεξη των μακρομορίων μεταξύ τους με αποτέλεσμα τη δυνατότητα ανάπτυξης υλικών χαμηλού σημείου υαλώδους μετάπτωσης και αντίστοιχων διαλυμάτων χαμηλού ιξώδους. Είναι δυνατόν να εγκλεισθούν στο εσωτερικό τους ενώσεις συγκεκριμένης χημικής δομής, όπως μικρού μοριακού βάρους μόρια ή ιόντα με αποτέλεσμα να μπορούν να δράσουν ως φορείς ενώσεων, κυρίως μη υδατοδιαλυτών, κατ' αντιστοιχία με τις κυκλοδεξτρίνες. Επιπλέον, οι επιφανειακές ομάδες μπορεί να τροποποιηθούν κατάλληλα ώστε να αποτελέσουν τη μήτρα (template) για επιλεκτική αλληλεπίδραση με μόρια ή ιόντα του άμεσου περιβάλλοντός τους. Αυτές οι ιδιότητες είναι χρήσιμες σε μια σειρά βιομηχανικών εφαρμογών όπως επί παραδείγματι στη βιομηχανία χάρτου για την κροκίδωση αρνητικά φορτισμένων ινών ή ως προσθετικό στην παραγωγή χαρτιού εκτυπωτών. Οι χημικές της ιδιότητες την καθιστούν χρήσιμη για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων και την αφαίρεση μεταλλικών ιόντων από εκεί. (50)

3.4 Γενταμικίνη (Gentamicin)

Οι βακτηριακές ασθένειες είναι οι πιο διαδεδομένες και σοβαρές λοιμώξεις στον άνθρωπο. Οι πιο συνηθισμένοι τρόποι χορήγησης αρκετών φαρμάκων είναι η στοματική και η τοπική στο δέρμα. Τέτοιου είδους θεραπείες όμως μπορεί να αποδειχτούν τοξικές για ζωντανούς οργανισμούς επειδή το αντιβιοτικό σκοτώνει ακόμα και μη παθογόνα βακτήρια στο ανθρώπινο σώμα. Εναλλακτική λύση αποτελεί η απελευθέρωση του αντιβιοτικού από βιοϋλικά που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εμφυτεύματα. Αυτό μπορεί να χρησιμεύσει για την προστασία του σώματος κατά τη διαδικασία ανάπλασης διότι, σε αυτή την περίπτωση, το φάρμακο βρίσκεται στη θέση της βλάβης και δεν επηρεάζει ολόκληρο τον οργανισμό. Ωστόσο, πριν από την εισαγωγή βιοϋλικών που περιέχουν φάρμακα, πρέπει να γίνουν πολλές δοκιμές για να εκτιμηθεί η απελευθέρωση του φαρμάκου από το φορέα.

Το ελεγχόμενο σύστημα χορήγησης φαρμάκων είναι ένα από τα μεγάλα επιτεύγματα της σύγχρονης επιστήμης. Σε σύγκριση με τις συμβατικές μορφές δοσολογίας, προσφέρει πολλά πλεονεκτήματα όπως μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα και μειωμένη τοξικότητα. Αυτά τα οφέλη μπορούν να μεταφραστούν στην ενίσχυση

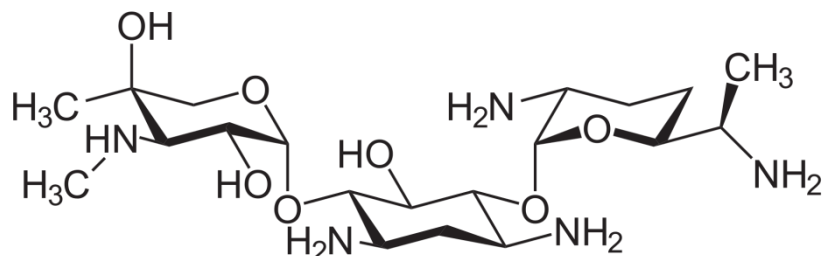
της θεραπευτικής δραστηριότητας ή στη μείωση της ποσότητας φαρμάκων που απαιτούνται κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Η ελεγχόμενη αποδέσμευση είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για φάρμακα που μεταβολίζονται γρήγορα και αποκλείονται από το ανθρώπινο σώμα μετά τη χορήγηση. Ο έλεγχος της κατανομής είναι επίσης χρήσιμος για φάρμακα που δεν μπορούν να περάσουν από τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Παραδίδονται απευθείας στον τόπο όπου απαιτείται θεραπεία, γεγονός που οδηγεί σε πιο αποτελεσματική θεραπεία. Ένα σύστημα χορήγησης αντιβιοτικών είναι επίσης πολύ σημαντικό κατά τη διάρκεια της εμφύτευσης οστού, επειδή η κυκλοφορία του αίματος διαταράσσεται στον οστικό ιστό και είναι απαραίτητο να παρέχεται μεγάλος όγκος αντιβιοτικών κατά τη διάρκεια της ιατρικής θεραπείας. **(52)** Η ελεγχόμενη χορήγηση φαρμάκων συνιστάται ιδιαίτερα στη μηχανική και την αναγέννηση ιστών.

Η γενταμικίνη είναι ένα φάρμακο που πληροί τις απαιτήσεις όλων των προαναφερθέντων εφαρμογών ελεγχόμενης παράδοσης. Αποτελεί ένα μόριο αμινογλυκοσίδης ευρέου φάσματος και είναι αποτελεσματικό έναντι των περισσότερων κατά Gram-θετικών και κατά Gram-αρνητικών βακτηρίων. Παράγεται από το βακτήριο *Micromonospora purpurea*, ενώ κατοχυρώθηκε με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας το 1962 και εγκρίθηκε για ιατρική χρήση το 1964. Διατίθεται ως γενόσημο και η χρήση του χαρακτηρίζεται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (Π.Ο.Υ.) ως εξαιρετικά σημαντική για την ιατρική.

Η γενταμικίνη χορηγείται για τη θεραπεία διαφόρων τύπων βακτηριακών λοιμώξεων όπως ορθοπαιδικών, του αναπνευστικού συστήματος, του ουροποιητικού συστήματος, λοιμώξεων του αίματος και μαλακών ιστών. Χρησιμοποιείται κλινικά σε μορφή κρέμας για τη θεραπεία μολυσμένων δερματικών κύστεων, ελκών, εγκαυμάτων, μολυσμένων νυγμών εντόμων, μολυσμένων τραυμάτων και πληγών. Η βακτηριακή αντίσταση στη γενταμικίνη είναι χαμηλότερη σε σχέση με άλλες αμινογλυκοσίδες. **(53)**

Η λειτουργία της έγκειται στη διαταραχή της ικανότητας των βακτηρίων να παράξουν πρωτεΐνες, το οποίο συνήθως σκοτώνει τα βακτήρια. Ειδικότερα, η γενταμικίνη δρα δεσμεύοντας αμετάκλητα συγκεκριμένες ριβοσωμικές πρωτεΐνες που οδηγούν στη δημιουργία μη λειτουργικών συμπλεγμάτων, προκαλώντας εσφαλμένη ανάγνωση του mRNA. Η τοξικότητά της σχετίζεται με την ικανότητά της

να συνδέεται ηλεκτροστατικά με αρνητικά φορτισμένες ομάδες φωσφολιπιδίων και μόλις διεισδύσει μέσα στο κύτταρο να παρεμβαίνει στην πρωτεϊνική σύνθεση.



Εικόνα 3.4.1: Χημική δομή γενταμικίνης (Gentamicin)

Οι Yang Liu et al. εστιάζοντας την προσοχή τους στον περιορισμό της εφαρμογής υλικών με βάση τη χιτοζάνη στον τομέα της μηχανικής ιστών, λόγω της υδρόφοβης ιδιότητας και της πιθανότητας βακτηριακής λοίμωξης μετά από χειρουργική επέμβαση, χρησιμοποίησαν χημική μέθοδο διασύνδεσης ώστε να δημιουργήσουν ένα νέο αντιβακτηριακό φιλμ χιτοζάνης που περιέχει γενταμικίνη (CS-GT). Αποτέλεσμα μετά την τροποποίηση του φιλμ ήταν η ταινία CS-GT να έχει καλή υδροφιλία και εξαιρετική βιοσυμβατότητα, ενώ η αισθητή αύξηση των αντιβακτηριακών της ιδιοτήτων οδηγεί σε πιθανή χρήση στη μηχανική ιστών οστών. **(54)**

Οι Stefano Perni et al. θέλοντας να δείξουν ότι τα νανοσωματίδια διοξειδίου του πυριτίου μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φορείς φαρμάκων, παρέχοντας συνεχή απελευθέρωση του αντιβιοτικού, παρασκεύασαν νανοσωματίδια με περιεχόμενη γενταμικίνη, μέσω τεσσάρων διαφορετικών μεθόδων σύνθεσης, με αποτέλεσμα διαφορετικά επίπεδα φόρτωσης και διαφορετική κινητική απελευθέρωσης του αντιβιοτικού. Από τα αποτελέσματα της εργασίας οδηγήθηκαν στο συμπέρασμα ότι ανάλογα με τον τρόπο παρασκευής η απελευθέρωση του φαρμάκου μπορεί να προσαρμοστεί σε διαφορετικές εφαρμογές. Πιο συγκεκριμένα, η πλήρης απελευθέρωση του αντιβιοτικού σε λίγες μέρες φαίνεται κατάλληλη για τη θεραπεία τοπικών λοιμώξεων, ενώ από την άλλη πλευρά η αποδέσμευση γενταμικίνης για πολλές εβδομάδες είναι κατάλληλη για ορθοπεδικές εφαρμογές. **(55)**

Κεφάλαιο 4: Η Μέθοδος της Καταβύθισης

4.1 Υγρές χημικές μέθοδοι: Γενικά στοιχεία

Οι μέθοδοι παρασκευής που προτιμώνται για την παραγωγή νανο-κόνεων είναι οι υγρές χημικές μέθοδοι όπως αυτή της συγκαταβύθισης (co-precipitation) και της διάλυσης – ζελατινοποίησης (SOLution – GELation), οι οποίες δίνουν τα καλύτερα αποτελέσματα από πλευράς ομοιογένειας, σύνθεσης, χημικής καθαρότητας και κοκκομετρίας.

Η βασική αρχή αυτών των μεθόδων είναι ότι χρησιμοποιούν σαν πρόδρομα υλικά, υγρά αντιδραστήρια που περιέχουν τα στοιχεία (μέταλλα και αμέταλλα) από τα οποία αποτελείται η προς σύνθεση κεραμική σκόνη. Κύρια χαρακτηριστικά της σύνθεσης στην υγρή φάση είναι η αυξημένη ομοιογένεια και η δυνατότητα χημικής αντίδρασης των συστατικών μεταξύ τους. Κανένας τρόπος “συμβατικής” ανάμιξης στερεών σωματιδίων δεν μπορεί να πετύχει την ομοιογένεια που επιτυγχάνεται στο υγρό διάλυμα.

Οι δύο αυτές μέθοδοι επιτρέπουν την σύνθεση εξαιρετικά ενεργών προϊόντων υψηλής ειδικής επιφάνειας, την εύκολη και καλά ελεγχόμενη ενσωμάτωση άλλων συστατικών όπως προωθητές ή σταθεροποιητές, την ρύθμιση της δομής των πόρων των προϊόντων, με την μέθοδο διάλυσης – ζελατινοποίησης να παρουσιάζει το επιπλέον πλεονέκτημα της σύνθεσης εξαιρετικά ενεργών καταλυτών ταυτόχρονα με την μορφοποίηση τους, κυρίως μέσω της απόθεσής τους σε πορώδη υποστρώματα με την μορφή ταινιών ή μεμβρανών.

4.2 Μέθοδος της Καταβύθισης: Περιγραφή

Η μέθοδος της καταβύθισης ανήκει στην κατηγορία των υγρών χημικών μεθόδων και θεωρείται ένας από τους συνηθέστερους τρόπους εργαστηριακής παρασκευής καταλυτών σε μορφή σκόνης. Η σύνθεση υλικών μέσω της μεθόδου αυτής περιλαμβάνει την διάλυση πρόδρομων οργανομεταλλικών αντιδραστηρίων σε οργανικούς διαλύτες (αλκοόλη) ή ανόργανων ενώσεων (συνήθως αλάτων) σε απιονισμένο νερό. Κατά την τεχνική αυτή, ένα ή περισσότερα υδατοδιαλυτά άλατα μπορούν να αντιδράσουν μεταξύ τους προς σχηματισμό τουλάχιστον ενός υδατο-αδιάλυτου άλατος το οποίο και καταβυθίζεται.

Το προϊόν διαλυτότητας της καταβυθισμένης ένωσης είναι η πιο σημαντική παράμετρος για μια τέτοια αντίδραση καθίζησης. Σε αυτήν την τεχνική, πρώτο το προϊόν θα σχηματιστεί στην υγρή φάση αμέσως μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης. Όταν η συγκέντρωση του προϊόντος ξεπεράσει την τιμή του προϊόντος διαλυτότητας αυτής της ένωσης στα μέσα αντίδρασης, θα ξεκινήσει ο σχηματισμός των σωματιδίων.

Ο μηχανισμός σχηματισμού νανοσωματιδίων μέσω καθίζησης είναι ένας συνδυασμός τριών ξεχωριστών σταδίων το ένα μετά το άλλο: (i) πυρήνωση (nucleation), (ii) ανάπτυξη (growth) και (iii) συσσωμάτωση (agglomeration). Ωστόσο, υπάρχουν διάφοροι τύποι αντιδράσεων, όπως οξέως-βάσης και οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις. Σε αυτή τη διαδικασία, η αντίδραση λαμβάνει χώρα στην υγρή φάση αλλά τα σωματίδια που σχηματίζονται βρίσκονται σε στερεή κατάσταση. Για το λόγο αυτό είναι γνωστή ως κρυστάλλωση και εξαρτάται επίσης από διάφορους όρους ενέργειας. Το πρώτο στάδιο, η αντίδραση στην υγρή φάση, σχετίζεται με την ενέργεια ενεργοποίησης της αντίδρασης. Ο ρυθμός αντίδρασης είναι ταχύτερος με χαμηλότερη ενέργεια ενεργοποίησης από ότι για υψηλότερη ενέργεια ενεργοποίησης.

Μετά την ολοκλήρωση αυτής της αντίδρασης σχηματίζονται «έμβρυα», αποτελούμενα από λίγα άτομα, στην υγρή φάση. Όταν το μέγεθος των εμβρύων ξεπεράσει μια κρίσιμη ακτίνα (του πυρήνα), τότε περνάμε στο σχηματισμό των στερεών σωματιδίων. Με τον σχηματισμό των σωματιδίων αυτών σχηματίζεται μία νέα διεπιφάνεια στερεού-υγρού με ενέργεια ειδικής επιφάνειας ανάλογη του τετραγώνου της ακτίνας τους.

Κανονικά η πυρήνωση είναι το ταχύτερο στάδιο, εάν το προϊόν διαλυτότητας του σωματιδιακού υλικού είναι πολύ χαμηλό. Σε αυτή την περίπτωση ο ρυθμός ανάπτυξης θα ελέγχεται από το συνολικό ρυθμό της αντίδρασης. Κατά το στάδιο της ανάπτυξης, τα έμβρυα σχηματίζονται αφού η αντίδραση διαχέεται στην επιφάνεια των πυρήνων από τον κύριο όγκο. Τελικά ο ρυθμός ανάπτυξης εξαρτάται είτε από τον ρυθμό αντίδρασης είτε από τη διάχυση των μορίων από τον κύριο όγκο στην επιφάνεια των πυρήνων και συνήθως είναι αργός. Στο τελευταίο στάδιο, αυτό της

συσσωμάτωσης, μικρού μεγέθους σωματίδια μετατρέπονται σε μεγαλύτερα ως αποτέλεσμα της ωρίμανσης του Oswald με μείωση της ειδικής επιφάνειας στερεού-υγρού προς μείωση της συνολικής ενέργειας του συστήματος. **(10)**

Οι περισσότερες βιβλιογραφικές αναφορές για παραγωγή πυριτίας αναφέρουν ως τεχνική σύνθεσης αυτή της λύματος-πηκτής (sol-gel). Στην παρούσα διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκε μία βιομιμητική σύνθεση μέσω καταβύθισης **(56)**, με σκοπό την απλούστευση της όλης διαδικασίας αλλά και τη χρήση όσο το δυνατόν λιγότερων τοξικών μέσων για την παραγωγή του τελικού υλικού.

Κεφάλαιο 5^ο: Αντιδραστήρια και Όργανα

5.1 Αντιδραστήρια

Δισόξινο φωσφορικό νάτριο (NaH_2PO_4 , sodium phosphate monobasic)

Δισένυδρο όξινο φωσφορικό νάτριο ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$, sodium phosphate dibasic dihydrate)

Υπερδιακλαδισμένη Πολυαιθυλενιμίνη ($\text{H}(\text{NHCH}_2)_n\text{NH}_2$, polyethylenimine or PEI)

Τετρα-αιθυλο-πυριτικό ($\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$, tetraethyl orthosilicate 98% or TEOS)

Πολυαιθυλενογλυκόλη ($\text{H}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$, polyethylene glycol or PEG)

Γενταμυκίνη ($\text{C}_{21}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_7$, gentamicin or GM)

Διάλυμα χιτοζάνης/οξικού οξέος (Chitosan/Acetic acid)

Καυστικό νάτριο (NaOH)

5.2 Όργανα

Ζυγός ακριβείας

Μαγνητικός αναδευτήρας

Συσκευή φυγοκέντρωσης

Λυοφιλοποιητής (Freeze Dryer)

Φούρνος κενού

Ξηραντήρας

Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Διερχόμενης Δέσμης Ηλεκτρονίων (TEM)

Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (SEM)

Φασματοσκοπία Υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FTIR)

Υπεριώδης και Ορατή Φασματομετρία (UV – Vis)

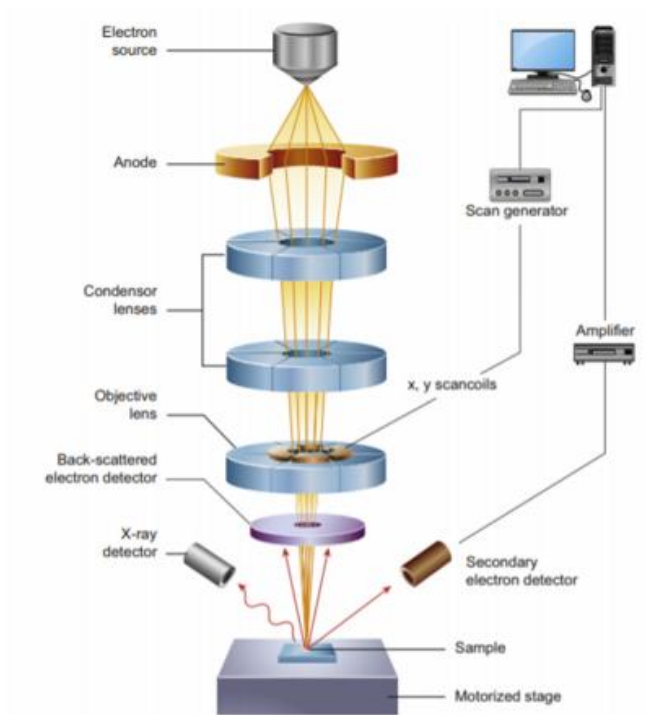
5.2.1 Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM)

Το SEM χρησιμοποιείται για την παρατήρηση και για την καταγραφή και ερμηνεία ορισμένων σημάτων, που εκπέμπονται κατά τη διάρκεια της αλληλεπίδρασης της δέσμης ηλεκτρονίων με το δείγμα. Η λειτουργία του SEM στηρίζεται στην αλληλεπίδραση του προς εξέταση δείγματος και της προσπίπτουσας δέσμης ηλεκτρονίων σε αυτό (57).

Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης αποτελείται κυρίως από το σύστημα παραγωγής δέσμης ηλεκτρονίων (Electron Source "Gun"), το σύστημα κατεύθυνσης της δέσμης (Electron Lenses), το θάλαμο, που τοποθετείται το δείγμα (Sample Stage), την αντλία κενού (Vacuum System) και το σύστημα ανιχνευτών και παρουσίασης (Detectors for all signals of interest Display /Data output devices).

Τα ηλεκτρόνια παράγονται από ένα σύρμα βολφραμίου (κάθοδος) και επιταχύνονται προς την άνοδο, στην οποία εφαρμόζεται ένα δυναμικό 1-30 KV. Η άνοδος δημιουργεί ισχυρές ελκτικές δυνάμεις στα ηλεκτρόνια, με αποτέλεσμα να τα επιταχύνει και να τα κατευθύνει. Η παραγόμενη δέσμη ηλεκτρονίων έχει τυπικά ενέργεια από μερικές εκατοντάδες eV μέχρι περίπου 50KeV και εστιάζεται από ένα σύστημα φακών εστίασης, οι οποίοι είναι συνδεδεμένοι με κατάλληλα διαφράγματα. Αμέσως μετά, αυτή η εστιασμένη δέσμη περνά μέσα από ζεύγη πηνίων σάρωσης, τα οποία την εκτρέπουν οριζόντια και κάθετα έτσι ώστε να σαρώνουν μια τετραγωνική περιοχή της επιφάνειας του δείγματος. Τα πηνία αυτά είναι τοποθετημένα σε δύο ζεύγη γύρω από τη δέσμη, με το ένα ζεύγος να ελέγχει την κίνηση της δέσμης στην κατεύθυνση X και το άλλο την κίνησή της στην κατεύθυνση Y. Ένα χρονικά μεταβαλλόμενο ρεύμα καθορίζει το μαγνητικό πεδίο και άρα την εκτροπή της δέσμης ώστε αυτή να στέλνεται στο σωστό σημείο. Τα ίδια τα πηνία ελέγχονται με την γεννήτρια σάρωσης, η οποία με τη σειρά της συνδέεται με τον έλεγχο μεγέθυνσης και την οθόνη. Η δέσμη των ηλεκτρονίων προσπίπτει στο δείγμα και το είδος της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας από την επιφάνεια του δείγματος εξαρτάται από την αλληλεπίδραση των πρωτογενών ηλεκτρονίων και των ατόμων του υλικού, και μπορεί να είναι (57):

- Δευτερογενή ηλεκτρόνια
- Οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια
- Ηλεκτρόνια Auger
- Ακτίνες-X



Εικόνα 5.2.1.1: Σχηματικό διάγραμμα των βασικών τμημάτων ενός μικροσκοπίου SEM. (61)

Τα σήματα των δευτερογενών και των οπισθοσκεδαζόμενων ηλεκτρονίων, κυρίως, ενισχύονται και δημιουργούν ένα οπτικό σήμα. Έτσι, είναι δυνατή η μεγενθυμένη απεικόνιση, σε μια οθόνη, της επιφάνειας του δείγματος, που σαρώνει η δέσμη των ηλεκτρονίων (57).

Τα δευτερογενή ηλεκτρόνια (secondary electrons, SE) παράγονται κυρίως από ελεύθερα ηλεκτρόνια ή και ηλεκτρόνια σθένους στο δείγμα. Αυτά παράγονται κατά μήκος της τροχιάς των πρωτευόντων ηλεκτρονίων μέσα στο δείγμα σε βάθος 1-10 nm. Έχουν ενέργεια 50 eV και η ένταση του σήματος εξαρτάται από τον κρυσταλλογραφικό προσανατολισμό και τις ανωμαλίες της επιφάνειας. Οι πληροφορίες που συλλέγονται αφορούν την τοπογραφία της εξεταζόμενης επιφάνειας του δοκιμίου. (58),(59),(60)

Τα οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια (Backscattered Electrons, BE) είναι ένα μέρος των εγχυμένων πρωτογενών ηλεκτρονίων στο δείγμα από τον ανιχνευτή που αλλάζουν την κατεύθυνση τους με ελαστική ή ανελαστική σκέδαση και απελευθερώνονται από την επιφάνεια στο κενό. Η ενέργεια τους είναι ίση (ελαστική σκέδαση) σε ή λιγότερο (ανελαστική σκέδαση) από αυτή των πρωτεύοντων ηλεκτρονίων και κυμαίνεται από 5 έως 50KeV. Η ένταση του παραγόμενου σήματος εξαρτάται από τον κρυσταλλογραφικό προσανατολισμό και από τον ατομικό αριθμό των στοιχείων. Οι πληροφορίες που συλλέγονται μέσω των οπισθοσκεδαζόμενων ηλεκτρονίων αφορούν τη χημική σύσταση, τον κρυσταλλογραφικό προσανατολισμό και την τοπογραφία της αναλυόμενης επιφάνειας. (οι φωτεινές περιοχές αντιστοιχούν σε βαριά στοιχεία, ενώ οι πιο σκουρόχρωμες σε ελαφριά) **(58),(59),(60)**

Τα ηλεκτρόνια Auger (Auger Electrons, AE): Προέρχονται από την αλληλεπίδραση των πρωτογενών ηλεκτρονίων και των υποστοιβάδων των επιφανειακών ατόμων, σε βάθος έως και 1nm. Το φάσμα, που προκύπτει είναι κατάλληλο για στοιχειακές χημικές αναλύσεις της επιφάνειας του υλικού **(57)**.

Οι χαρακτηριστικές ακτίνες X (X-rays), παράγονται από τις ανελαστικές συγκρούσεις των προσπιπτόντων ηλεκτρονίων με τα ηλεκτρόνια των ατόμων του δείγματος. Όταν φεύγει ένα ηλεκτρόνιο από εσωτερική στοιβάδα, τότε ένα ηλεκτρόνιο από υψηλότερη ενεργειακή στοιβάδα καλύπτει το κενό πέφτοντας στην χαμηλότερη στοιβάδα και εκπέμποντας την διαφορά ενεργείας σαν ακτίνες X. Η ενέργεια αυτών των ακτινών είναι χαρακτηριστική της μετάπτωσης και κατά συνέπεια του ατόμου **(57)**.

Με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης υπάρχει και η δυνατότητα χημικής στοιχειακής ανάλυσης (EDS). Η ανάλυση EDS είναι η διαδικασία που πραγματοποιείται για να προσδιοριστεί η χημική σύνθεση μιας μεγάλης ή μιας μικρή περιοχής του δείγματος **(57)**. Η αρχή λειτουργίας της μεθόδου βασίζεται στο φαινόμενο εκπομπής ακτινοβολίας X από τις επιφανειακές στοιβάδες των ατόμων του υλικού κατά την αλληλεπίδραση αυτού με τη δέσμη ηλεκτρονίων. Οι εκπεμπόμενες ακτίνες X εισέρχονται σε φασματογράφο διασποράς ενέργειας και συλλέγονται από έναν ηλεκτρονικό ανιχνευτή, ο οποίος διεγείρεται ανάλογα με την ενέργεια της ακτινοβολίας, παράγοντας κάποιο χαρακτηριστικό ρεύμα. Με κατάλληλη διάταξη το ρεύμα αυτό ενισχύεται και καταγράφεται. Στη συνέχεια, από ανάλογη επεξεργασία

των δεδομένων λαμβάνεται το φάσμα των παλμών, συναρτήσει της ενέργειας της ακτινοβολίας (σε keV) (62).

Στο εργαστήριο, το μικροσκόπιο που χρησιμοποιήθηκε για τη μελέτη των επιστρώσεων στα μεταλλικά δοκίμια ήταν τύπου JEOL JSM6380LV (JEOL, USA).

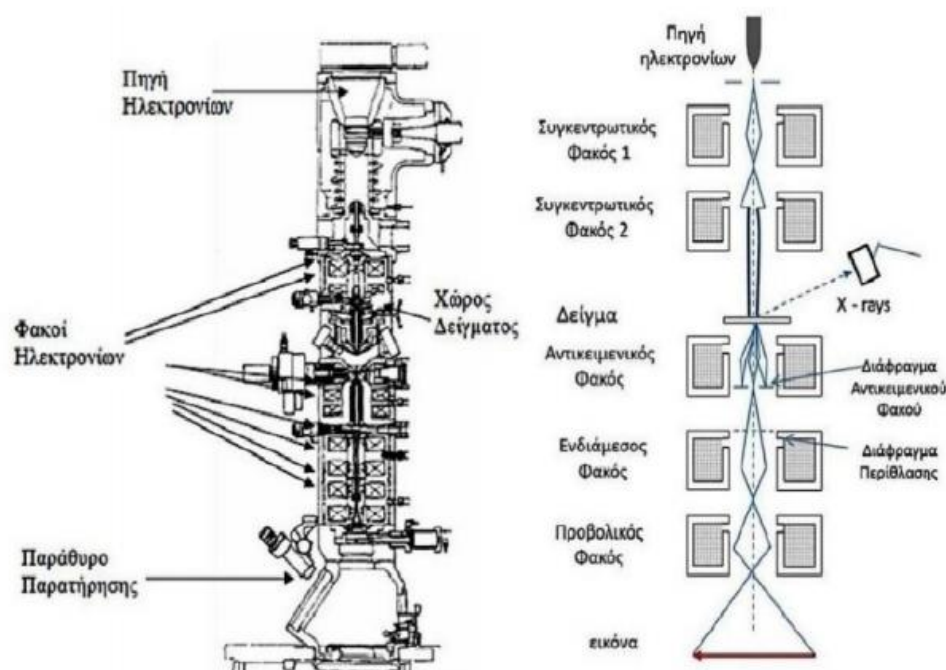


Εικόνα 5.2.1.2: Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης JEOL JSM6380LV. (63)

5.2.2 Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Διερχόμενης Δέσμης Ηλεκτρονίων (Transmission Electron Microscopy, TEM)

Η Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Διερχόμενης Δέσμης Ηλεκτρονίων (Transmission Electron Microscopy – TEM) χρησιμοποιείται για χαρακτηρισμό δειγμάτων τα οποία είναι αρκετά λεπτά έτσι ώστε να είναι διαπερατά από μια δέσμη ηλεκτρονίων. Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο είναι παρόμοιο με το κλασικό οπτικό μικροσκόπιο με τη διαφορά ότι το φως αντικαθίσταται από ηλεκτρόνια και οι οπτικοί φακοί από ηλεκτρομαγνητικούς φακούς. Γενικά το μικροσκόπιο έχει δυο τρόπους λειτουργίας – δημιουργία εικόνας ηλεκτρονίων (image mode) και δημιουργία εικόνας περίθλασης του δείγματος (diffraction pattern mode). Τα ηλεκτρόνια που διαπερνούν το δείγμα (transmitted electrons) μπορούν να χρησιμοποιηθούν επίσης για μικροανάλυση στοιχείων καθώς η μείωση της ενέργειάς τους είναι χαρακτηριστική για κάθε στοιχείο. Σε ένα συμβατικό Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Διέλευσης

(Transmission Electron Microscope – TEM), ένα λεπτό δείγμα ακτινοβολείται από μία δέσμη ηλεκτρονίων ομοιόμορφης πυκνότητας ρεύματος. Το δυναμικό επιτάχυνσης σε ένα τυπικό TEM είναι 80 - 200 kV. Μικροσκόπια υψηλότερης διακριτικής ικανότητας λειτουργούν με δυναμικά 200 – 500 kV, ενώ τα μικροσκόπια υψηλής τάσης φτάνουν μέχρι τα 5 MeV. Τα ηλεκτρόνια εκπέμπονται από μία κάθοδο, είτε με θερμιονική εκπομπή, είτε με εκπομπή τύπου Schottky, είτε με εκπομπή πεδίου. Στην συνέχεια, με τη βοήθεια συγκεντρωτικών μαγνητικών φακών, ελέγχεται η περιοχή που φωτίζεται καθώς και η εστίαση της δέσμης. Μετά το δείγμα τα ηλεκτρόνια οδηγούνται με τη βοήθεια συγκεντρωτικών φακών (μαγνητικού τύπου) σε μία φθορίζουσα οθόνη.



Εικόνα 5.2.2.1: Βασικά μέρη και πορεία ηλεκτρονίων στο Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Διερχόμενης Δέσμης (TEM)

Όπως φαίνεται και στην Εικόνα, στο πάνω μέρος της στήλης κενού, υπάρχει η πηγή ηλεκτρονίων, (ηλεκτρονικό πυροβόλο / electron gun) το οποίο είναι, είτε ένα θερμαινόμενο νήμα βολφραμίου (θερμιονική εκπομπή), είτε μία λεπτή μεταλλική ακίδα που παρουσιάζει ισχυρό ηλεκτρικό πεδίο (εκπομπή πεδίου). Για την αποφυγή ασταθειών στην εκπομπή ηλεκτρονίων, η πρώτη βαθμίδα βρίσκεται σε υπερυψηλό κενό (10-10 mbar). Η εκπεμπόμενη δέσμη ηλεκτρονίων επιτυγχάνεται με τη βοήθεια ηλεκτροδίων που βρίσκονται σε υψηλή τάση (kV-MV).

Στη συνέχεια ακολουθούν δύο συγκεντρωτικοί φακοί μαγνητικού τύπου με τη βοήθεια των οποίων εστιάζεται η δέσμη ηλεκτρονίων. Οι μαγνητικοί φακοί είναι ηλεκτρομαγνητικά πηνία τοποθετημένα έτσι ώστε η δέσμη των ηλεκτρονίων να περνά κατά μήκος του άξονά τους. Στην περιοχή των μαγνητικών φακών το κενό είναι της τάξεως του 10^{-7} έως 10^{-4} mbar, με αυτόν τον τρόπο ελαχιστοποιούνται οι συγκρούσεις των ηλεκτρονίων με μόρια του αέρα. Οι συγκεντρωτικοί φακοί προκαλούν εστίαση της δέσμης ηλεκτρονίων σε μία περιοχή ελάχιστων τετραγωνικών μικρομέτρων (μm^2) στο επίπεδο του αντικειμένου. Ο αντικειμενικός φακός, ο οποίος βρίσκεται ακριβώς μετά το δείγμα, σχηματίζει στο εστιακό του επίπεδο την περίθλαση μακρινού πεδίου του δείγματος η οποία αποτελεί τον μετασχηματισμό Fourier (σε αντίστροφο χώρο) των κρυσταλλικών χαρακτηριστικών του δείγματος. Αυτό επιτρέπει την μελέτη της κρυσταλλικής δομής του αντικειμένου. Στη συνέχεια τα ηλεκτρόνια διέρχονται από έναν ενδιάμεσο φακό, με τη βοήθεια του οποίου σχηματίζεται ένα ενδιάμεσο είδωλο, το οποίο αποτελεί μεγεθυμένη απεικόνιση του αντικειμένου. Το ενδιάμεσο αυτό είδωλο, μέσω ενός τελευταίου φακού (προβολικός φακός), προβάλλεται, μετά από μία τελευταία μεγέθυνση, σε φθορίζουσα οθόνη, για παρατήρηση ή φωτογράφιση. (64)

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, χρησιμοποιήθηκε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διελεύσεως JEM-2100-HR της JEOL με τάση επιτάχυνσης ανόδου – καθόδου 200kV. Η εν λόγω συσκευή είναι εξοπλισμένη και με Στοιχειακό Αναλυτή EDS καθώς και με Σαρωτικό Σταθερής Δέσμης Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου Διέλευσης (STEM).

5.2.3 Υπεριώδης και Ορατή Φασματομετρία (Ultraviolet & Visible Spectrometry, UV – Vis)

Η φασματομετρία υπεριώδους – ορατού φωτός στηρίζεται στην απορρόφηση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (100 – 800 nm) από τα μόρια μιας διαλυμένης ουσίας, τα οποία και υφίστανται ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις. Ειδικότερα τα ηλεκτρόνια που βρίσκονται στα μοριακά δεσμικά ή μη δεσμικά τροχιακά χαμηλής ενέργειας (σ , π και η τροχιακά, αντίστοιχα) μεταπηδούν στα αντιδεσμικά τροχιακά υψηλότερης ενέργειας. Στην πράξη οι μετρήσεις περιορίζονται στην περιοχή 800 – 400 nm (ορατό) και 400 - 190 nm (εγγύς υπεριώδες), αφού στην περιοχή 190 - 100

nm (άπω υπεριώδεις) απορροφάει τόσο ο αέρας όσο και το υλικό κατασκευής των κυψελίδων (χαλαζίας). Η συγκέντρωση ενός στοιχείου σε διάλυμά του μπορεί να προσδιορίσει με τη μέτρηση της απορροφητικότητάς του σε συγκεκριμένο μήκος κύματος και εφαρμογή του νόμου του Lambert – Beer.

Στην εργαστηριακή πράξη μετράται η απορρόφηση πρότυπων διαλυμάτων και με μαθηματική επεξεργασία συσχετίζεται η συγκέντρωση με την απορρόφηση και τελικά σχεδιάζεται η καμπύλη αναφοράς (working curve). Έτσι με την μέτρηση της απορρόφησης του αγνώστου διαλύματος προκύπτει η αντίστοιχη συγκέντρωσή του από την καμπύλη αναφοράς. Τέλος, η φασματομετρία υπεριώδους – ορατού φωτός χρησιμοποιείται κυρίως για ποσοτικούς προσδιορισμούς, αφού τα αντίστοιχα φάσματα δίνουν πληροφορίες για ορισμένες μόνο ομάδες ατόμων μέσα στο μόριο και δεν χαρακτηρίζουν το μόριο ως σύνολο.

Όσον αφορά στην οργανολογία της συγκεκριμένης μεθόδου, η χρησιμοποιούμενη πηγή φωτός είναι συνήθως λυχνία υδρογόνου ή δευτερίου για μετρήσεις UV και λαμπτήρας βολφραμίου για μετρήσεις στην περιοχή του ορατού. Για την απομόνωση της ακτινοβολίας σε συγκεκριμένο μήκος κύματος χρησιμοποιείται μονοχρωμάτορας. Τα φασματόμετρα μπορεί να χωριστούν σε απλής (single beam uv-vis spectrometer) και διπλής δέσμης (dual beam uv-vis spectrometer). (65)

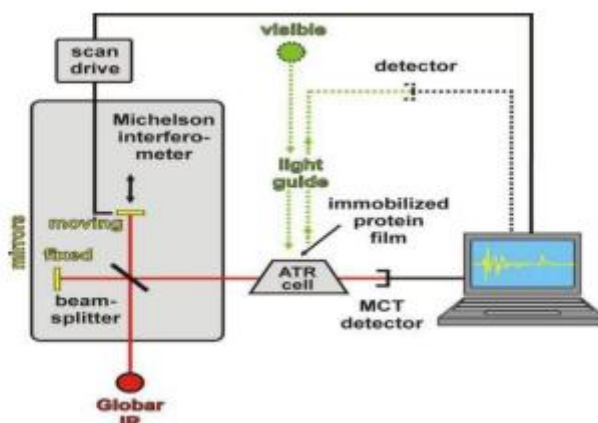
Πιο συγκεκριμένα, με την αύξηση του μεγέθους των νανοσωματιδίων αυξάνεται αναλογικά και το μήκος κύματος απορρόφησης. Κατά τη διάρκεια της διεργασίας το μήκος κύματος αυξάνεται μέχρι ενός ορισμένου σημείου. Πρακτικά αυτό σημαίνει ότι η διεργασία έχει ολοκληρωθεί ποσοτικά σε αυτό το σημείο.

5.2.4 Φασματοσκοπία Υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (Fourier-Transform Infrared Spectroscopy, FTIR)

Η φασματοσκοπία υπερύθρου στηρίζεται στην αλληλεπίδραση της ύλης με το υπέρυθρο φως. Η αλληλεπίδραση αυτή προκαλεί αλλαγές στη διπολική ροπή του υπό μελέτη μορίου δημιουργώντας δονήσεις. Οι δονήσεις αυτές, που εμφανίζονται σε φάσμα υπερύθρου, μπορούν να μας δώσουν την ταυτότητα των χημικών ομάδων που

υπάρχουν στο δείγμα. Συνήθως μετράται η απορρόφηση του φωτός από το δείγμα σε σχέση με συχνότητα η οποία εκφράζεται από το νόμο των Beer-Lambert.

Στην παρακάτω εικόνα απεικονίζονται τα διάφορα εξαρτήματα ενός φασματόμετρου IR μετασχηματισμού Fourier. Η ακτινοβολία από την πηγή προσπίπτει σε ένα διαχωριστή δέσμης που αποτελείται από ένα φιλμ γερμανίου σε υπόστρωμα KBr, διαπερατό στο IR. Λόγω της ημιδιαπερατότητάς του, δημιουργούνται δύο δέσμες, από τις οποίες η μία προσκρούει (ανακλάται) σε ένα σταθερό κάτοπτρο και η άλλη ανακλάται σ' ένα κινητό κάτοπτρο, του οποίου μεταβάλλεται η απόσταση κατά ολίγα mm από τον διαχωριστή δέσμης. Οι δύο αυτές δέσμες ενώνονται κατόπιν, διασχίζουν το δείγμα και προσκρούουν ως σύνολο στον ανιχνευτή.



Εικόνα 5.2.4.1: Σχηματική Αναπαράσταση Φασματόμετρου IR Μετασχηματισμού Fourier

Το σπουδαιότερο εξάρτημα του συμβολόμετρου Michelson είναι το κινητό κάτοπτρο που ταλαντώνεται συναρτήσει του χρόνου, έτσι ώστε μια φορά η εξερχόμενη δέσμη να είναι ίδια με την εισερχόμενη (σε φάση) και μια εκτός φάσης. Το σήμα που εξέρχεται καταγράφεται ως συμβολόγραμμα:

$$I = (\delta)$$

Όπου: I = ένταση σήματος εξόδου του ανιχνευτή

δ = διαφορά φάσης μεταξύ των δύο δεσμίδων.

Το συμβολόγραμμα έχει την εξής μοναδική ιδιότητα, ότι κάθε σημείο του (που είναι συνάρτηση της θέσης του κινούμενου κατόπτρου) δίνει ταυτόχρονα πληροφορίες για όλες τις επιμέρους συχνότητες IR. Το σήμα αυτό μπορεί να μετρηθεί ταχύτατα σεελάχιστα δευτερόλεπτα. Για την αποκωδικοποίηση των συμβολογραμμάτων και μετατροπή τους σε συμβατικά φάσματα IR τα οποία μπορούν να αξιολογηθούν, χρησιμοποιείται ο μαθηματικός μετασχηματισμός Fourier.

Τα φάσματα που λαμβάνονται έχουν πολύ μεγαλύτερη ευκρίνεια απ' ό,τι τα IR φάσματα που λαμβάνονται με τα ηλεκτρονικά φασματόμετρα IR διπλής δέσμης. Για τη μετατροπή της έντασης του εξερχομένου σήματος σε διαπερατότητα, μετριέται πρώτα με το όργανο FTIR το φάσμα του τυφλού και κατόπιν του δείγματος, οπότε υπολογίζεται ο λόγος των δύο σημάτων που αντιστοιχεί στη διαπερατότητα.

$$T = I/I_0 = f(\nu)$$

Όπου: T= διαπερατότητα

I= ένταση σήματος εξόδου του δείγματος

I₀= ένταση του τυφλού

Τέλος, η μέθοδος του οργάνου FTIR πλεονεκτεί έναντι των συμβατικών φασματόμετρων IR στην ταχύτητα, στην ευαισθησία, στην μηχανική απλούστευση και στην εσωτερική βαθμονόμηση. Όλα τα παραπάνω, καθιστούν την FTIR μια πολύ αξιόπιστη και επαναλήψιμη μέθοδο, τόσο για ποσοτική, όσο και για ποιοτική ανάλυση ενώσεων (66). Η ανάλυση των δειγμάτων με υπέρυθρη φασματοσκοπία μετασχηματισμού Fourier πραγματοποιήθηκε με φασματοφωτόμετρο Nicolet 6700, το οποίο ήταν εξοπλισμένο με εξάρτημα ATR κρυστάλλων διαμαντιού (Smart Orbit, Thermo Electron Corporation, Madison, WI).

Κεφάλαιο 6^ο: Πειραματική Διαδικασία

6.1 Σύνθεση των Υλικών

6.1.1 Παρασκευή πυρήνων πυριτίας (SiO₂)

Η σύνθεση των πυρήνων πυριτίας πραγματοποιήθηκε μέσω μίας βιομιμητικής διαδικασίας καταβύθισης, όπως έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία από τους Αρκά και Τσιούρβα (56), σε συνθήκες περιβάλλοντος μέσω της αλληλεπίδρασης υπερδιακλαδισμένης πολυαιθυλενιμίνης με πυριτικό οξύ. Κατά την πειραματική διαδικασία αρχικά παρασκευάστηκε διάλυμα 20 mM υπερδιακλαδισμένης πολυαιθυλενιμίνης (HBPEI) - φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος 100 mM (Buffer φωσφορικών, υδατικό διάλυμα NaH₂PO₄ και Na₂HPO₄ × 2H₂O), το οποίο αφήνεται σε μαγνητική ανάδευση για περίπου 60 min με ταυτόχρονη θέρμανση στους 40°C. Στο παραχθέν διάλυμα προστίθενται με τη χρήση πιπέτας διάλυμα πυριτικού οξέος 1 M (silicic acid), που προήλθε από την υδρόλυση του τετρα-αιθυλο-πυριτικού (TEOS) σε διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 1 mM. Η καταβύθιση των νανοσφαιριδίων πυριτίας πραγματοποιείται ακαριαία, ενώ το αιώρημα αφήνεται προς ανάδευση για 10 min ακόμη για να πραγματοποιηθεί πλήρης ανάμιξη των δύο διαλυμάτων. Ακολουθεί φυγοκέντρωση στις 11.000 rpm και έκπλυση αρκετές φορές με απιονισμένο νερό. Το προκύπτον υλικό υφίσταται ξήρανση με τη μέθοδο της λυοφιλοποίησης (Freeze Drying, εξάχνωση με ταυτόχρονη ψύξη στους -55°C για 3 ώρες) η οποία διαρκεί 24 h, με σκοπό τη μείωση της συσσωμάτωσης του τελικού υλικού (56),(67). Η παραπάνω διαδικασία επαναλήφθηκε δύο φορές προκειμένου να παραχθεί αρκετή ποσότητα νανοσφαιριδίων πυριτίας. Τη δεύτερη φορά τα νανοσφαιρίδια πυριτίας τοποθετήθηκαν μέσα σε κάψες αλούμινας και πυρώθηκαν στους 800°C για 3 ώρες με ρυθμό ανόδου 5°C/min και υπό ροή αέρα.

6.1.2 Παρασκευή διαλύματος πολυμερών και αντιβιοτικού (PEG-GM-CS)

Χρησιμοποιώντας το ζυγό ακριβείας ζυγίζεται ορισμένη ποσότητα PEG και GM και τοποθετούνται ξεχωριστά σε δύο δοχεία ζέσεως. Στη συνέχεια αναμιγνύονται με απιονισμένο νερό και αναδεύονται ξεχωριστά για 30 min μέχρι να ομογενοποιηθούν. Έπειτα με τη χρήση πιπέτας προστίθεται το διάλυμα της

γενταμυκίνης σε αυτό της πολυαιθυλενογλυκόλης και συνεχίζεται η ανάδευση για 60 min. Ενώ η ανάδευση συνεχίζεται, προστίθενται το διάλυμα της χιτοζάνης (η οποία είχε διαλυθεί σε διάλυμα οξικού οξέος 1% - Chitosan-Acetic Acid 1%) με τη χρήση πιπέτας και το αιώρημα αφήνεται προς ανάδευση με σκοπό την ομογενοποίησή του.

6.1.3 Παρασκευή δομών CSNp SiO₂@ PEG-GM-CS

Μετά το πέρας της διαδικασίας παρασκευής των νανοσφαιριδίων πυριτίας και του διαλύματος PEG-GM-CS 0,25 g πυρωμένης πυριτίας προστίθενται σε 50 ml αιωρήματος PEG-GM-CS και αφήνονται προς μαγνητική ανάδευση για 24 h. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και για την μη πυρωμένη πυριτία με σκοπό τη εύρεση της κατάλληλης μεθόδου. Ακολουθεί φυγοκέντρηση στις 11.000 rpm και ξήρανση των δειγμάτων με τη μέθοδο της λυοφιλίωσης.

6.2 Προκατεργασία δοκιμίων Χάλυβα ψεκασμένων με Τιτάνιο (SST)

Τα τέσσερα μεταλλικά δοκίμια SST τοποθετούνται σε διάλυμα καυστικού νατρίου (NaOH) και παραμένουν για 24 h στον ξυραντήρα στους 60°C υπό κενό. Στη συνέχεια ακολουθούν εκπλύσεις με απιονισμένο νερό και εκ νέου ξήρανση των δοκιμίων για 24 h, ώστε να απομακρυνθεί πλήρως η υγρασία.

6.3 Επικαλύψεις δοκιμίων

Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκαν επικαλύψεις με το βέλτιστο υλικό πυρήνα-κελύφους που προέκυψε μετά από μελέτη των υλικών με τη μέθοδο της μικροσκοπίας σάρωσης διερχόμενης δέσμης αλλά και το αιώρημα πολυμερών που παρασκευάστηκε.

Πιο συγκεκριμένα, για την επικάλυψη των δύο πρώτων δοκιμίων SST (Δοκίμιο 1, Δοκίμιο 2) εφαρμόζεται η μέθοδος της εμβάπτισης (dip coating). Πραγματοποιήθηκε εμβάπτιση των επιφανειακά τροποποιημένων δοκιμίων SST στο αιώρημα PEG-GM-CS για 5 και 10 επαναλήψεις αντίστοιχα διάρκειας 1min, με ενδιάμεσα στάδια ξήρανσης στους 40°C και χρονικής διάρκειας 30 min.

Για τη δημιουργία επικαλύψεων με τη χρήση του υλικού πυρήνα-κελύφους, σε ποτήρι ζέσεως αναμιγνύεται ορισμένη ποσότητα μη πυρωμένης SiO₂@PEG-GM-CS μαζί με απιονισμένο νερό και αφήνεται σε μαγνητική ανάδευση για 30 min, ενώ

ακολουθεί και ανάδευση με συσκευή υπερήχων διάρκειας 5 λεπτών με σκοπό την εξάλειψη τυχόν συσσωματωμάτων και άρα την καλύτερη διασπορά του υλικού στο υδατικό αιώρημα. Στη συνέχεια ακολουθήθηκαν δύο διαφορετικές προσεγγίσεις, η μέθοδος της εμβάπτισης (dip) και η μέθοδος της σταγόνας (drop). Στην πρώτη περίπτωση πραγματοποιείται εμβάπτιση του δοκιμίου SST (Δοκίμιο 3) στο αιώρημα της μη πυρωμένης SiO₂@PEG-GM-CS για 5 επαναλήψεις διάρκειας 1 min με ενδιάμεσα στάδια ξήρανσης στους 40°C και χρονικής διάρκειας 30 min. Στη δεύτερη περίπτωση 200 μl του αιωρήματος της μη πυρωμένης SiO₂@PEG-GM-CS προστέθηκαν στάγδην στο δοκίμιο SST (Δοκίμιο 4) και ακολούθησε ξήρανση στους 40°C.

ΒΑΡΟΣ (g)		
	Πριν	Μετά
Δοκίμιο 1	4,8539	4,854
Δοκίμιο 2	5,0181	5,0194
Δοκίμιο 3	4,5418	4,5421
Δοκίμιο 4	4,451	4,4517

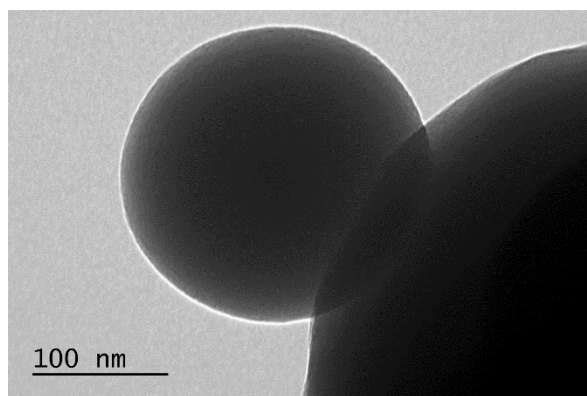
Πίνακας 6.1: Καταγραφή βάρους των δοκιμίων πριν και μετά τις επικαλύψεις

Κεφάλαιο 7^ο: Αποτελέσματα Σύνθεσης Υλικών

7.1 Χαρακτηρισμός της δομής των CSNp SiO₂@ PEG-GM-CS με τη χρήση Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου Σάρωσης (TEM)

Όπως αναφέρθηκε και στο πειραματικό μέρος της εργασίας, πραγματοποιήθηκαν δύο δοκιμές παρασκευής νανοσωματιδίων πυρήνα-κελύφους, στη πρώτη περίπτωση οι πυρήνες πυριτίας χρησιμοποιήθηκαν ως είχαν ενώ στη δεύτερη περίπτωση υπέστησαν έψηση στους 800°C.

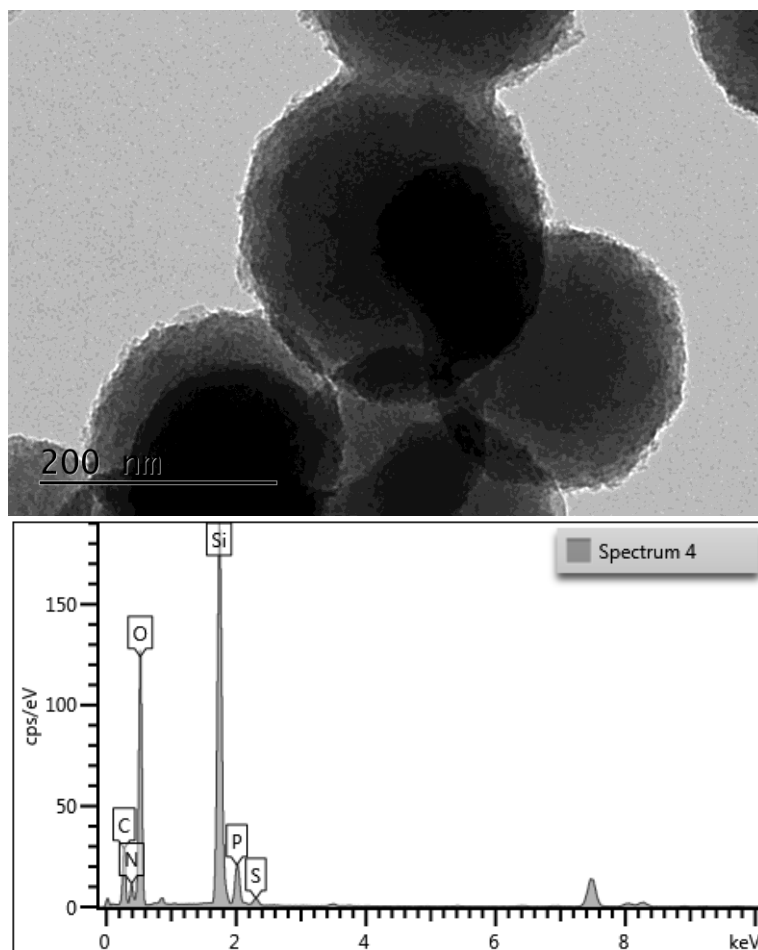
Με βάση τις παρακάτω εικόνες, που αποτελούν προϊόν της Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Διερχόμενης Δέσμης (TEM), είναι δυνατόν να εξεταστούν και να μελετηθούν το σχήμα, το μέγεθος, η μορφολογία και η δομή των νανοσωματιδίων SiO₂@PEG-GM-CS που συντέθηκαν. Επιπλέον, η συμβολή των αποτελεσμάτων του TEM είναι σημαντική στην πραγματοποίηση ελέγχου της επικάλυψης των πυρήνων πυριτίας (Εικόνα 7.1.1) με το κέλυφος των πολυμερών (PEG-CS) και του αντιβιοτικού (GM).



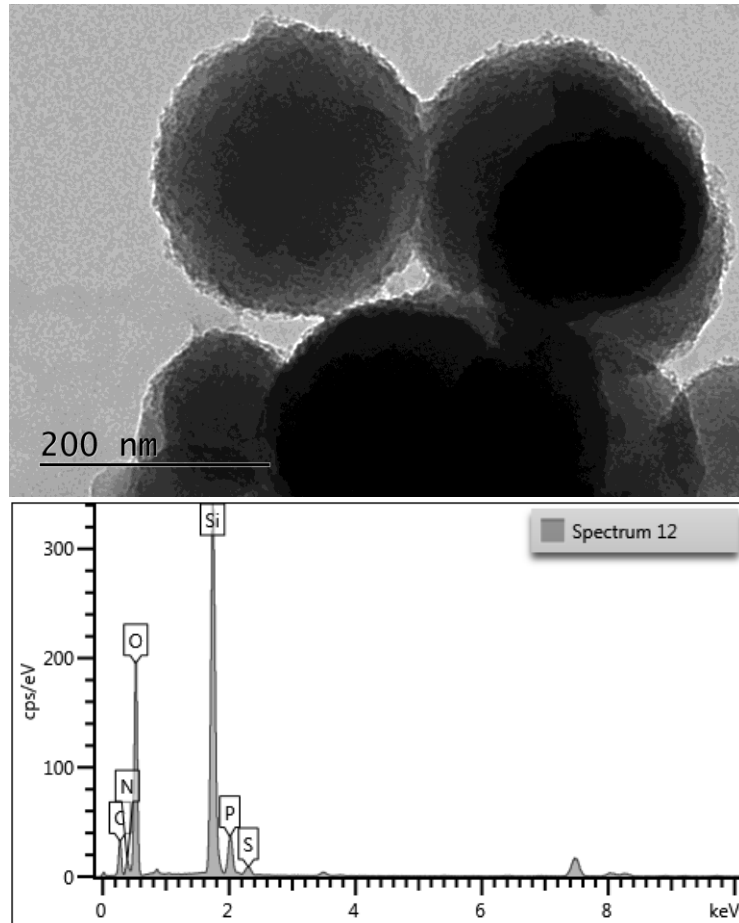
Εικόνα 7.1.1: Εικόνα φωτεινού πεδίου TEM νανοσωματιδίων μη επικαλυμμένης SiO₂

Πιο αναλυτικά, στις Εικόνες 7.1.2a 7.1.3a και 7.1.4a διακρίνεται το σχεδόν σφαιρικό σχήμα των σωματιδίων πυριτίας (μη πυρωμένης), με μέσο μέγεθος τα 200 nm, καθώς και η επικάλυψη των πολυμερών (κέλυφος) που προσκόλλησαν στην επιφάνεια των πυρήνων. Η δημιουργία του κελύφους παρατηρείται οπτικά, αν συγκρίνουμε τη μορφολογία της επιφάνειας των επικαλυμμένων σωματιδίων η οποία φαίνεται τραχεία, με αυτή των μη επικαλυμμένων η οποία είναι λεία (Εικόνα 7.1.1). Η σύνδεση του κελύφους με τον πυρήνα πραγματοποιήθηκε είτε ηλεκτροστατικά

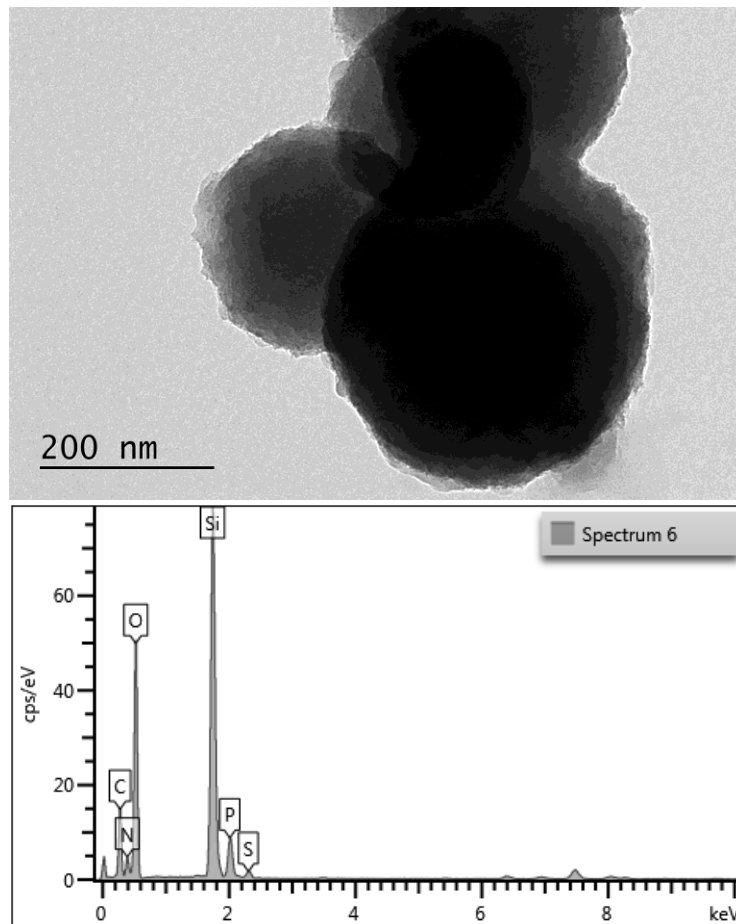
(56), λόγω του θετικού φορτίου που φέρουν οι πυρήνες της πυριτίας και του αρνητικού που φέρει η πολυμερική μεμβράνη, είτε χημικά λόγω της παρουσίας των αμινομάδων της πολυαιθυλενιμίνης οι οποίες αντιδρούν χημικά με τις υδροξυλομάδες των δύο άλλων πολυμερών. Όπως διακρίνεται και από τη στοιχειομετρική ανάλυση EDS του TEM (Εικόνες 7.1.2b 7.1.3b και 7.1.4b), στα νανοσφαιρίδια πυριτίας, εκτός από πυρίτιο και οξυγόνο, ανιχνεύεται και μικρή ποσότητα φωσφόρου που προέρχεται από το ρυθμιστικό φωσφορικό διάλυμα (Buffer) που χρησιμοποιήθηκε κατά την παρασκευή τους. Η ποσότητα του θείου οφείλεται στον εγκλωβισμό της γενταμυκίνης στα πολυμερή. Η ποσότητα του άνθρακα, καθώς και η ποσότητα άλλων στοιχείων που δεν ταυτοποιούνται, προέρχονται από το δειγματοφορέα που χρησιμοποιείται για τη συγκεκριμένη ανάλυση αλλά και από την παρουσία των οργανικών πολυμερών.



Εικόνα 7.1.2: (a) Εικόνα φωτεινού πεδίου TEM νανοσωματιδίων $\text{SiO}_2@PEG-GM-CS$ με μη πυρωμένη πυριτία, (b) Στοιχειομετρική ανάλυση EDS



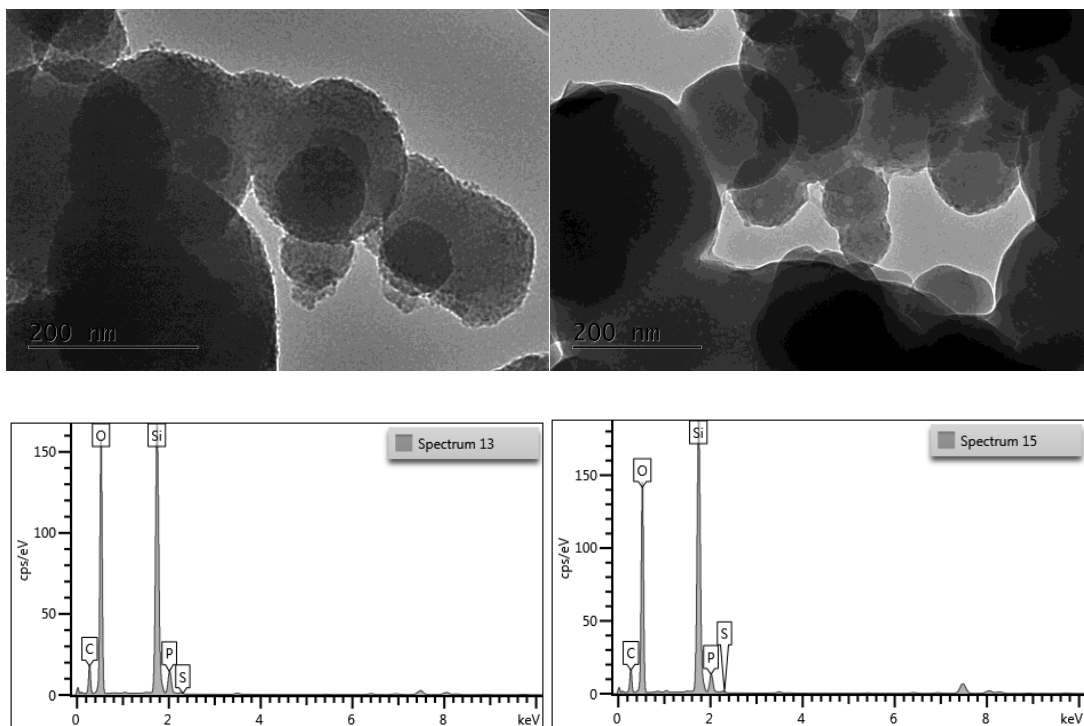
Εικόνα 7.1.3: (α) Εικόνα φωτεινού πεδίου TEM νανοσωματιδίων SiO_2 @PEG-GM-CS με μη πυρωμένη πυριτία, (β) Στοιχειομετρική ανάλυση EDS



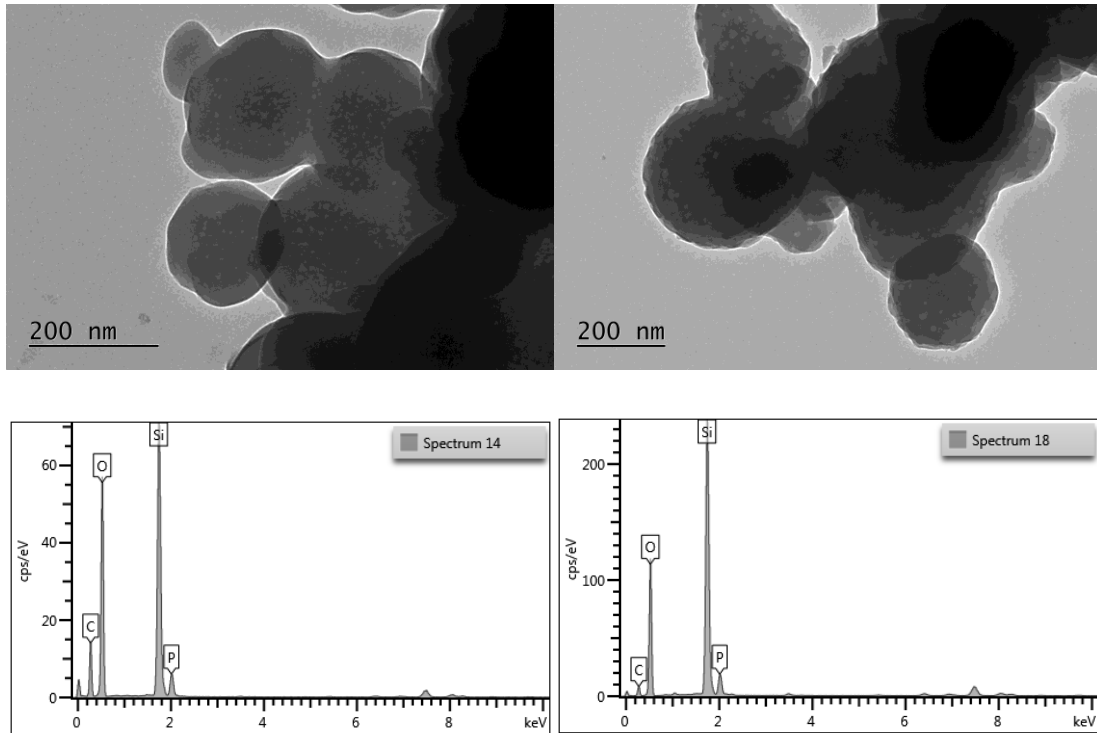
Εικόνα 7.1.4: (α) Εικόνα φωτεινού πεδίου TEM νανοσωματιδίων $\text{SiO}_2\text{@PEG-GM-CS}$ με μη πυρωμένη πυριτιά, (β) Στοιχειομετρική ανάλυση EDS

Στην περίπτωση της ανάλυσης με TEM των νανοσφαιριδίων $\text{SiO}_2\text{@PEG-GM-CS}$ που παρασκευάστηκαν με χρήση πυρωμένης πυριτίας, τα αποτελέσματα ήταν διαφορετικά. Συγκεκριμένα, είτε λόγω απουσίας της πολυαιθυλενιμίνης, άρα και της μη χημικής αντίδρασης με τις υδροξυλομάδες της πολυμερικής μεμβράνης, είτε λόγω απουσίας ηλεκτροστατικών δυνάμεων, η επικάλυψη είναι ελάχιστη έως ανύπαρκτη. Αυτό αποδεικνύει και η στοιχειομετρική ανάλυση EDS του TEM, η οποία δείχνει την ύπαρξη ελάχιστης (Εικόνα 7.1.5b) έως μηδενικής (Εικόνα 7.1.6b) ποσότητας θείου, η ανίχνευση του οποίου φανερώνει τον εγκλωβισμό της γενταμυκίνης στην επικάλυψη των πολυμερών. Όπως διακρίνεται και από τη στοιχειομετρική ανάλυση EDS του TEM, στα νανοσφαιρίδια πυριτίας, εκτός από πυρίτιο και οξυγόνο, ανιχνεύεται και μικρή ποσότητα φωσφόρου που προέρχεται από το ρυθμιστικό φωσφορικό διάλυμα (Buffer) που χρησιμοποιήθηκε κατά την παρασκευή τους. Η ποσότητα του άνθρακα

προέρχεται από την παρουσία οργανικών πολυμερών και ένα ποσοστό αυτού από το δειγματοφόρα που χρησιμοποιείται για τη συγκεκριμένη ανάλυση.

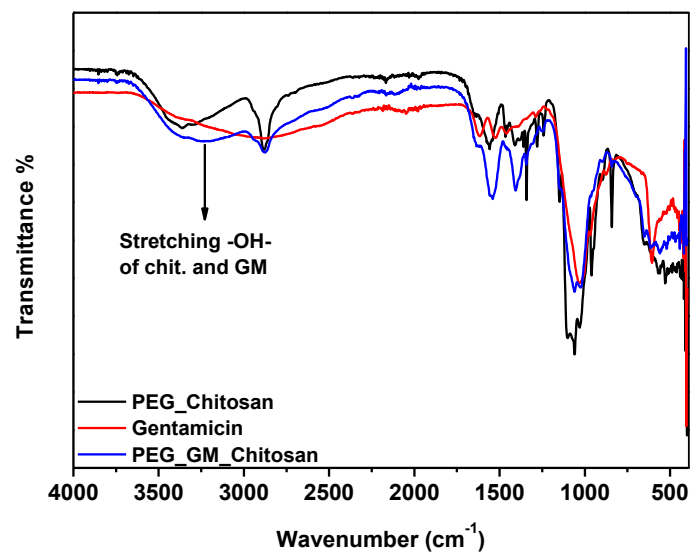


Εικόνα 7.1.5: (α) Εικόνα φωτεινού πεδίου TEM νανοσωματιδίων SiO₂@PEG-GM-CS με πυρωμένη πυριτία, (β) Στοιχειομετρική ανάλυση EDS



Εικόνα 7.1.6: (α) Εικόνα φωτεινού πεδίου TEM νανοσωματιδίων SiO₂@PEG-GM-CS με πυρωμένη πυριτία, (β) Στοιχειομετρική ανάλυση EDS

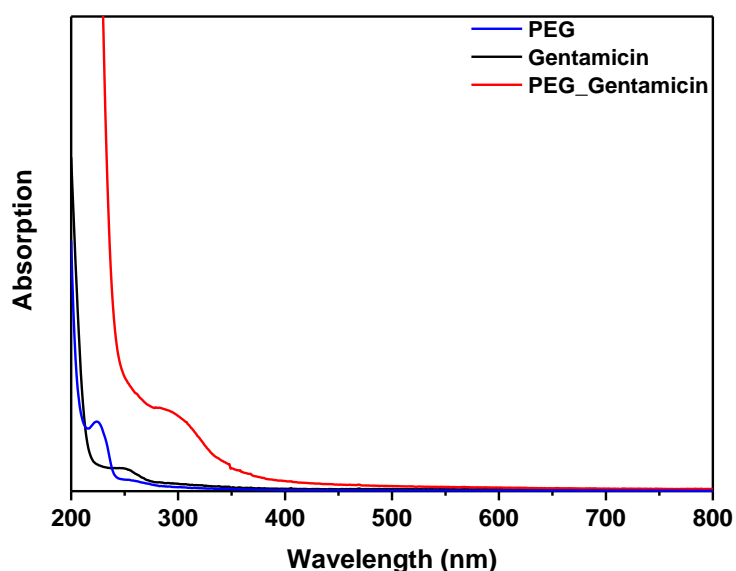
7.2 Χαρακτηρισμός των νανοσωματιδίων PEG-GM-CS με τη χρήση Φασματοσκοπίας με Μετασχηματισμό Fourier (FTIR)



Εικόνα 7.2.1: Φάσματα FTIR των νανοσωματιδίων PEG_{0.2}-Chit_{0.8} και PEG_{0.2}-Gentamicin-Chit_{0.8}

Στην Εικόνα 7.2.1 δίνονται τα διαγράμματα φασματοσκοπίας με μετασχηματισμό Fourier των νανοσωματιδίων των δύο πολυμερών (PEG_{0,2}-Chit_{0,8}), του αντιβιοτικού (Gentamicin) και των τριών μαζί (PEG_{0,2}-Gentamicin-Chit_{0,8}). Οι διαφορές μεταξύ των κορυφών των φασμάτων των PEG-CS και PEG-GM-CS είναι εμφανείς. Όπως φαίνεται από το σχήμα, η μετατοπισμένη κορυφή των εκτατικών δονήσεων C-H της γενταμυκίνης από 2886 σε 2875 cm⁻¹ καθώς και η εμφάνιση μιας νέας κορυφής (3230 cm⁻¹) που αποδίδεται στις δονήσεις υδροξυλομάδων (-OH-) της χιτοζάνης και του αντιβιοτικού δείχνουν την επιτυχή ενσωμάτωση της γενταμυκίνης στο τελικό υλικό.

7.3 Χαρακτηρισμός της ενθυλάκωσης του αντιβιοτικού με τη χρήση Φασματοσκοπίας Υπεριώδους Ορατού (UV-Vis)



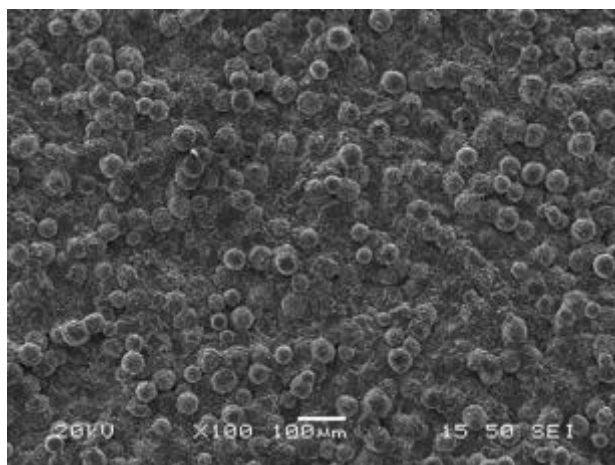
Εικόνα 7.3.1: Φάσματα UV-Vis των PEG, Gentamicin και της σύζευξής τους

Για την αξιολόγηση της αλληλεπίδρασης της γενταμυκίνης (Gentamicin) με πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG), ελέγχθηκαν τα φάσματα απορρόφησης UV-Vis ξεχωριστά αλλά και έπειτα από τη συμπλοκοποίηση αυτών. Όπως φαίνεται και στο διάγραμμα η γενταμυκίνη παρουσιάζει καμπύλη απορρόφησης στα 252 nm ενώ η πολυαιθυλενογλυκόλη περίπου στα 230 nm. Βλέπουμε όμως ότι έπειτα από την προσθήκη της γενταμυκίνης στην πολυαιθυλενογλυκόλη η καμπύλη μετατοπίζεται σε μεγαλύτερο μήκος κύματος και πιο συγκεκριμένα στα 300 nm, γεγονός που

πιθανότητα να οφείλεται στη δημιουργία συμπλόκου μεταξύ του πολυμερούς και της δραστικής ουσίας.

7.4 Αξιολόγηση αποτελεσμάτων των επικαλύψεων σε επιφάνεια SST δοκιμίων με τη χρήση Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου Διερχόμενης Δέσμης Ηλεκτρονίων (SEM)

Τα αιωρήματα που παρασκευάστηκαν και περιείχαν τα δύο πολυμερή μαζί με το αντιβιοτικό (PEG-Gentamicin-Chitosan) χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξη επικαλύψεων σε δοκίμια ανοξείδωτου χάλυβα τα οποία είχαν υποστεί επιφανειακή τροποποίηση με μεταλλικό τιτάνιο μέσω ψεκασμού από την εταιρεία Πυρογένεσις ABEE έτσι ώστε να δημιουργηθεί η κατάλληλη πορώδης επιφάνεια (Εικόνα 7.4.1).



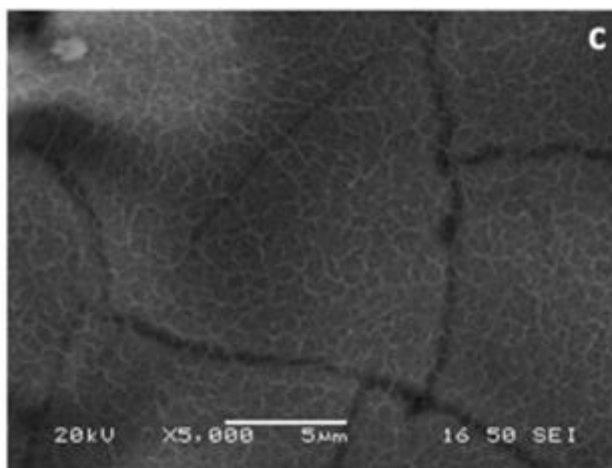
Εικόνα 7.4.1: Εικόνα SEM της επιφάνειας του ανοξείδωτου χάλυβα μετά από θερμικό ψεκασμό με μεταλλικό τιτάνιο

Αρχικά επιχειρήθηκε η εναπόθεση του υλικού με τη μέθοδο της σταγόνας όμως μετά την εισαγωγή του τελικού επικαλυμμένου δοκιμίου σε νερό παρατηρήθηκε πολύ χαμηλή πρόσφυση και αποκόλληση της επικάλυψης (Εικόνα 7.4.2). Επομένως πραγματοποιήθηκε μια προεργασία που αφορούσε στην επιφανειακή χημική τροποποίηση των δοκιμίων πριν την επικάλυψή τους με το παρασκευασμένο αιώρημα.



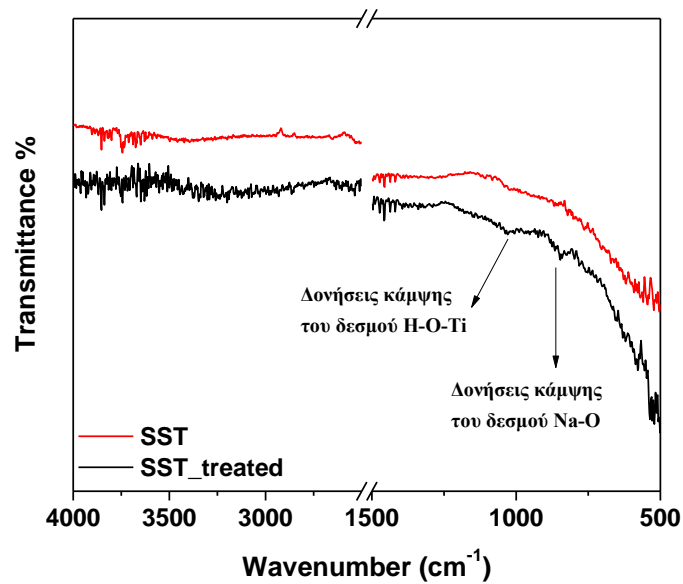
Εικόνα 7.4.2: Απεικόνιση της αστοχίας επικαλύψεων σε επιφάνειες που δεν είχαν υποστεί χημική επιφανειακή τροποποίηση μετά από εμβάπτιση σε υδατικό περιβάλλον

Πιο συγκεκριμένα, τα δοκίμια αφού εκπλύθηκαν με απιονισμένο νερό, εμβαπτίστηκαν σε διάλυμα καυστικού νατρίου (NaOH) συγκέντρωσης 5 M και παρέμειναν για 24h στους 60°C υπό κενό. Στη συνέχεια ακολούθησε έκπλυση των δοκιμίων με απιονισμένο νερό και ξήρανση για 24h στους 40°C, ώστε να απομακρυνθεί πλήρως η υγρασία. Το αποτέλεσμα της προεργασίας εξετάστηκε με τη χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (Εικόνα 7.4.3). Όπως φαίνεται το δοκίμιο δείχνει να είναι επιφανειακά ενεργό, συνεπώς και η ανάπτυξη των επικαλύψεων πραγματοποιήθηκε ακολουθούμενης της αναγκαίας προεργασίας.



Εικόνα 7.4.3: Εικόνα SEM δοκίμιου SST μετά από χημική επιφανειακή τροποποίηση με NaOH συγκέντρωσης 5 M για 24h

Επιπλέον πραγματοποιήθηκε χαρακτηρισμός των δοκιμίων με τη χρήση φασματοσκοπίας με μετασχηματισμό Fourier πριν και μετά την χημική τροποποίηση και τα φάσματα δίνονται στην παρακάτω εικόνα.



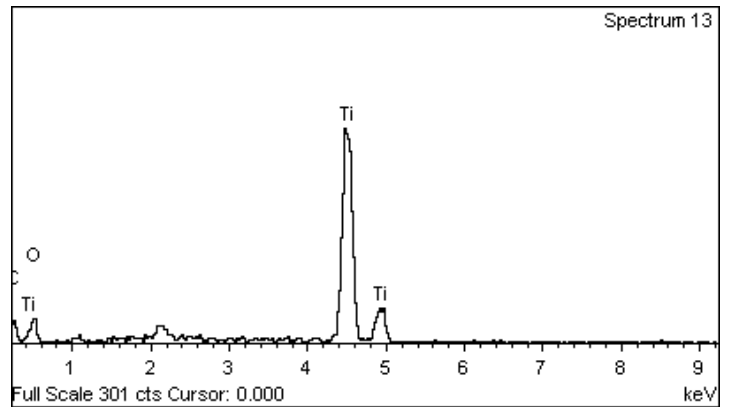
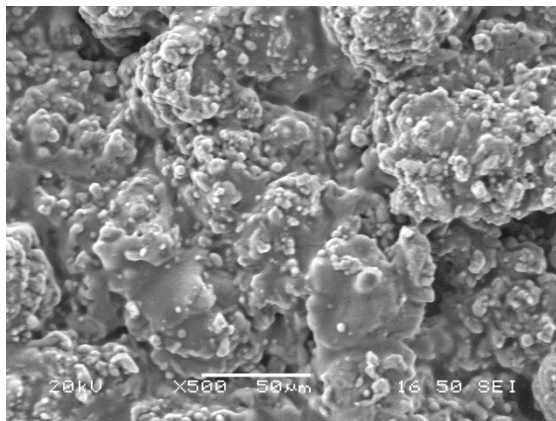
Εικόνα 7.4.4: Φάσματα FTIR των δοκιμίων πριν και μετά την επιφανειακή τροποποίηση με NaOH

Μετά την επεξεργασία με NaOH, μπορεί να προσδιοριστεί μια ποικιλία ομάδων αποδεικνύοντας την επίδρασή του στην επιφάνεια του τιτανίου. Όπως φαίνεται και στο διάγραμμα, στην περίπτωση του δοκιμίου που τροποποιήθηκε χημικά, βλέπουμε την εμφάνιση δύο νέων κορυφών στα 1061 και 878 cm^{-1} που αντιστοιχούν σε δονήσεις κάμψης των δεσμών H-O-Ti και Na-O λόγω της παρουσίας του δεσμού Na-O-Ti. **(68)**

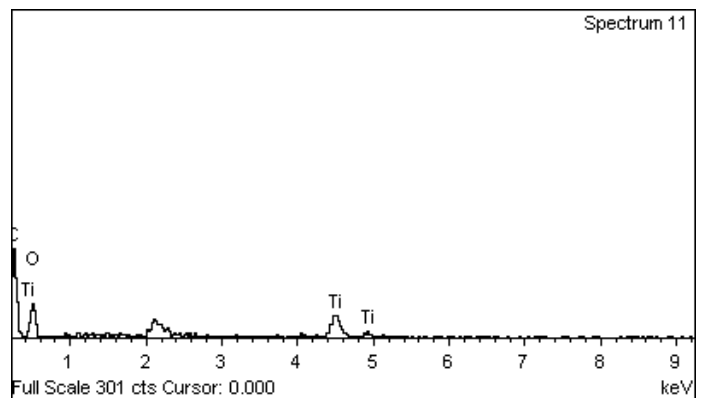
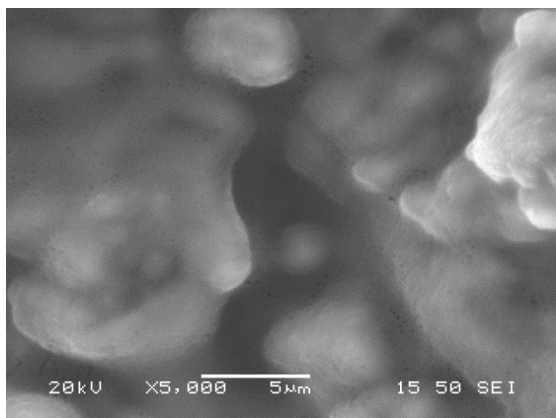
Για την ανάπτυξη των επικαλύψεων των δοκιμίων SST όπως αναφέρθηκε προηγουμένως ακολουθήθηκαν δύο διαφορετικές προσεγγίσεις, η μέθοδος της εμβάπτισης (dip) και η μέθοδος της σταγόνας (drop). Με βάση την πρώτη μέθοδο πραγματοποιήθηκε εμβάπτιση του Δοκιμίου 1 και Δοκιμίου 2 σε διάλυμα PEG-Gentamicin-Chitosan για 5 και 10 επαναλήψεις αντίστοιχα καθώς και εμβάπτιση του Δοκιμίου 3 σε αιώρημα μη πυρωμένης SiO_2 @PEG-GM-CS για 5 επαναλήψεις. Στη δεύτερη περίπτωση 200 μl του αιωρήματος μη πυρωμένης SiO_2 @PEG-GM-CS προστέθηκαν στάγδην στο Δοκίμιο 4.

Στις Εικόνες 7.4.5 και 7.4.6 παρατίθενται οι εικόνες SEM που αφορούν στην ανάπτυξη πολυμερικών επικαλύψεων με τη μέθοδο της εμβάπτισης. Δεδομένης της μικρής ποσότητας της επικάλυψης στα μεταλλικά δοκίμια καθώς και της πορώδους

επιφάνειας αυτών, η παρουσία της επικάλυψης επιβεβαιώνεται μόνο από τη στοιχειακή ανάλυση EDS, όπου ταυτοποιείται η παρουσία τιτανίου καθώς και άνθρακα και οξυγόνου, λόγω της πολυμερικής φύσης του υλικού. Παρατηρείται επίσης και αύξηση του πάχους της επικάλυψης, γεγονός το οποίο έρχεται σε συμφωνία και με τα αποτελέσματα της στοιχειακής ανάλυσης όπου μειώνεται το ποσοστό του τιτανίου ενώ αυξάνεται το ποσοστό του άνθρακα.

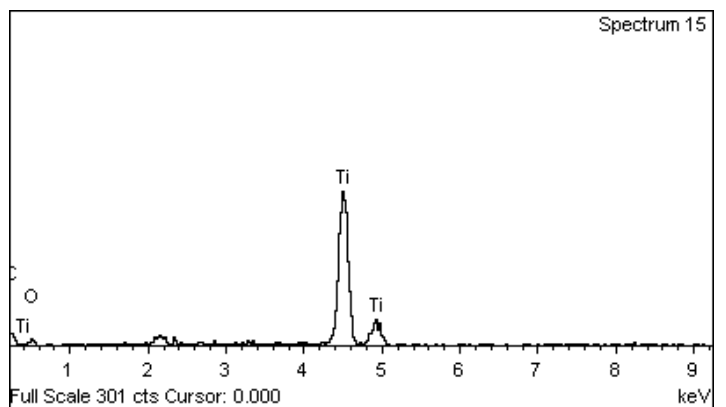
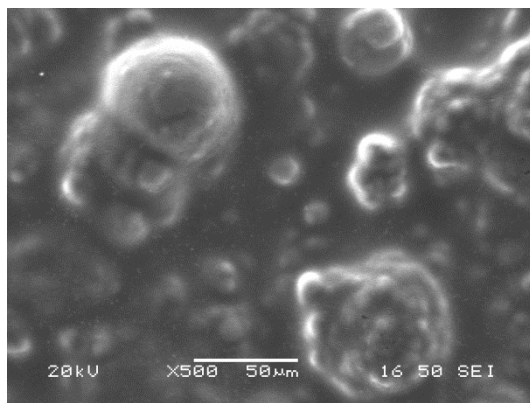


Element	Weight%	Atomic%
C K	11.05	22.25
O K	32.57	49.27
Ti K	56.38	28.48
Totals	100.00	

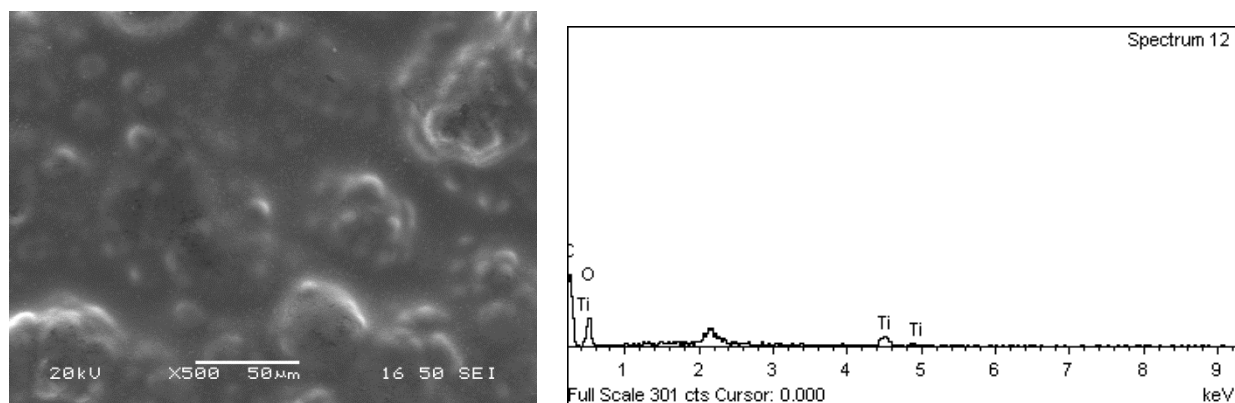


Element	Weight%	Atomic%
C K	11.86	26.58
O K	21.30	35.84
Ti K	66.84	37.57
Totals	100.00	

Εικόνα 7.4.5: Εικόνες SEM και οι αντίστοιχες αναλύσεις EDS της επικάλυψης PEG-GM-CS του Δοκιμίου 1 με τη μέθοδο της εμφότισης (5 φορές)



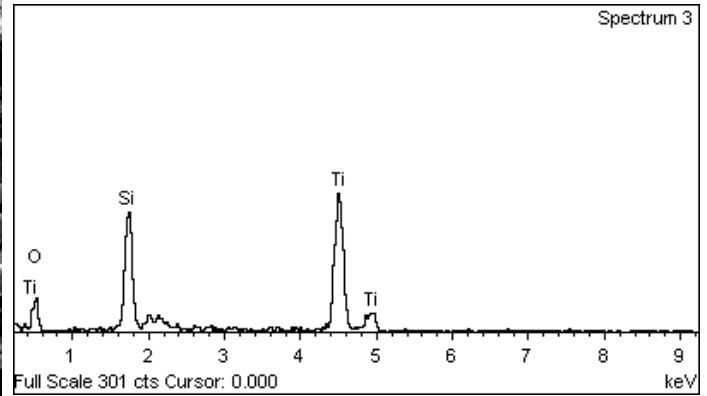
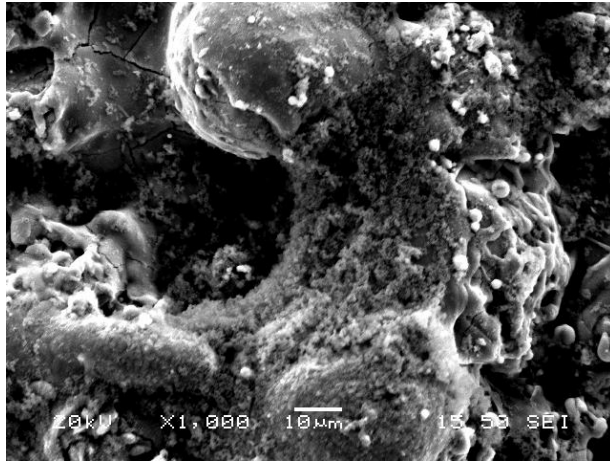
Element	Weight%	Atomic%
C K	49.62	59.69
O K	41.74	37.70
Ti K	8.64	2.61
Totals	100.00	



Element	Weight%	Atomic%
C K	52.16	60.81
O K	43.24	37.84
Ti K	4.60	1.34
Totals	100.00	

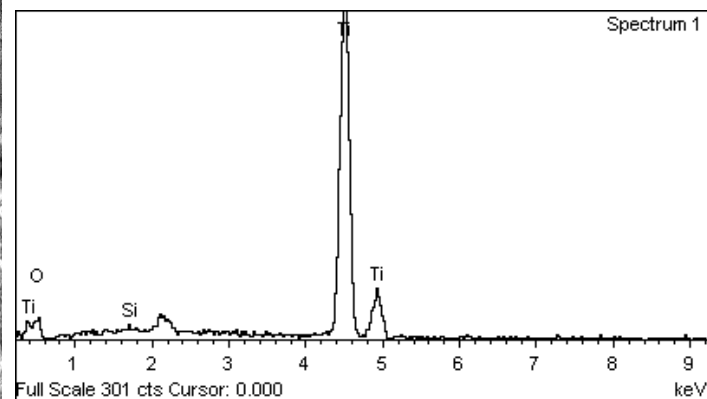
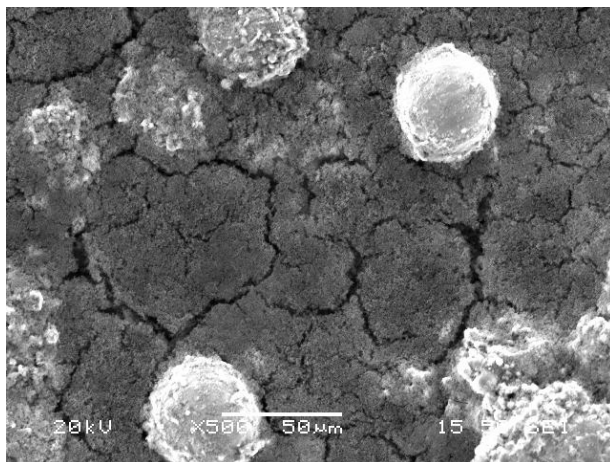
Εικόνα 7.4.6: Εικόνες SEM και οι αντίστοιχες αναλύσεις EDS της επικάλυψης PEG-GM-CS του Δοκιμίου 2 με τη μέθοδο της εμβάπτισης (10 φορές)

Στις Εικόνες 7.4.7 και 7.4.8 παρατίθενται τα αποτελέσματα της μελέτης στο SEM που αφορούν στην ανάπτυξη επικαλύψεων με μη πυρωμένη SiO_2 @PEG-GM-CS με τη μέθοδο της εμβάπτισης και τη μέθοδο της σταγόνας αντίστοιχα. Η παρουσία της επικάλυψης επιβεβαιώνεται από τη στοιχειακή ανάλυση EDS, όπου ταυτοποιείται η παρουσία τιτανίου καθώς και άνθρακα και οξυγόνου, λόγω της πολυμερικής φύσης του υλικού. Από τα αποτελέσματα της στοιχειακής ανάλυσης φαίνεται ότι το ποσοστό τιτανίου είναι μεγαλύτερο στη μέθοδο της εμβάπτισης σε σχέση με αυτό της σταγόνας. Συμπερασματικά η δεύτερη μέθοδος φαίνεται περισσότερο αποτελεσματική.



Element	Weight%	Atomic%
O K	26.03	51.24
Si K	0.30	0.34
Ti K	73.67	48.43
Totals	100.00	

Εικόνα 7.4.7: Εικόνα SEM και η αντίστοιχη ανάλυση EDS της επικάλυψης μη πυρωμένης SiO₂@PEG-GM-CS του Δοκιμίου 3 με τη μέθοδο της εμβάπτισης (5 φορές)

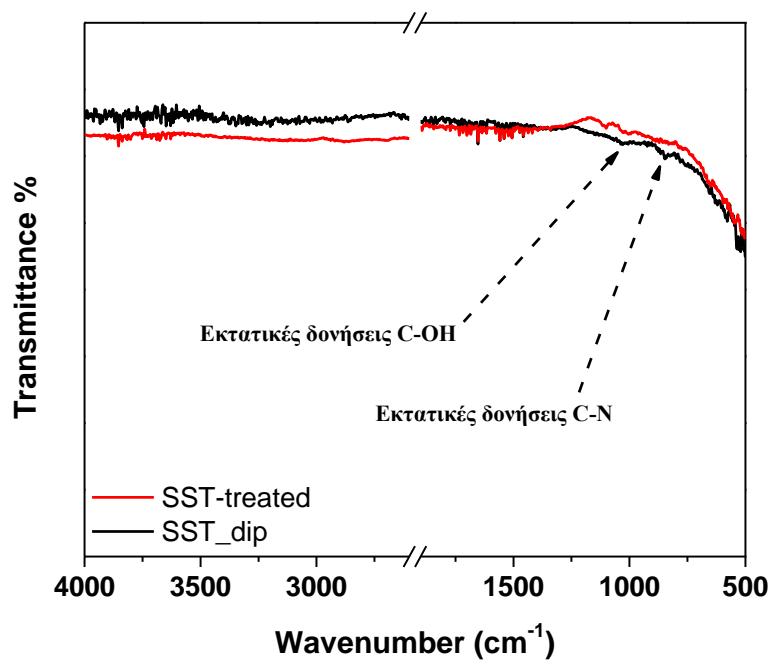


Element	Weight%	Atomic%

O K	41.27	63.59
Si K	17.00	14.93
Ti K	41.73	21.48
Totals	100.00	

Εικόνα 7.4.8: Εικόνα SEM και η αντίστοιχη ανάλυση EDS της επικάλυψης μη πυρωμένης SiO₂@PEG-GM-CS του Δοκιμίου 4 με τη μέθοδο της σταγόνας

Η επιτυχής δημιουργία των επικαλύψεων μέσω πολυμερικών μεμβράνων εξετάστηκε και μέσω φασματοσκοπίας με μετασχηματισμό Fourier και τα αντίστοιχα διαγράμματα παρουσιάζονται στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 7.4.9: Φάσματα FTIR των επικαλυμμένων δοκιμίων με πολυμερική μεμβράνη

Στην περίπτωση των επικαλύψεων με εμφύσηση στο παρασκευασμένο αιώρημα των πολυμερών και του αντιβιοτικού, η επιτυχής δημιουργία της επικάλυψης ταυτοποιείται από την παρουσία κορυφών στα 1320 και 1012 cm⁻¹ αντίστοιχα που αντιστοιχούν σε εκτατικές δονήσεις δεσμών C-OH και C-N λόγω της πολυμερικής φύσης του υλικού. (69),(70)

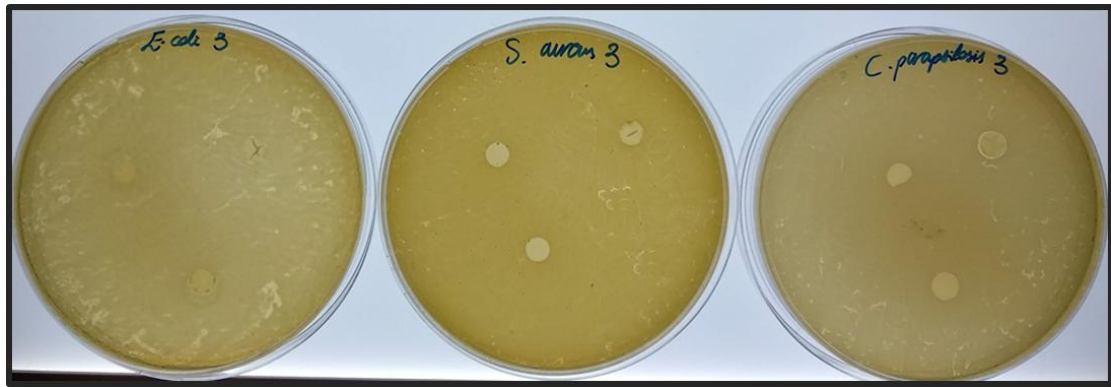
Κεφάλαιο 8^ο: Μελέτη αντιβακτηριακών και αντιβιοφίλμ ιδιοτήτων των μεμβρανών

Οι μεμβράνες που παρασκευάστηκαν εξετάσθηκαν ως προς την αντιβιοτική τους δράση έναντι των βακτηρίων *E. Coli* (AR) και *S. Aureus* (S54F9) και του μύκητα *C. Parapsilosis* (SMI416) από το Πανεπιστήμιο του Οβιέδο στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος NOMORFILM. Για αυτόν τον βιοπροσδιορισμό, χρησιμοποιήθηκε μέθοδος διάχυσης αντιβιοτικών δίσκων σε άγαρ.

Όλες οι μεμβράνες κόπηκαν σε δίσκους διαμέτρου 6 mm και τοποθετήθηκαν σε τρυβλία που περιείχαν άγαρ σόγιας Trypticase. Στο κάθε τρυβλίο προστέθηκε *E. Coli* και *S. Aureus* σε συγκεντρώσεις 10⁸ UFC/ml και συγκέντρωση 10⁶ UFC/ml για την περίπτωση του μύκητα *C. Parapsilosis*. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με οπτική παρατήρηση των τρυβλίων και μέτρηση των διαμέτρων των ζωνών αναστολής γύρω από κάθε μεμβράνη.

	∅ (cm)		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. parapsilosis</i>
PEG_{0.2}Chit_{0.8}	0	0,6 <x ≤ 1	0,6 <x ≤ 1
PEG_{0.2}GM_{0.02}Chit_{0.8}	1 <x ≤ 1,5	> 1,5	> 1,5

Πίνακας 8.1.1: Ζώνες αναστολής σε cm



Εικόνα 8.1: Μembrάνη PEG_{0.2}Chit_{0.8}



Εικόνα 8.2: Μembrάνη PEG_{0.2}GM_{0.02}Chit_{0.8}

Πέραν των αντιβακτηριακών ιδιοτήτων εξετάστηκε και η δραστικότητα των μεμβρανών έναντι της δημιουργίας βιοφίλμ από την ISGlobal στα πλαίσια του ίδιου προγράμματος. Συγκεκριμένα, σε τρυβλία με το κατάλληλο μέσο καλλιέργειας προστέθηκαν μικρά κομμάτια μεμβρανών και 50μl βακτηριακού αιωρήματος (10⁶ UFC/ml). Ακολούθησε επώαση στους 37°C για περίπου 15 ώρες. Στη συνέχεια οι μεμβράνες εκπλύθηκαν και προσδιορίστηκε ο αριθμός αποικιών ανά cm² μέσω μέτρησης των βακτηριδίων που είχαν προσκολληθεί στις μεμβράνες (Colony Former Units/cm²). Τα αποτελέσματα δίνονται στον παρακάτω πίνακα, όπου όπως βλέπουμε στην περίπτωση της μεμβράνης που περιείχε μόνο τα δύο πολυμερή παρατηρείται η ανάπτυξη βιοφίλμ και στις δύο περιπτώσεις των μικροοργανισμών, ενώ στην περίπτωση που η μεμβράνη περιείχε γενταμικίνη παρατηρούμε ότι δεν είχαμε την ανάπτυξη βακτηριακών αποικιών. Από τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι η μεμβράνη παρουσία φαρμάκου έχει πολύ καλές αντιβιοφίλμ ιδιότητες.

	Μεμβράνη	Μικροοργανισμός	Εμβαδό δείγματος (cm ²)	CFU/cm ²
3	PEG _{0.2} Chit _{0.8}	<i>S. aureus</i>	1	8,9*10 ⁹
		<i>P. aeruginosa</i>	1	8,8*10 ⁹
4	PEG _{0.2} GM _{0.02} Chit _{0.8}	<i>S. aureus</i>	1	0
		<i>P. aeruginosa</i>	1	0

Πίνακας 8.1.2: Αριθμός CFU/cm² κάθε μικροοργανισμού για την εκάστοτε μεμβράνη

Κεφάλαιο 9: Ανακεφαλαίωση – Συμπεράσματα - Μελλοντική

Έρευνα

Στην παρούσα διπλωματική εργασία έγινε προσπάθεια για την ανάπτυξη μίας δομής νανοϋλικών πυρήνα – κελύφους, αποτελούμενων από πυριτία (SiO_2) ως πυρήνα και πολυμερή (PEG-CS) με ενθυλακωμένο αντιβιοτικό (GM) ως κέλυφος, αλλά και μίας σκέτης πολυμερικής μεμβράνης PEG-CS η οποία έφερε το αντιβιοτικό GM με απώτερο σκοπό τη δημιουργία επικαλύψεων σε μεταλλικά εμφυτεύματα. Η σύνθεση των νανοϋλικών αυτών πραγματοποιήθηκε εργαστηριακά με όσο το δυνατόν περιβαλλοντικά φιλικότερο και οικονομικότερο τρόπο, καθώς σχεδόν σε όλα τα πειράματα σύνθεσης των υλικών διατηρήθηκε η θερμοκρασία περιβάλλοντος, αποφεύχθηκε η χρήση τοξικών αντιδραστηρίων, καθώς επίσης ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε το απιονισμένο νερό.

Αρχικά, παρασκευάστηκαν τα νανοσφαιρίδια πυριτίας μέσω μιας βιομιμητικής μεθόδου καταβύθισης, με την αλληλεπίδραση υπερδιακλαδισμένης πολυαιθυλενιμίνης και πυριτικού οξέος, και το αιώρημα των πολυμερών μαζί με το αντιβιοτικό, ενώ η σύνθεση των νανοσωματιδίων SiO_2 @PEG-Gentamicin-Chitosan έγινε με χρήση δύο ειδών πυριτίας, πυρωμένης και μη, με σκοπό τη σύγκριση των αποτελεσμάτων και την εύρεση της κατάλληλης μεθόδου. Ακολούθησε ο χαρακτηρισμός των δύο ειδών παραγόμενων νανοσωματιδίων SiO_2 @PEG-Gentamicin-Chitosan ώστε να ελεγχθεί η επιτυχής ή μη σύνθεση των νανοϋλικών με τα απαιτούμενα χαρακτηριστικά. Πιο συγκεκριμένα, επιλέχθηκε η Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Ηλεκτρονίων διερχόμενης Δέσμης (TEM) προκειμένου να εκτιμηθεί η επιτυχία της επικάλυψης και η ομοιογένεια των παραγόμενων νανοϋλικών και ακόμα να παρατηρηθεί η μορφολογία, η δομή, το σχήμα και το μέγεθός τους. Με βάση λοιπόν τα αποτελέσματα του TEM για τα δύο υπό μελέτη δείγματα νανοσφαιριδίων SiO_2 @ PEG-Gentamicin-Chitosan προκύπτουν ορισμένα συμπεράσματα, τα οποία καθορίζουν το αντικείμενο μελέτης της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας. Στην περίπτωση της μη πυρωμένης πυριτίας, η δημιουργία του κελύφους μπορεί να επιτευχθεί είτε μέσω της ανάπτυξης ηλεκτροστατικών δυνάμεων μεταξύ της πυριτίας που εμφανίζει θετικό φορτίο και των πολυμερών που παρουσιάζουν αρνητικό φορτίο, είτε εξαιτίας της παρουσίας αμινομάδων της πολυαιθυλενιμίνης στην επιφάνεια της

πυριτίας που συνδέονται χημικά με τις υδροξυλομάδες των πολυμερών. Αντιθέτως, η πύρωση που υφίσταται η πυριτία συμβάλλει στην απομάκρυνση των αμινομάδων της πολυαιθυλενιμίνης από την επιφάνειά της, με αποτέλεσμα αυτή να εμφανίζει πλέον αρνητικό φορτίο, λόγω και της ύπαρξης των αρνητικά φορτισμένων ομάδων σιλανόλης ($\text{Si} - \text{OH}^-$), ενώ ο σχηματισμός κελύφους της πολυμερικής μεμβράνης που ενθυλακώνει το αντιβιοτικό γίνεται ελάχιστος έως ανέφικτος.

Επιπλέον η δημιουργία των νανοσωματιδίων PEG-Gentamicin-Chitosan ταυτοποιήθηκε και μέσω φασματοσκοπίας FTIR, όπου η μετατοπισμένη κορυφή που αντιστοιχεί σε εκτατικές δονήσεις των δεσμών C-H της γενταμυκίνης από 2886 σε 2875 cm^{-1} καθώς και η δημιουργία μιας νέας κορυφής 3230 cm^{-1} που αποδίδεται στις δονήσεις των υδροξυλομάδων -OH- της χιτοζάνης και της γενταμυκίνης δείχνουν την επιτυχή ενσωμάτωση της δεύτερης στο τελικό υλικό. Η δημιουργία των νανοσωματιδίων είναι σε συμφωνία και με τα αποτελέσματα της φασματοσκοπίας UV-Visible, όπου η μετατόπιση της καμπύλης σε μεγαλύτερο μήκος κύματος (300nm), από εκείνες της πολυαιθυλενογλυκόλης (230 nm) και της γενταμυκίνης (252nm) ξεχωριστά, φανερώσει τη συμπλοκοποίηση μεταξύ πολυμερούς και αντιβιοτικού.

Στη συνέχεια τα νανοσωματίδια PEG-Gentamicin-Chitosan και τα βέλτιστα νανοϋλικά πυρήνα – κελύφους, δηλαδή τα νανοσωματίδια μη πυρωμένης $\text{SiO}_2@$ PEG-Gentamicin-Chitosan, χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξη επικαλύψεων σε δοκίμια ανοξειδώτου χάλυβα ψεκασμένου με μεταλλικό τιτάνιο με σκοπό τη δημιουργία αντιμικροβιακών υμενίων. Τα δοκίμια αυτά αρχικά υπέστησαν επιφανειακή χημική τροποποίηση με NaOH 5M στους 60°C για 24 h με σκοπό την ενεργοποίηση της επιφάνειας και την καλύτερη χημική πρόσφυση της επικάλυψης, ενώ ακολούθησε χαρακτηρισμός τους μέσω φασματοσκοπίας FTIR που επιβεβαίωσε την επίδρασή του στην επιφάνεια του τιτανίου. Εφαρμόστηκαν δύο διαφορετικές μέθοδοι επικάλυψης, της εμβάπτισης και της σταγόνας, Στην περίπτωση των πολυμερικών νανοσωματιδίων εφαρμόστηκε μόνο η πρώτη μέθοδος επικάλυψης των δοκιμίων, διπλασιάζοντας τον αριθμό των εμβάπτισεων, αντίθετα με την περίπτωση των νανοσωματιδίων μη πυρωμένης $\text{SiO}_2@$ PEG-Gentamicin-Chitosan όπου εφαρμόστηκαν και οι δύο μέθοδοι επικάλυψης, ενώ επιλέχθηκε η Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (SEM) για το χαρακτηρισμό των αποτελεσμάτων.

Τέλος μελετήθηκε η αντιβιοτική συμπεριφορά των μεμβρανών PEG_{0.2}Chit_{0.8} και PEG_{0.2}GM_{0.02}Chit_{0.8} έναντι των βακτηρίων E. Coli και S. Aureus και έναντι του μύκητα C. Parapsilosis από το Πανεπιστήμιο του Οβιέδο όπου τα αποτελέσματα ήταν πολύ καλά, όπως επίσης και η δραστηριότητα των μεμβρανών έναντι της δημιουργίας βιοφίλμ από την ISGlobal με εξίσου καλά αποτελέσματα αφού δεν είχαμε την ανάπτυξη βακτηριακών αποικιών, συμπεραίνοντας ότι η μεμβράνη παρουσία φαρμάκου έχει πολύ καλές αντιβιοφίλμ ιδιότητες.

Μελλοντική Έρευνα

- Εξέταση επιπλέον χρήσεων κι εφαρμογών των συγκεκριμένων νανοϋλικών SiO₂@ PEG- Gentamicin-Chitosan
- Εφαρμογή νέου αντιβιοτικού ή φαρμακευτικής ουσίας στο νανοσωματίδιο των πολυμερών
- Εκτενής μελέτη/Βελτιστοποίηση της μεθόδου της εμβάπτισης για την ανάπτυξη επικαλύψεων
- Μελέτη της αντιβιοτικής δράσης και της τοξικότητας του υλικού πυρήνα-κελύφους
- Μελέτη in vivo τοξικότητας για τη διαβεβαίωση της ασφάλειας του τελικού προϊόντος

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Κωνσταντίνος Ν. Δεμέτζος, “ Φαρμακευτική Νανοτεχνολογία: Βασικές Αρχές και Πρακτικές Εφαρμογές”, Παρισιάνου,2014.
2. Islam N., & Miyazaki K. (2010). An empirical analysis of nanotechnology research domains, *Technovation* 30, (2010), 229 – 237.
3. Dobson, J., 2003. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, 36, 167-181.
4. Shin, W. K., Cho, J., Kannan, A. G., Lee, Y. S., Kim, D. W., 2016. Cross-linked composite gel polymer electrolyte using mesoporous methacrylatefunctionalized SiO₂ nanoparticles for lithium-ion polymer batteries. *Sci. Rep.*, 6.
5. Chatterjee K., Sarkar S., Rao K. J. Paria S., Core/shell nanoparticles in biomedical applications, *Adv. ColloidInterfaceSci.*, 209, (2014), 8–39.
6. Bala H., Zhang Y., Ynag H., Wang C., Li M., Lv X., Wang Z., Preparation and characteristics of calciumcarbonate/silicananoparticleswithcore-shellstructure, *ColloidsSurf. A: Physicochem. Eng. Asp*, 294, (2007), 8–13.
7. Hwang H.S., Bae J.H., Kim H.G., Lim K.T., Synthesis of silica polystyrene core – shell nanoparticles via surface thiol – lactam initiated radical polymerization, *Eur. Polym. J.*, 46, (2010), 1654 – 1659.
8. Gawande B. M., Goswami A., Asefa T., Guo H., Biradar V. A., Peng D.-L., Zboril R. and Varma S. R., Core–shellnanoparticles: synthesisandapplicationsincatalysisandelectrocatalysis, *TheRoyalSocietyofChemistry*, (2015).
9. Kalele S., Gosavi S. W., Urban J. and Kulkarni S. K., Nanoshell particles: synthesis, properties andApplications, *CurrentScience*, 91, (2006), 1038-1052.
10. Chaudhuri R. G. and Paria S., Core/Shell Nanoparticles: Classes, Properties, Synthesis Mechanisms, Characterization, andApplications, *Chem. Rev.* 112, (2012), 2373–2433.
11. Rodriguez-Gonzalez B., Burrows A., Watanabe M., Kiely C. J.; Liz Marzan L. M; *J. Mater. Chem.* 2005, 15, 1755.
12. Jalaja K., Deboki N., Subhas C. K., Nirmala R. J., Potential of electrospun core–shell structured gelatin–chitosannanofibers for biomedical applications, *Carbohydrate Polymers*, 136, (2016), 1098–1107.
13. Venditti I., Hassanein F.T., Fratoddi I., Fontana L., Battocchio C., Rinaldi F., Carafa M., Marianecchi C., Diociaiuti M., Agostinelli E., Cametti C., Russo V.M., Bioconjugation of gold- polymer core–shell nanoparticles with bovine serum amine oxidase for biomedical applications, *Colloids Surf. B*, 134, (2015), 314–321.
14. Π. Πίσσης, Κ. Ράπτης, Κεραμικά-Διηλεκτρικά, εκδόσεις ΕΜΠ, Αθήνα 2003
15. Andreani, T., Souza, A. L. R. de, Kiill, C. P., Lorenzón, E. N., Fangueiro, J. F., Calpena, A. C., Souto, E. B., 2014. Preparation and characterization of PEGcoated silica nanoparticles for oral insulin delivery. *Int J Pharmaceutics*, 473(1- 2), 627–635.

16. J.-Y. Hong, E. Kwon and J. Jang, Fabrication of silica/polythiophene core/shell nanospheres and their electrorheological fluid application, *Soft Matter*, 2..9, 5, 951
17. Dong A., Huang J., Lan S., Wang T., Xiao L., Wang W., Zhao T., Zheng X., Liu F., Gao G., Chen Y., 2011, Synthesis of N-halamine-functionalized silica–polymer core–shell nanoparticles and their enhanced antibacterial activity, *Nanotechnology*, 22 (29)
18. Song J., Song H., Kong H., Hong J.-Y., Jang J., (2011), Fabrication of silica/polyrhodanine core/shell nanoparticles and their antibacterial properties, *Journal of Materials Chemistry*, 21 (48)
19. Jasiorski, M., Leszkiewicz, A., Brzeziński, S. et al. Textile with silver silica spheres: its antimicrobial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* . *J Sol-Gel SciTechnol* **51**, 330–334 (2009)
20. Gu G., Xu J., Wu Y., Chen M., Wu L., Synthesis and Antibacterial property of hollow SiO₂/Ag nanocomposite spheres, *Journal of colloid and Interface science* 359 (2011) 327-333
21. Αναστασοπούλου Ι., Δρίτσα Β., Θεοφανίδης Θ., Υφαντής Δ., Υφαντής Κ. , “Βιοϋλικά-Εφαρμογές”, 2015
22. Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lenons JE (2004), “Biomaterials science: A Multidisciplinary endeavor” in *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, Ratner BD, Academic Press, p. 430-438.
23. Cooke FW (2004), “Bulk Properties of Materials” in *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, Ratner BD, Academic Press, p. 23-31.
24. Ratner BD, Hoffman AS (2004), “Non-fouling Surfaces” in *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, Ratner BD, Academic Press, p. 197-200.
25. Costerton JW, Stoodley P, Shirtliff ME, Pasmore M, Cook G, "Biofilms, biomaterials and device-related infections," in *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, Ratner BD, Academic Press, p. 67-79.
26. Hench LL, Best S, *Ceramics, Glasses and Glass-Ceramics*, 2004.
27. Brunski BJ, *Metals* 2011.
28. Cooper SL, Visser SA, Hergenrother RW, Lamba NK, *Polymers*, 2004.
29. Migliaresi C, Alexander H, 2004.
30. Joon B. Park, Young Kon Kim, “Metallic Biomaterials”, In. “The Biomedical Engineering Handbook: Second Edition”
31. G. Jeronimidis, “Structure-Property Relationships in Biological Materials” in *Structural Biological Materials: Design and Structure-Property Relationships*, edited by Manuel Elices. (Pergamon, 2000), pp.3-16.
32. Mohamed E. Abd El-Hack , Mohamed T. El-Saadony , Manal E. Shafi , Nidal M. Zaber mawi , Muhammad Arif , Gaber Elsaber Batiha , , Asmaa F. Khafaga , Yasmina M. Abd El-Hakim , Adham A. Al-Sagheer , “Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review”, *International Journal of Biological Macromolecules* 164 (2020) 2726-2744.

33. Ali A., Ahmed S., A review on chitosan and its nanocomposites in drug delivery, *International Journal of Biological Macromolecules* 109 (2018) 273-286).
34. Anamika R. Pandey & Upasana S. Sing & Munira Momin & Chintan Bhavsar, Chitosan: Application in tissue engineering and skin grafting, *J Polym Res*, (2016).
35. T.J. Gutiérrez, Chitosan applications for the food industry, in: *Chitosan*, John Wiley & Sons, Inc., 2017, pp. 183–232.
36. Florence Croisier, Christine Jérôme, Chitosan-based biomaterials for tissue engineering, *European Polymer Journal*, pp 780-792, (2013).
37. Sheeny K. LanLevengood and Miqin Zhang, Chitosan-based scaffolds for bone tissue engineering, *J Mater Chem*, (2014).
38. A. Muxika, A. Etxabide, J. Uranga, P. Guerrero, K. de la Caba, Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications, *International Journal of Biological Macromolecules*, pp 1358-1368, (2017).
39. Anupriya Baranwal, Ashutosh Kumar, A. Priyadharshini, Gopi Suresh Oggu, Ira Bhatnagar, Ananya Srivastava, Pranjal Chandra, Chitosan: An undisputed bio-fabrication material for tissue engineering and bio-sensing applications, *International Journal of Biological Macromolecules*, pp 110-123, (2018).
40. Hu Q, Li B, Wang M, Shen J. Preparation and characterization of biodegradable chitosan/hydroxyapatite nanocomposite rods via in situ hybridization: a potential material as internal fixation of bone fracture. *Biomaterials* 2004;25:779–85
41. Stone CA, Wright H, Devaraj VS, Clarke T, Powell R, Healing at skin graft donor sites dressed with chitosan *Brit J Plast Surg* 53:601–606, (2000).
42. Marguerite Rinaudo, “Chitin and chitosan: Properties and applications”, *Prog. Polym. Sci.* 31 (2006) 603–632.
43. Anisha A. D’souza & Ranjita Shegokar, Polyethylene glycol (PEG): a versatile polymer for pharmaceutical applications, *Expert Opinion on Drug Delivery*, (2016).
44. M.J. Roberts, M.D. Bentley and J.M. Harris, Chemistry for peptide and protein PEGylation, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012, S. Zalipsky, Chemistry of polyethylene glycol conjugates with biologically active molecules, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1995.
45. Norma A. Alcantar, Eray S. Aydil, Jacob N. Israelachvili, Polyethylene glycol-coated biocompatible surfaces, 1999.
46. Alekseev, V.L., Kelberg, E.A., Bronnikov, S.V. and Evmenenko G.A., *Polym. Sci., Ser. B*, 2001, 43: 281 / Alekseev, V.L., Kelberg, E.A., Evmenenko, G.A. and Bronnikov, S.V., *Polym. Eng. Sci.*, 2000, 40: 1211).
47. Zhang, M., Li, X.H., Gong, Y.D., Zhao, N.M. and Zhang, X.F., *Biomaterials*, 2002, 23: 2641).
48. Kolhe, P. and Kannan, R.M., *Biomacromolecules*, 2003, 4: 173)
49. Yates C.R., Hayes W., Synthesis and applications of hyperbranched polymers, *Eur. Polym. J.*, 40, (2004), 1257–1281 / Seiler M., Hyperbranched polymers:

- Phase behavior and new applications in the field of chemical engineering, *Fluid Phase Equilib.*, 241, (2006), 155–174
50. A.V. Harpe., H. Petersen, Y. Li, T. Kissel, Characterization of commercially available and synthesized polyethylenimines for gene delivery, *J. Contr. Release*, 69, 2000, 309-322. / M. Kramer, J.F. Stumbÿ, G. Grimm, B. Kaufmann, U. Kruger, M. Weber and R. Haag, *ChemBioChem*, 5, 2004, 1081-1087.
 51. Pandey P.A., Sawant K.K., Polyethylenimine: A versatile, multifunctional non – viral vector for nucleic acid delivery, *Mater. Sci. Eng. C.*, 68, (2016), 904 – 918.
 52. M. Sivakumar, I. Manjubala, K.P. Rao, Preparation, characterization and in-vitro release of gentamicin from carolline hydroxyapatite-chitosan composite microspheres, *Carbohydr. Polym.*, 49 (2002) 281-288.
 53. Nelson Monteiro, Margarida Martins, Albino Martins, Nuno A. Fonseca, João N. Moreira, Rui L. Reis, Nuno M. Neves, Antibacterial activity of chitosan nanofiber meshes with liposomes immobilized releasing gentamicin, *ActaBiomaterialia* 18 (2015) 196-205.
 54. Yang Liu, Peihong Ji, HuilinLv, Yong Qin, Linhong Deng, Gentamicin modified chitosan film with improved antibacterial property and cell biocompatibility, *International Journal of Biological Macromolecules* 98 (2017) 550-556
 55. Stefano Perni, Kerstin Martini-Gilching, PolinaProkopovich, Controlling release kinetics of gentamicin from silica nano-carriers, *Colloids and Surfaces A* 541 (2018) 211-221.
 56. Arkas M., Tsiourvas D., Organic/inorganic hybrid nanospheres based on hyperbranchedpoly(ethylenimine) encapsulated into silica for sorption of toxic metal ions and polycyclic aromatic hydrocarbons from water, *J. Hazard. Mater.*, 170, (2009), 35-42.
 57. Μανδραπύλιας, Παναγιώτης. Μετασχηματισμοί φάσεων και συσχέτιση μηχανικών ιδιοτήτων σε συγκολλημέναυπερκράματαNi. ΜηχανικώνΜεταλλείωνΜεταλλουργών, Ε.Μ.Π. 2015. Διπλωματικήεργασία.
 58. R. F. Egerton, 2005, *Physical Principles of Electron Microscopy - An Introduction to TEM, SEM, and AEM*, Springer.
 59. Γ. Δ . Χρυσουλάκης και Δ. Ι. Παντελής, 2008, *Επιστήμη και Τεχνολογία των Μεταλλικών Υλικών*, Αθήνα: Παπασωτηρίου.
 60. G. F. Vander Voort, 1998, Ed., *ASM Handbook - Volume 9: Metallography and Microstructure*, ASM International
 61. Inkson, B.J. *Scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM) for materials characterization. Materials Characterization Using Nondestructive Evaluation (NDE) Methods.* s.l. :Woodhead Publishing, 2016, pp. 17-43.
 62. Egerton, Ray F. *Physical Principles of Electron Microscopy.* s.l. : Springer, 2005. pp. 125-151.
 63. Instrument Database:JEOL - JSM-6380LV. [www.speciation.net. \[Ηλεκτρονικό\] http://www.speciation.net/Database/Instruments/JEOL/JSM6380LV-;i21](http://www.speciation.net/Database/Instruments/JEOL/JSM6380LV-;i21)

64. Κυριακίδης Γ. και Μπίνας Β., Εισαγωγή στην Ηλεκτρονική Μικροσκοπία, Ηράκλειο 2014
65. Μαρία Όξενκιουν - Πετροπούλου, Α. Παππά. ΦΥΣΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ - ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ. Αθήνα : ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΕΜΠ, 2009.
66. Όξενκιουν–Πετροπούλου Μ., Φασματομετρικές Μέθοδοι Ανάλυσης, Β΄ Έκδοση, Εκδόσεις Συμμετρία, Αθήνα, (2008), 269-279, 321-347.
67. Κίτσου Ιωάννα, Υψηλής ακρίβειας σύνθεση υβριδικών κεραμικών νανοκαταλυτών για περιβαλλοντικές εφαρμογές, Διδακτορική Διατριβή, Αθήνα, 2018.
68. Tsiourvas D., Tsetsekou A., Arkas M., Diplas S., Mastrogianni E., Covalent attachment of a bioactive hyperbranched polymeric layer to titanium surface for the biomimetic growth of calcium phosphates, *J Mater Sci: Mater Med* (2011) 22:85-96).
69. Altinisik A., Yurdakoc K., Synthesis, Characterization, and Enzymatic Degradation of Chitosan/PEG Hydrogel Films, *J. Appl. Polym. Sci.*, 122, (2011), 1556–1563.
70. Biao L., Tan S., Wang Y., Guo X., Fu Y., Xu F., Zu Y., Liu Z., Synthesis, characterization and antibacterial study on the chitosan-functionalized Ag nanoparticles, *Mater. Sci. Eng. C*, 76, (2017), 73–80.