



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ Ι: ΤΟΜΕΑΣ ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ
ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΠΡΑΣΙΝΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΚΑΙΝΟΤΟΜΩΝ
ΥΔΡΟΓΕΛΩΝ ΜΕ ΕΝΣΩΜΑΤΩΜΕΝΑ ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ ΕΓΚΛΕΙΣΜΕΝΑ
ΣΕ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ**

Διπλωματική Εργασία

Καλογεροπούλου Φλώρα

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:

Δέτση Αναστασία

Αθήνα, Σεπτέμβριος 2021

Πρόλογος

Η παρούσα Διπλωματική Εργασία εκπονήθηκε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2020-2021 στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσοβίου Πολυτεχνείου, υπό την επίβλεψη της Καθηγήτριας κ. Αναστασίας Δέτση.

Θα ήθελα πρώτα από όλα να ευχαριστήσω θερμά την κ. Αναστασία Δέτση για την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος και την καθοδήγησή της καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας. Επίσης, δε θα μπορούσα να παραλείψω να ευχαριστήσω την Υποψήφια Διδάκτορα Ιωάννα Πιττερού για την πολύτιμη βοήθειά της, τις συμβουλές της και την άψογη συνεργασία μας.

Περίληψη

Τα αιθέρια έλαια (EOs) είναι μίγματα πολλαπλών συστατικών, που λαμβάνονται συνήθως από αρωματικά φυτά, τα οποία παρουσιάζουν ένα μεγάλο εύρος φαρμακολογικών ιδιοτήτων, βρίσκοντας εφαρμογή σε πολλούς διαφορετικούς τομείς, συμπεριλαμβανομένων των φαρμάκων, των τροφίμων και των καλλυντικών. Είναι διαλυτά σε αλκοόλες, μη πολικούς ή ασθενώς πολικούς διαλύτες, κεριά και έλαια, αλλά μόνο ελαφρώς διαλυτά στο νερό. Τα περισσότερα είναι άχρωμα ή ανοιχτό κίτρινο και διαθέτουν ισχυρή αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική δράση. Τα EOs της λεβάντας και της μέντας είναι τα πιο γνωστά από τα φαρμακευτικά φυτά και έχουν αναφερθεί ότι έχουν αγχολυτικά, ηρεμιστικά, αντιμικροβιακά, αντιοξειδωτικά αποτελέσματα και δρουν κατά της παχυσαρκίας.

Στόχος της διπλωματικής εργασίας ήταν η σύνθεση υδρογελών αλγινικού που θα έχουν την ικανότητα να προσροφούν διατροφικά λιπίδια και νερό με απώτερο σκοπό τη χρήση τους σε διατροφικά συμπληρώματα για τον έλεγχο του σωματικού βάρους. Στις υδρογέλες ενσωματώθηκαν τα αιθέρια έλαια της μέντας ή της λεβάντας, εγκλεισμένα σε νανοσωματίδια χιτοζάνης (βιοπολυμερές με αποδεδειγμένη δράση στην προσρόφηση λιπιδίων και νερού).

Αρχικά συντέθηκαν τα νανοσωματίδια χιτοζάνης (CS-NP) με εγκλεισμένα αιθέρια έλαια λεβάντας και μέντας χρησιμοποιώντας τον Φυσικό Βαθώς Ευτηκτικό Διαλύτη (NADES) χλωριούχου χολίνης /ασκορβικού οξέος ως μέσο διαλυτοποίησης και πηκτωμάτωσης της χιτοζάνης. Στη συνέχεια, τα νανοσωματίδια ενσωματώθηκαν σε υδρογέλες αλγινικού που διασυνδέθηκαν με CaCl_2 . Τα NPs χαρακτηρίστηκαν χρησιμοποιώντας την μέθοδο της δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS), φασματομετρία υπερύθρου (FT-IR). Τα αιθέρια έλαια αξιολογήθηκαν με την μέθοδο της αέριας φασματομετρίας (GC) και της φασματομετρίας μάζας (MS).

Με στόχο την βελτιστοποίηση της σύστασης των υδρογελών, πραγματοποιήθηκε πειραματικός σχεδιασμός (Design of Experiment, DoE) τύπου Box-Behnken τριών επιπέδων για τη βελτιστοποίηση της ικανότητας διόγκωσης (Y_1), της ικανότητας συγκράτησης νερού (Y_2) και της ικανότητας απορρόφησης ελαίου (Y_3), τα οποία ορίστηκαν ως εξαρτημένες μεταβλητές. Οι παράγοντες που επιλέχθηκαν ως ανεξάρτητες μεταβλητές του μοντέλου είναι η περιεκτικότητα του NADES (%v/v) (X_1), η περιεκτικότητα της χιτοζάνης (%w/v) (X_2) και τέλος, η περιεκτικότητα σε αλγινικό (%w/v) (X_3).

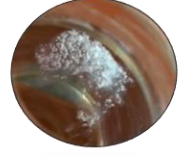
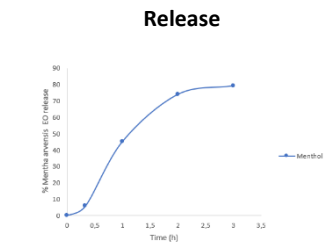
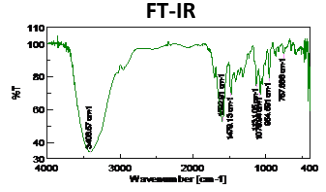
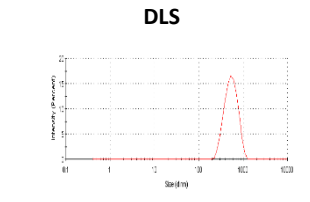
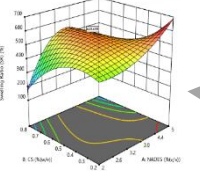
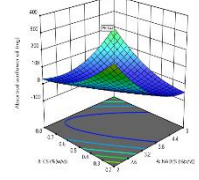
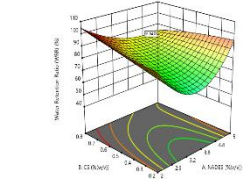
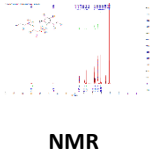
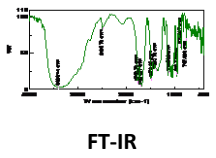
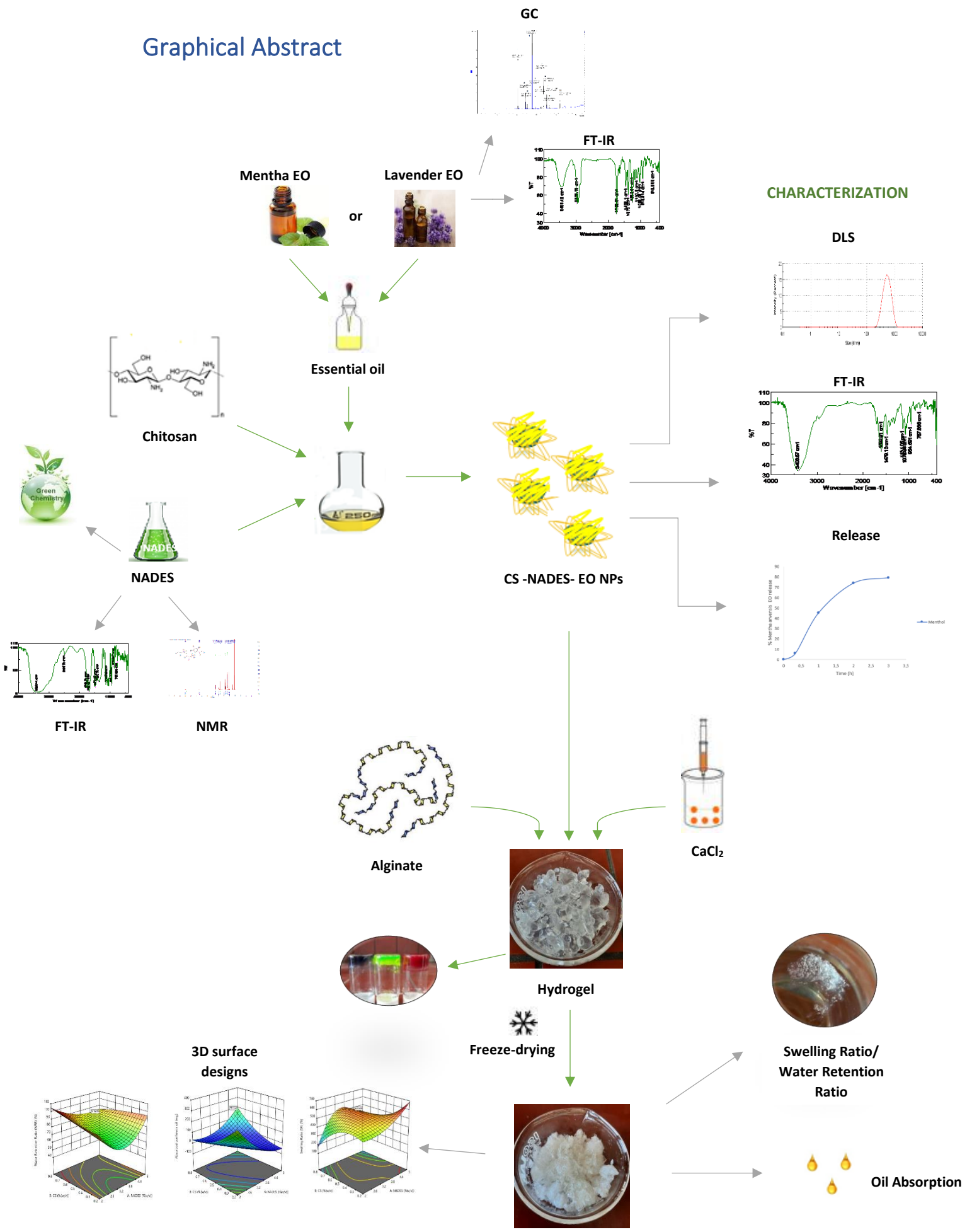
Οι αποκρίσεις μελετήθηκαν σε διάλυμα υδροχλωρικού οξέος (HCl) σε $\text{pH} = 1.2$. Ειδικότερα, το ποσοστό διόγκωσης παρέμεινε πάνω από 80% μετά από διατήρηση του διογκωμένου δείγματος στο διάλυμα HCl για 4 ώρες, έχοντας τις μέγιστες τιμές στα 10 min και 2 h. Επιπλέον, η υδρογέλη πέτυχε μεγάλο ποσοστό διόγκωσης, το οποίο ξεπερνά τα 995 g/g σε 10 λεπτά, γεγονός που ευνοεί την εφαρμογή ως συμπλήρωμα κατά της παχυσαρκίας. Επιπρόσθετα, διαπιστώθηκε ότι τα NPs της χιτοζάνης μπορούν να δεσμεύσουν λιπίδια σε όξινο περιβάλλον ($\text{pH} = 1.2$), το οποίο

προσομοιάζει με αυτό του γαστρικού περιβάλλοντος. Η βέλτιστη υδρογέλη έδειξε καλή απορρόφηση ελαίου, όπου 200 mg της υδρογέλης απορρόφησαν έως 101.9 mg ελαίου σε όξινο περιβάλλον (pH = 1.2).

Λέξεις κλειδιά: Φυσιικοί Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες, αιθέρια έλαια, λεβάντα, μέντα, νανοσωματίδια, χιτοζάνη, υδρογέλη, ικανότητα διόγκωσης, απορρόφηση ελαίου, Πειραματικός Σχεδιασμός.

Επιστημονικό πεδίο: Πράσινη Χημεία, Φαρμακευτική Χημεία, Νανοτεχνολογία.

Graphical Abstract



Abstract

Essential Oils (EOs) are multi-component mixtures, obtained usually from aromatic plants, which present a wide array of pharmacological properties, finding application in many different fields, including medicine, food and cosmetics. They are soluble in alcohol, non-polar or weakly polar solvents, waxes and oils, but are only slightly soluble in water. Most are colorless or pale yellow and possess strong anti-microbial and antioxidant activities. Lavender and Mentha EOs are the most known of the medicinal plants, and have been reported to have anti-stress, sedative, antimicrobial, antioxidant and anti-obesity effects.

The aim of the present diploma thesis was to synthesize alginate hydrogels with an increased capacity to absorb dietary lipids and water in order to be appropriate for use as food supplements for body weight control. The mentha and lavender essential oils were incorporated in the hydrogels encapsulated in chitosan nanoparticles. Chitosan was chosen as it is a biopolymer with established applications for weight control.

Initially, lavender and mentha EOs were encapsulated in chitosan nanoparticles (CS-NPs) using the Choline Chloride / Ascorbic Acid Natural Deep Eutectic Solvent (NADES) as a dissolution and gelling agent for chitosan. The nanoparticles were incorporated into alginate hydrogels crosslinked with CaCl_2 . The NPs were characterized using Dynamic Light Scattering (DLS), Fourier Transform InfraRed Spectroscopy (FT-IR) and Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS).

A three-factor, three-level Box-Behnken design was used to optimize the independent variables, Swelling Ratio (X_1), Retention Ratio (X_2), and oil absorption (X_3). The dependent variables selected were NADES concentration (Y_1), Chitosan concentration (Y_2) and Alginate content (Y_3), using the Design Expert Program.

Swelling ratio, retention ratio and oil absorption were measured in the obtained hydrogel in a hydrochloric acid solution at $\text{pH}=1.2$. The retention ratio remained over 80% after keeping the swollen sample in the HCl solution for 4 hours, reaching the maximum values at 10 minutes and 2 hours. Furthermore, the hydrogel achieved a high swelling ratio over 995 g/g at 10 minutes, which gives high potential for the application as a supplement against obesity. Additionally, we confirmed that chitosan NPs can emulsify lipids in an acidic environment ($\text{pH}=1.2$), simulating the gastric environment. The obtained hydrogel showed good oil absorption, as 200 mg of the hydrogel absorbed up to 101.9 mg of oil in acidic environment ($\text{pH}=1.2$).

Key words: Natural Deep Eutectic Solvents (NADES), Chitosan, Essential Oils, lavender, mentha, nanoparticles, hydrogels, swelling ratio, oil absorption, Box-Behnken Design (BBD).

Scientific field: Green Chemistry, Pharmaceutical Chemistry, Nanotechnology.

Περιεχόμενα

Πρόλογος.....	2
Περίληψη.....	3
Graphical Abstract.....	5
Abstract	6
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	10
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ	11
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ.....	12
Πίνακας Συνομογραφιών.....	14
1 Εισαγωγή	15
1.1 Εισαγωγή στην Πράσινη Χημεία	15
1.1.1 Εισαγωγή στην Πράσινη Χημεία	15
1.1.2 Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (Deep Eutectic Solvents, DES)	16
1.1.3 Φυσικοί Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (Natural Deep Eutectic Solvents, NaDES)	17
1.1.4 Φυσικοχημικές Ιδιότητες των DES και NADES	18
1.1.5 Εφαρμογές των DES και NADES	19
1.1.6 Μέθοδοι παρασκευής των NADES	20
1.2 Χιτοζάνη (Chitosan)	20
1.2.1 Νανοσωματίδια χιτοζάνης ως φορέας φαρμάκων	22
1.2.2 Παρασκευή νανοσωματιδίων χιτοζάνης.....	22
1.2.3 Εφαρμογή της χιτοζάνης κατά της παχυσαρκίας.....	22
1.3 Αιθέρια Έλαια	23
1.3.1 Αιθέριο έλαιο λεβάντας	23
1.3.2 Αιθέριο έλαιο μέντας	26
1.4 Σχηματισμός υδρογελών	28
1.4.1 Αλγινικό Νάτριο.....	29
1.4.2 Υδρογέλες Αλγινικού	30
1.4.3 Εφαρμογές Υδρογελών Αλγινικού Οξέος	31
1.4.4 Μηχανικές Ιδιότητες Υδρογελών Αλγινικού Οξέος	32
1.4.5 Αποικοδόμηση Υδρογελών Αλγινικού Οξέος	33
1.5 Νανοσυστήματα.....	33
1.6 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων	35
1.6.1 Μέθοδος Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (Dynamic Light Scattering, DLS).....	35
1.6.2 Φασματομετρία υπέρυθρου (FT-IR)	37

1.7	Κινητική Απελευθέρωσης.....	38
1.7.1	Μηδενικής τάξης (Zero order).....	39
1.7.2	Πρώτης τάξης (Frist order)	39
1.7.3	Μοντέλο Higuchi	40
1.7.4	Μοντέλο Korsmeyer-Peppas	41
1.8	Πειραματικός Σχεδιασμός (Design of Experiment, DoE).....	42
1.8.1	Πειραματικός Σχεδιασμός Box-Behnken.....	43
2	Πειραματικό Μέρος	45
2.1	Σκοπός	45
2.2	Όργανα, συσκευές και αντιδραστήρια	45
2.3	Παρασκευή του NADES	46
2.4	Δομικός Χαρακτηρισμός NADES.....	47
2.4.1	Πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός (NMR)	47
2.4.2	Φασματοσκοπία υπέρυθρου FT-IR	48
2.5	Χαρακτηρισμός αιθερίων ελαίων	48
2.5.1	Ανάλυση μέσω Αεριοχρωματογραφίας (GC) σε συνδυασμό με Φασματομετρία Ατομικών Μαζών (MS).....	48
2.5.2	Δομικός χαρακτηρισμός μέσω Υπέρυθρης φασματομετρίας μετασχηματισμού Fourier (FT-IR)	48
2.6	Παρασκευή Νανοσωματιδίων Χιτοζάνης ως φορείς αιθερίων ελαίων.....	49
2.6.1	Μέθοδος σχηματισμού νανοσωματιδίων.....	49
2.6.2	Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων	50
2.7	Παρασκευή Υδρογελών με ενσωματωμένα τα νανοσωματίδια χιτοζάνης	51
2.7.1	Σχηματισμός υδρογελών.....	51
2.7.2	Χαρακτηρισμός υδρογελών	52
2.7.3	Προκαταρκτικά πειράματα	55
2.7.4	Πειραματικός Σχεδιασμός – Design of Experiments (DoE)	56
2.7.5	Προσδιορισμός της βέλτιστης υδρογέλης	57
3	Αποτελέσματα.....	60
3.1	Χημική σύσταση αιθερίων ελαίων μέσω αέριας χρωματογραφίας - φασματομετρίας μάζας.....	60
3.1.1	Αιθέριο έλαιο λεβάντας – Lavender Essential Oil	60
3.1.2	Αιθέριο έλαιο μέντας – Mentha Essential Oil	67
3.2	Χαρακτηρισμός αιθερίων ελαίων μέσω φασματομετρίας υπερύθρου (FT-IR).....	70
3.2.1	Αιθέριο έλαιο λεβάντας	70
3.2.2	Αιθέριο έλαιο μέντας	71

3.3	Χαρακτηρισμός του NADES.....	71
3.3.1	Φασματομετρία υπέρυθρου FT-IR.....	71
3.3.2	Φάσμα Πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)	72
3.4	Χαρακτηρισμός Χιτοζάνης μέσω φασματομετρίας υπέρυθρου (FT-IR)	73
3.5	Χαρακτηρισμός Νανοσωματιδίων	73
3.5.1	Προσδιορισμός μεγέθους (size), δείκτη πολυδιασποράς (Pdl) και ζ-δυναμικού (z-potential).....	73
3.5.2	Μελέτη δομής μέσω Υπέρυθρης φασματοσκοπίας μετασχηματισμού Fourier (FT-IR) 74	
3.5.3	Μελέτη Αποδέσμευσης του αιθερίου ελαίου μέντας	78
3.6	Πειραματικός σχεδιασμός.....	80
3.6.1	Προσδιορισμός μοντέλου πρόβλεψης αποκρίσεων	80
3.6.2	Βελτιστοποίηση του μοντέλου – Βελτιστοποίηση της σύστασης.....	87
3.7	Αξιολόγηση των αποκρίσεων της υδρογέλης με την βέλτιστη σύσταση	93
3.7.1	Αποτελέσματα της μελέτης διόγκωσης, συγκράτησης νερού των υδρογελών (swelling ratio-water retention ratio) και απορρόφησης ελαίου (oil absorption)	93
3.8	Επιβεβαίωση του μοντέλου (Confirmation Runs).....	102
3.9	Χαρακτηρισμός Υδρογελών μέσω φασματομετρίας υπέρυθρου (FT-IR)	103
3.9.1	Υδρογέλη αλγινικού με εσσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών χωρίς έλαιο (blank)	103
3.9.2	Υδρογέλη αλγινικού με εσσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με εγκλεισμένο αιθέριο έλαιο λεβάντας	104
3.9.3	Υδρογέλη αλγινικού με εσσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με εγκλεισμένο αιθέριο έλαιο μέντας	105
4	Συμπεράσματα	107
5	Προτάσεις για το μέλλον	109
6	Παράρτημα Διαγραμμάτων	110
7	Συμμετοχή σε Διεθνή Συνέδρια	112
8	Βιβλιογραφία.....	113

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1-1 Οι Δώδεκα Αρχές της Πράσινης Χημείας	16
Εικόνα 1-2 Ευτηκτικό σημείο σε ένα διάγραμμα φάσης δύο συστατικών.....	17
Εικόνα 1-3Η χλωριούχος χολίνη (ChCl) και το ασκορβικό οξύ (Vc) ως πρώτες ύλες και ο σχηματισμός του NADES (ChCl:Vc).....	18
Εικόνα 1-4 Χημική δομή της χιτοζάνης	21
Εικόνα 1-5 Χημική δομή οξικού λιναλύλιου	24
Εικόνα 1-6 Χημικός τύπος και 3D αναπαράσταση του μορίου της λιναλοόλης.....	25
Εικόνα 1-7 Χημική δομή του β-οκιμενίου-cis.....	25
Εικόνα 1-8 Χημική δομή του β-οκιμενίου-trans	25
Εικόνα 1-9 Χημικός τύπος και 3D απεικόνιση του μορίου της 4-τερπινεόλης.....	26
Εικόνα 1-10 Χημικός τύπος και 3D απεικόνιση του μορίου της μενθόλης	27
Εικόνα 1-11Χημικός τύπος λεμονενίου.....	27
Εικόνα 1-12 Χημικός τύπος του οξικού μενθυλίου	28
Εικόνα 1-13 Χημικός τύπος του αλγινικού.....	29
Εικόνα 1-14 Ιοντικές γέφυρες μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων	30
Εικόνα 1-15 α) Αλγινικός πολυσακχαρίτης που αποτελείται από δύο γουλουρονικό οξύ και δύο υπολείμματα μανουρονικού οξέος με (1,4) -συνδέσεις. β) Οι πηκτές PAG παράγονται από πολυ (γουλουρονικό) (1), το οποίο οξειδώνεται (2) και ομοιοπολικώς συνδέεται με AAD (3). γ) Ως εναλλακτική λύση στο AAD, οι PEG-διαμίνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως διασταυρωτές.....	31
Εικόνα 1-16 Τύποι νανοσωματιδίων.....	34
Εικόνα 1-17 Πειραματική διάταξη της μεθόδου της δυναμικής σκέδασης φωτός.....	35
Εικόνα 1-18 Πρότυπα προφίλ απελευθέρωσης φαρμάκων [γκρι καμπύλη: απότομη απελευθέρωση και ταχεία φάση II, μωβ καμπύλη: τριφασική απελευθέρωση με σύντομη φάση II, πορτοκαλί καμπύλη: απότομη απελευθέρωση μηδενικής τάξης, μπλε καμπύλη: τριφασική απελευθέρωση, μαύρη καμπύλη: διφασική απελευθέρωση].....	38
Εικόνα 1-19 Ο σχεδιασμός Box-Behnken θέτει σημεία στο μέσο κάθε άκρου ενός πολυδιάστατου κύβου και στο κεντρικό σημείο εις τριπλούν	44
Εικόνα 2-1 Πειραματική διάταξη κατά την παρασκευή του NADES και το σχηματισμένο NADES.....	47
Εικόνα 2-2 Μέθοδος παρασκευής νανοσωματιδίων.....	49
Εικόνα 2-5 Νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο μέντας.....	50
Εικόνα 2-5 Νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο λεβάντας.....	50
Εικόνα 2-5 Νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο λεβάντας μετά την λυοφιλοποίηση	50
Εικόνα 2-7 Υδρογέλη πριν την λυοφιλοποίηση	52
Εικόνα 2-7 Υδρογέλη πριν την λυοφιλοποίηση.....	52
Εικόνα 2-8 Διογκωμένη υδρογέλη μέσα σε διάλυμα HCl.....	53
Εικόνα 2-11 Πειραματική διαδικασία με χρησιμοποιούμενο λάδι το ηλιέλαιο	54
Εικόνα 2-11 Πειραματική διαδικασία με χρησιμοποιούμενο λάδι το αραβοσιτέλαιο	54
Εικόνα 2-11 Πειραματική διαδικασία με χρησιμοποιούμενο λάδι το ελαιόλαδο	54
Εικόνα 2-12 Υδρογέλη με απορροφημένο λάδι.....	55
Εικόνα 2-14 Υδρογέλη πριν την λυοφιλοποίηση	56
Εικόνα 2-14 Υδρογέλη μετά την λυοφιλοποίηση	56

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 2-1 Πίνακας οργάνων και συσκευών	46
Πίνακας 2-2 Πίνακας αντιδραστηρίων.....	46
Πίνακας 1-1 Πίνακας συασατικών των NADES.....	47
Πίνακας 2-3 Ανεξάρτητες μεταβλητές πειραματικού σχεδιασμού	56
Πίνακας 2-4 Εύρη τιμών ανεξάρτητων μεταβλητών.....	57
Πίνακας 2-5 Δεδομένα πειραματικού σχεδιασμού	57
Πίνακας 2-6 Εξαρτημένες μεταβλητές του πειραματικού σχεδιασμού	58
Πίνακας 2-7 Αποτελέσματα πειραματικού σχεδιασμού.....	58
Πίνακας 2-8 Βέλτιστη σύσταση της υδρογέλης	58
Πίνακας 3-1Ενώσεις που περιέχονται στο αιθέριο έλαιο λεβάντας σύμφωνα με το φάσμα GC	61
Πίνακας 3-2 Ενώσεις που περιέχονται στο αιθέριο έλαιο μέντας σύμφωνα με το φάσμα GC	68
Πίνακας 3-3 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών	74
Πίνακας 3-4 Συντελεστές R^2 καθενός από τα μοντέλα απελευθέρωσης.....	78
Πίνακας 3-5 Αποτελέσματα ANOVA για το επιλεγμένο μοντέλο που περιγράφει την 1η απόκριση (ικανότητα διόγκωσης).....	81
Πίνακας 3-6 Αποτελέσματα σχετικά με την προσαρμογή στο μοντέλο που περιγράφει την 1η απόκριση	81
Πίνακας 3-7 Αποτελέσματα ANOVA για το επιλεγμένο μοντέλο που περιγράφει την 2η απόκριση (ικανότητα συγκράτησης νερού).....	83
Πίνακας 3-8 Αποτελέσματα σχετικά με την προσαρμογή στο μοντέλο που περιγράφει την 2η απόκριση	84
Πίνακας 3-9 Αποτελέσματα ANOVA για το επιλεγμένο μοντέλο που περιγράφει την 3η απόκριση (απορρόφηση ελαίου).....	85
Πίνακας 3-10 Αποτελέσματα σχετικά με την προσαρμογή στο μοντέλο που περιγράφει την 3η απόκριση	86
Πίνακας 3-11 Όρια τιμών εξαρτημένων και ανεξάρτητων μεταβλητών για την εύρεση της βέλτιστης σύστασης της υδρογέλης	87
Πίνακας 3-12 Αποτελέσματα βελτιστοποίησης της σύστασης της υδρογέλης	87
Πίνακας 3-13 Αποτελέσματα απορρόφησης ελαίου	94
Πίνακας 3-14 Αποτελέσματα απορρόφησης ελαίου	96
Πίνακας 3-15 Αποτελέσματα απορρόφησης ελαίου	97
Πίνακας 3-16 Αποτελέσματα απορρόφησης ελαίου	99
Πίνακας 3-17 Αποτελέσματα απορρόφησης ελαίου	100
Πίνακας 3-18 Αποτελέσματα απορρόφησης ελαίου	102
Πίνακας 3-19 Αποτελέσματα επαναληπτικών πειραμάτων	103

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

Γράφημα 3-1 Φάσμα GC του αιθερίου ελαίου λεβάντας.....	60
Γράφημα 3-2 Φάσμα MS της λιναλοόλης.....	62
Γράφημα 3-3 Φάσμα MS της τερπινενόλης-4.....	62
Γράφημα 3-4 Φάσμα MS της αλφα-τερπινεόλης	63
Γράφημα 3-5 Φάσμα MS του οξικού λιναλύλιου	63
Γράφημα 3-6 Φάσμα MS του τρανς- β-οκιμένιου	64
Γράφημα 3-7 Φάσμα MS του οξικού φαινυλεστέρα	64
Γράφημα 3-8 Φάσμα MS του οξικού γερανυλίου	65
Γράφημα 3-9 Φάσμα MS της γερανιόλης	65
Γράφημα 3-10 Φάσμα MS του βήτα-καρυοφυλλένιου	66
Γράφημα 3-11 Φάσμα MS του φαρνεσένιου.....	66
Γράφημα 3-12 Φάσμα GC του αιθερίου ελαίου μέντας.....	67
Γράφημα 3-13 Φάσμα MS του λεμονένιου	68
Γράφημα 3-14 Φάσμα MS της μενθόλης.....	69
Γράφημα 3-15 Φάσμα MS του οξικού μενθυλίου	69
Γράφημα 3-16 Φάσμα FT-IR του αιθερίου ελαίου λεβάντας	70
Γράφημα 3-17 Φάσμα FT-IR του αιθερίου ελαίου μέντας	71
Γράφημα 3-18 Φάσμα FT-IR του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη ChCl:AA.....	72
Γράφημα 3-20 Φάσμα FT-IR της χιτοζάνης	73
Γράφημα 3-21 Φάσμα FT-IR των νανοσωματιδίων χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (blank)	75
Γράφημα 3-22 Φάσμα FT-IR νανοσωματιδίων χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο λεβάντας.....	76
Γράφημα 3-23 Φάσμα FT-IR νανοσωματιδίων χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο μέντας.....	77
Γράφημα 3-24 Προφίλ απελευθέρωσης αιθερίου ελαίου μέντας από τα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών.....	78
Γράφημα 3-25 Γραφική παράσταση του κινητικού μοντέλου Higuchi.....	79
Γράφημα 3-26 Γραφική παράσταση του κινητικού μοντέλου Korsmeyer–Peppas.....	79
Γράφημα 3-27 Συσχέτιση πραγματικών και προβλεπόμενων τιμών της 1ης απόκρισης	82
Γράφημα 3-28 Συσχέτιση πραγματικών και προβλεπόμενων τιμών της 2ης απόκρισης	84
Γράφημα 3-29 Συσχέτιση πραγματικών και προβλεπόμενων τιμών της 3ης απόκρισης	86
Γράφημα 3-30: 3D επιφάνεια του SR (%) συναρτήσει των μεταβλητών A και B, για βέλτιστο C.....	88
Γράφημα 3-31: 3D επιφάνεια του SR (%) συναρτήσει των μεταβλητών A και C, για βέλτιστο B.....	89
Γράφημα 3-32: 3D επιφάνεια του SR (%) συναρτήσει των μεταβλητών B και C, για βέλτιστο A.....	89
Γράφημα 3-33: 3D επιφάνεια του WRR (%) συναρτήσει των μεταβλητών A και B, για βέλτιστο C.....	90
Γράφημα 3-34: 3D επιφάνεια του WRR (%) συναρτήσει των μεταβλητών A και C, για βέλτιστο B.....	90
Γράφημα 3-35: 3D επιφάνεια του WRR (%) συναρτήσει των μεταβλητών B και C, για βέλτιστο A.....	91
Γράφημα 3-36: 3D επιφάνεια του Absorbed Oil (mg) συναρτήσει των μεταβλητών A και B, για βέλτιστο C.....	91

Γράφημα 3-37: 3D επιφάνεια του Absorbed Oil (mg) συναρτήσει των μεταβλητών A και C, για βέλτιστο B.....	92
Γράφημα 3-38: 3D επιφάνεια του Absorbed Oil (mg) συναρτήσει των μεταβλητών B και C, για βέλτιστο A	92
Γράφημα 3-39 Ποσοστό διόγκωσης της υδρογέλης αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο λεβάντας σε συνάρτηση με τον χρόνο.....	93
Γράφημα 3-40 Ποσοστό συγκράτησης νερού από την υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο λεβάντας σε συνάρτηση με τον χρόνο	94
Γράφημα 3-41 Ποσοστό διόγκωσης της υδρογέλης αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο μέντας σε συνάρτηση με τον χρόνο	95
Γράφημα 3-42 Ποσοστό συγκράτησης νερού από την υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο μέντας σε συνάρτηση με τον χρόνο	95
Γράφημα 3-43 Ποσοστό διόγκωσης της υδρογέλης αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών χωρίς εγκλεισμένο έλαιο (blank) σε συνάρτηση με τον χρόνο.....	96
Γράφημα 3-44 Ποσοστό συγκράτησης νερού από την υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών χωρίς εγκλεισμένο έλαιο (blank)σε συνάρτηση με τον χρόνο.....	97
Γράφημα 3-45 Ποσοστό διόγκωσης της υδρογέλης αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη με αιθέριο έλαιο λεβάντας σε συνάρτηση με τον χρόνο.....	98
Γράφημα 3-46 Ποσοστό συγκράτησης νερού από την υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη με αιθέριο έλαιο λεβάντας σε συνάρτηση με τον χρόνο	98
Γράφημα 3-47 Ποσοστό διόγκωσης της υδρογέλης αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη με αιθέριο έλαιο μέντας σε συνάρτηση με τον χρόνο.....	99
Γράφημα 3-48 Ποσοστό συγκράτησης νερού από την υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη με αιθέριο έλαιο μέντας σε συνάρτηση με τον χρόνο	100
Γράφημα 3-49 Ποσοστό διόγκωσης της υδρογέλης αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη χωρίς εγκλεισμένο αιθέριο έλαιο (blank) σε συνάρτηση με τον χρόνο	101
Γράφημα 3-50 Ποσοστό συγκράτησης νερού από την υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη χωρίς εγκλεισμένο αιθέριο έλαιο σε συνάρτηση με τον χρόνο	102
Γράφημα 3-51 Φάσμα FT-IR των υδρογελών με CS-ChCl: AA NPs.....	104
Γράφημα 3-52 Φάσμα FT-IR των υδρογελών με CS-ChCl: AA-Lavender EO NPs	104
Γράφημα 3-53 Φάσμα FT-IR των υδρογελών με CS-ChCl: AA-Mentha EO NPs	105
Γράφημα 6-1 Κατανομή μεγέθους CS-NADES-Lavender EO NPs.....	110

Γράφημα 6-2 ζ-δυναμικό CS-NADES-Lavender EO NPs.....	110
Γράφημα 6-3 Φάσμα ¹ H NMR (600MHz, DMSO-d ₆) του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη ChCl:AA.....	111

Πίνακας Συντομογραφιών

Χιτοζάνη	CS
Φυσικός Βαθέως Ευτηκτικός Διαλύτητης	NADES
Χλωριούχος Χολίνη	ChCl
Ασκορβικό οξύ	AA
Νανოსωματίδια	NPs
Αιθέριο Έλαιο	EO
Δυναμική Σκέδαση Φωτός	<i>DLS</i>
Δείκτης πολυδιασποράς	<i>PdI</i>
Φασματομετρία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού	<i>NMR</i>
Φασματομετρία υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier	<i>FT-IR</i>

1 Εισαγωγή

1.1 Εισαγωγή στην Πράσινη Χημεία

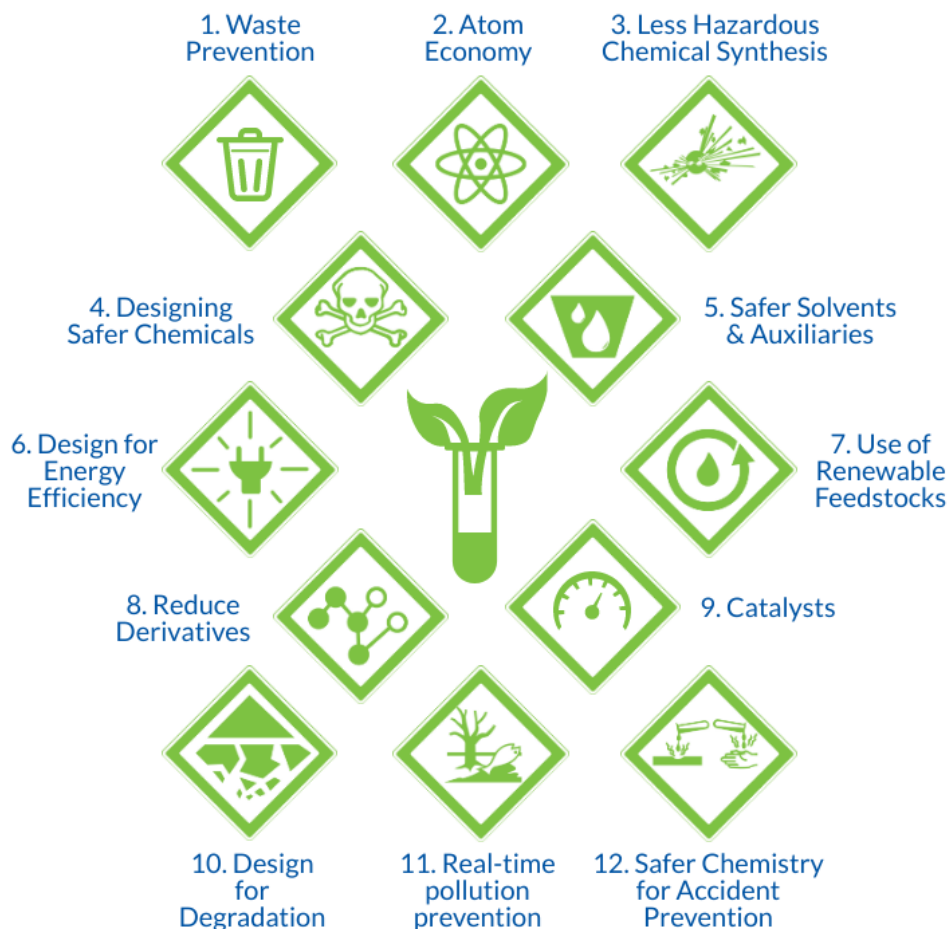
1.1.1 Εισαγωγή στην Πράσινη Χημεία

Με τον όρο πράσινη χημεία εισάγεται το θεωρητικό υπόβαθρο για τον σχεδιασμό χημικών προϊόντων και διαδικασιών για τη μείωση ή την εξάλειψη της χρήσης και της παραγωγής επικίνδυνων ουσιών. Ο κλάδος της Πράσινης Χημείας στοχεύει στη βιωσιμότητα σε μοριακό επίπεδο και βρίσκει εφαρμογή σε πολλούς κλάδους της βιομηχανίας, όπως των καλλυντικών, των ηλεκτρονικών συστημάτων, της ενέργειας, των φαρμάκων, μέχρι της γεωργίας. Εστιάζει στην χρήση «πράσινων» διαλυτών, όπως είναι τα ιοντικά υγρά και οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες, στην χρήση «πράσινων» καταλυτών καθώς και στον σχεδιασμό αποδοτικών διεργασιών χρησιμοποιώντας φιλικά προς το περιβάλλον προϊόντα και «πράσινες» ανανεώσιμες πρώτες ύλες. [1]

Για να ονομαστεί "πράσινη", κάθε αντίδραση πρέπει να έχει τρία «πράσινα» συστατικά συμπεριλαμβανομένου του διαλύτη αντιδραστηρίου/καταλύτη και κατανάλωση ενέργειας. Επιπλέον, η πράσινη χημεία στοχεύει στην καλύτερη διαχείριση αποβλήτων και σχεδιάζει τη διαδικασία της αποικοδόμησης των χημικών προϊόντων μετά τη χρήση, όλα σύμφωνα με την αναστολή της ρύπανσης και τα μέτρα βιώσιμης προόδου. [2]

Κύριο άξονα της Πράσινης Χημείας αποτελεί ο σχεδιασμός, μέσω του οποίου μειώνονται ή εξαλείφονται οι κίνδυνοι που προκύπτουν μέσα από την διαχείριση των χημικών διαδικασιών. Ο σχεδιασμός βασίζεται σε συγκεκριμένους κανόνες, τις «Δώδεκα Αρχές της Πράσινης Χημείας», ένα καθοδηγητικό πλαίσιο που στοχεύει στο σχεδιασμό νέων χημικών προϊόντων και διαδικασιών, που εφαρμόζονται σε όλες τις πτυχές του κύκλου ζωής της διαδικασίας, από τις πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται έως την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια του μετασχηματισμού, την τοξικότητα και τη βιοδιασπασσιμότητα των προϊόντων και των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιούνται [3]. Συνοπτικά, οι αρχές αυτές εστιάζουν στην πρόληψη των απορριμμάτων, στην οικονομία του ατόμου, στους ασφαλέστερους διαλύτες, τους καταλύτες καθώς και τον αποδοτικότερο ενεργειακό σχεδιασμό με την χρήση ανανεώσιμων πηγών ενέργειας. [1]

Ο στόχος της Πράσινης Χημείας σε συνδυασμό με την επιστήμη της Χημικής Μηχανικής είναι η ελαχιστοποίηση των αποβλήτων, η εξάλειψη της τοξικότητας των αποβλήτων, η ελαχιστοποίηση τη χρήση ενέργειας και η χρήση πράσινης ενέργειας (ηλιακή θερμική, ηλιακή ηλεκτρική, αιολική, γεωθερμική κ.λπ.) - δηλαδή μη ορυκτά καύσιμα. [3]



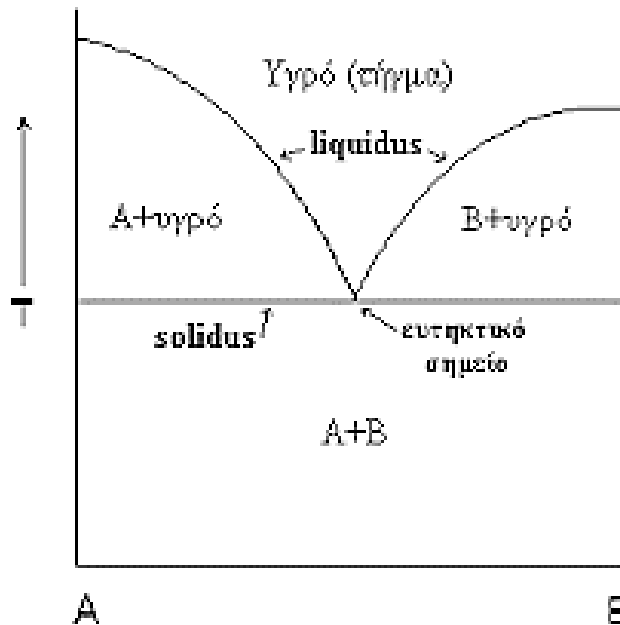
Εικόνα 1-1 Οι Δώδεκα Αρχές της Πράσινης Χημείας

1.1.2 Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (Deep Eutectic Solvents, DES)

Στα πλαίσια εφαρμογής των αρχών της Πράσινης Χημείας, η χρήση νέων, λιγότερο τοξικών διαλυτών έχει καταστεί αναγκαία. Χαρακτηριστικά παραδείγματα πράσινων διαλυτών αποτελούν τα Ιοντικά Υγρά (ILs) και οι Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (DES).

Οι Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (DES) ορίζονται ως ένα μείγμα δύο ή περισσότερων συστατικών, στερεών ή υγρών, τα οποία κατά την ανάμιξή τους σε συγκεκριμένη αναλογία παρουσιάζουν μεγάλη πτώση του σημείου τήξης καθιστώντας τα υγρά σε θερμοκρασία δωματίου. Τα DES περιέχουν μεγάλα, μη συμμετρικά ιόντα που έχουν χαμηλή ενέργεια πλέγματος και συνεπώς χαμηλά σημεία τήξης. Συνήθως λαμβάνονται με τη συμπλοκοποίηση ενός τεταρτοταγούς αμμωνιακού άλατος με μεταλλικό άλας ή δότη δεσμών υδρογόνου (HBD). Η μετατόπιση φορτίου που συμβαίνει μέσω της σύνδεσης υδρογόνου μεταξύ, για παράδειγμα, ενός ιόντος αλογονιδίου και του τμήματος δότη υδρογόνου είναι υπεύθυνη για τη μείωση του σημείου τήξης του μίγματος σε σχέση με τα σημεία τήξης των επιμέρους συστατικών [4]. Η εφαρμογή των DES περιορίζεται έως τώρα σε οργανικές αντιδράσεις, οργανικές εκχυλίσεις, ηλεκτροχημεία και ενζυματικές αντιδράσεις που πραγματοποιούνται

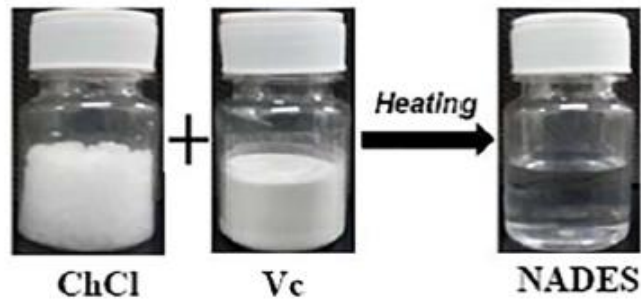
στους 60°C. Χαρακτηριστικό πλεονέκτημα των DES έναντι των ILs αποτελεί η ευκολότερη παρασκευή τους με μεγαλύτερη καθαρότητα και με χαμηλότερο κόστος. [5]



Εικόνα 1-2 Ευτηκτικό σημείο σε ένα διάγραμμα φάσης δύο συστατικών

1.1.3 Φυσικοί Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (Natural Deep Eutectic Solvents, NaDES)

Προκειμένου να αυξηθεί ο αριθμός των υποψηφίων DES και να επεκταθούν οι εφαρμογές τους, εκτός από συνθετικές ενώσεις, η προσοχή έχει στραφεί σε φυσικά προϊόντα όπως οργανικά οξέα, αμινοξέα, σάκχαρα, χολίνη ή ουρία. Τα φυσικά προϊόντα είναι πράγματι μια άφθονη και ιδανική πηγή DES λόγω της τεράστιας χημικής ποικιλομορφίας τους, της ιδιότητας τους να βιοδιασπώνται και του φαρμακευτικά αποδεκτού προφίλ τοξικότητας [5]. Όταν οι ενώσεις που αποτελούν το DES είναι φυσικά προϊόντα, οι DES ονομάζονται φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (NADES). Τα NADES εφαρμόζουν πλήρως τις αρχές της πράσινης χημείας, καθώς περιέχουν συστατικά που είναι άφθονα στην καθημερινή μας τροφή και έτσι είναι φθηνά, βιώσιμα και ασφαλή. [4]



Εικόνα 1-3 Η χλωριούχος χολίνη (ChCl) και το ασκορβικό οξύ (Vc) ως πρώτες ύλες και ο σχηματισμός του NADES (ChCl:Vc)

Είναι ενδιαφέρον ότι ορισμένα NADES δείχνουν πολύ υψηλή ικανότητα διαλυτοποίησης τόσο των μη πολικών όσο και των πολικών ενώσεων, και μερικοί μεταβολίτες είναι σημαντικά πιο διαλυτοί στο NADES παρά στο νερό. Επιπλέον, οι ειδικές ιδιότητες των NADES, όπως η βιοαποικοδόμηση, το χαμηλό κόστος και η βιοσυμβατότητα, αποδεικνύουν ότι αποτελούν εναλλακτικές επιλογές για εφαρμογές που περιλαμβάνουν ορισμένους οργανικούς διαλύτες και ιοντικά υγρά [6]. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι είναι σε θέση να διαλύσουν ακόμη και μακρομόρια, γεγονός που καθιστά τα NADES κατάλληλους διαλύτες στην εκχύλιση πολύτιμων δευτερογενών μεταβολιτών για την εφαρμογή τους στη βιομηχανία τροφίμων ή φαρμάκων. Σε ορισμένες μοριακές αναλογίες (π.χ. ισομοριακή), τα NADES δείχνουν ισχυρές διαμοριακές αλληλεπιδράσεις, ενώ επίσης διαθέτουν καλύτερες ιδιότητες για εκχύλιση, π.χ. υγρή κατάσταση ακόμη και κάτω από 0 ° C, ρυθμιζόμενο ιξώδες, μη βιωσιμότητα. [7]

1.1.4 Φυσικοχημικές Ιδιότητες των DES και NADES

Τα DES είναι χημικά προσαρμόσιμοι διαλύτες αφού μπορούν να σχεδιαστούν συνδυάζοντας σωστά διάφορα άλατα τεταρτοταγούς αμμωνίου (π.χ. ChCl) με διαφορετικούς δότες δεσμών υδρογόνου (HBD). Ως εκ τούτου, μπορούν να παρασκευαστούν DES για συγκεκριμένες διεργασίες με διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες όπως σημείο τήξης, ιξώδες, αγωγιμότητα και pH, μεταξύ άλλων. Ανάλογα με την εφαρμογή των DES, η φυσικοχημικές ιδιότητες προσδίδουν κάθε φορά τα επιθυμητά χαρακτηριστικά στους διαλύτες και καθορίζονται από πολλούς παράγοντες.

Το σημείο τήξης των DES είναι χαμηλότερο από αυτό των επιμέρους συστατικών τους, το οποίο οφείλεται στην αλληλεπίδραση του ανιόντος αλογονιδίου και του συστατικού δότη του δεσμού υδρογόνου. Για όλα τα αναφερόμενα DES, τα σημεία τήξης τους είναι κάτω από τους 150 °C. Γενικά, τα DES με σημείο τήξης χαμηλότερο από 50 ° C είναι πιο ελκυστικά αφού μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φθηνοί και ασφαλείς διαλύτες σε πολλούς τομείς.

Τα περισσότερα DES εμφανίζουν σχετικά υψηλά ιξώδη (> 100 cP) σε θερμοκρασία δωματίου, εκτός από το ευτηκτικό μίγμα ChCl -αιθυλενογλυκόλης (EG). Το υψηλό ιξώδες των DES οφείλεται στην παρουσία δεσμών υδρογόνου μεταξύ κάθε συστατικού, γεγονός που οδηγεί σε χαμηλότερη κινητικότητα ελεύθερων ειδών εντός του DES. Το μεγάλο μέγεθος ιόντων και ο πολύ μικρός κενός όγκος των περισσοτέρων DES, αλλά και άλλες δυνάμεις όπως οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις ή οι Van der Waals μπορούν να συμβάλλουν στο υψηλό ιξώδες του DES. Λόγω των πιθανών εφαρμογών τους ως πράσινων μέσων, η ανάπτυξη DES με χαμηλό ιξώδες είναι ιδιαίτερα επιθυμητή. Γενικά, τα ιξώδη των ευτηκτικών μειγμάτων επηρεάζονται κυρίως από τη χημική φύση των συστατικών του DES (τύπος αλάτων αμμωνίου και HBDs, γραμμομοριακή αναλογία οργανικού άλατος/HBD κ.λπ.), τη θερμοκρασία και την περιεκτικότητα σε νερό. [8]

Σημαντική ιδιότητα ενός διαλύτη αποτελεί η πυκνότητα. Τα περισσότερα DES παρουσιάζουν υψηλότερη πυκνότητα από το νερό όπως και από αυτές των καθαρών HDB. Η γραμμομοριακή αναλογία οργανικού άλατος/HBD επηρεάζει σημαντικά τις πυκνότητες του DES. Αυξάνοντας την ποσότητα του οργανικού άλατος, η πυκνότητα του DES μειώνεται.

Λόγω του σχετικά υψηλού ιξώδους τους, τα περισσότερα DES παρουσιάζουν κακή ιοντική αγωγιμότητα (χαμηλότερη από 2 mS/cm σε θερμοκρασία δωματίου). Οι αγωγιμότητες των DES γενικά αυξάνονται σημαντικά με την αύξηση της θερμοκρασίας λόγω μείωσης του ιξώδους DES. Λαμβάνοντας υπόψη πως το ιξώδες επηρεάζεται σημαντικά από την γραμμομοριακή αναλογία οργανικού άλατος/HBD είναι φανερό πως η παράμετρος αυτή επηρεάζει και την αγωγιμότητα των DES. Η αγωγιμότητα του DES αυξάνεται με την αύξηση της περιεκτικότητας σε ChCl .

Η επιφανειακή τάση αναμένεται επίσης να ακολουθήσει παρόμοια τάση με το ιξώδες αφού εξαρτάται αυστηρά από τη δύναμη της διαμοριακής αλληλεπίδρασης που διέπει τον σχηματισμό των DES. [8]

1.1.5 Εφαρμογές των DES και NADES

Μία από τις κύριες εφαρμογές των DES έγκειται στον τομέα της κατάλυσης και της οργανικής σύνθεσης, επιτρέποντας οικολογικά αποδοτικές διαδικασίες, για παράδειγμα, παρέχοντας τη δυνατότητα εκλεκτικής και βολικής εκχύλισης προϊόντων της αντίδρασης από τη φάση DES, διαλύοντας όχι μόνο οργανικά και ανόργανα άλατα αλλά και σύμπλοκα ή νανοσωματίδια που προέρχονται από μεταβατικά μέταλλα.

Λόγω του χαμηλού κόστους και των μη τοξικών συστατικών τους, τα DES χρησιμοποιούνται σε τρόφιμα και φαρμακευτικά προϊόντα. Επί του παρόντος, τα DES εφαρμόζονται σε διάφορους τομείς, όπως πολυμερισμός, επεξεργασία βιομάζας, παρασκευή υλικών, σύνθεση βιοντίζελ, αντιδράσεις καταλυόμενες από ένζυμα, προσρόφηση διοξειδίου του άνθρακα, ηλεκτροχημεία, εκχύλιση, νανοτεχνολογία και οργανική σύνθεση. [9], [10].

Τα DES με βάση την χλωριούχο χολίνη έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για τον διαχωρισμό γλυκερόλης από βιοντίζελ, αλκοολών από εστέρες, υδροξυμεθυλοφουρφοϋράλης (HMF) από HMF-εστέρες και φαινόλης από έλαια (εξάνιο, τολουόλιο και π-ξυλόλιο), καθώς επίσης και για τον διαχωρισμό αζεοτροπικών μειγμάτων.

Ως φορέας στα συστήματα χορήγησης φαρμάκων, ορισμένα DES έχουν εφαρμοστεί για τη διαλυτοποίηση ασθενώς διαλυτών φαρμάκων αυξάνοντας το εύρος συγκεντρώσεων για αυξημένη βιοδιαθεσιμότητα στην πρώιμη ανάπτυξη φαρμάκων.

Οι εφαρμογές των NADES δεν έχουν περιοριστεί στη χρήση τους ως διαλύτες εκχύλισης. Έχει επίσης μελετηθεί η σκοπιμότητα της ενσωμάτωσής τους σε σκευάσματα ως μέσα διαλυτοποίησης μη υδατοδιαλυτών φυσικών ενώσεων. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το γεγονός ότι τα συστατικά του NADES είναι ασφαλή, μη τοξικά και ακόμη και βρώσιμα, επιτρέπει στα NADES να ληφθούν υπόψη για φαρμακευτικές, καλλυντικές και τροφικές εφαρμογές, καθώς τα NADES μπορούν εύκολα να συμμορφωθούν με τις αυστηρές απαιτήσεις για χρήση σε αυτές τις εφαρμογές. [11], [12].

1.1.6 Μέθοδοι παρασκευής των NADES

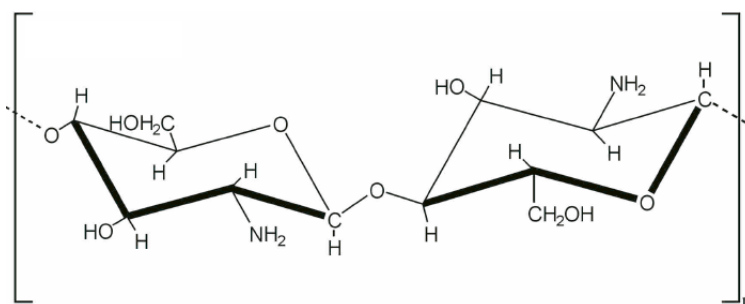
Τα NADES παρασκευάζονται με δύο δυνατές μεθόδους: την μέθοδο της θέρμανσης και την μέθοδο της λυοφιλοποίησης (freeze-drying). Κατά την παρασκευή μέσω θέρμανσης, τα επιμέρους συστατικά του NADES αναμειγνύονται σε στερεή μορφή στην κατάλληλη γραμμομοριακή αναλογία και θερμαίνονται σε θερμοκρασία εύρους 50-80°C με συνεχή ανάδευση για χρονικό διάστημα 2-4 h έως ότου σχηματιστεί ομογενές και διαυγές ρευστό. Στην περίπτωση της λυοφιλοποίησης, τα συστατικά του NADES διαλυτοποιούνται αρχικά σε νερό και στην συνέχεια αναμειγνύονται. Το τελικό υδατικό διάλυμα φυγοκεντρείται και στην συνέχεια καταψύχεται σε θερμοκρασίες -20 °C [13]. Μία ακόμα εναλλακτική μέθοδο παρασκευής NADES αποτελεί η εξάτμιση, κατά την οποία τα συστατικά διαλυτοποιούνται σε νερό και στην συνέχεια εξατμίζονται στους 50 °C με την χρήση περιστροφικού εξατμιστήρα (rotatory evaporator). Το ρευστό που προκύπτει μεταφέρεται σε ξηραντήρα με γέλη πυριτίου μέχρι να φτάσουν σε σταθερό βάρος. [5]

1.2 Χιτοζάνη (Chitosan)

Η χιτοζάνη είναι γραμμικός πολυσακχαρίτης που αποτελείται από τυχαία κατανεμημένα μόρια D-γλυκοζαμίνης και N-ακετυλ-D-γλυκοζαμίνης συνδεδεμένα με β-(1,4) γλυκοζιτικούς δεσμούς. Λόγω των πλεονεκτικών χημικών ιδιοτήτων της

χιτοζάνης, όπως βιοσυμβατότητα, μη τοξικότητα και βιοαποικοδομησιμότητα, σωματίδια με βάση την χιτοζάνη έχουν μελετηθεί εκτενώς για χορήγηση αντικαρκινικών παραγόντων και θεραπευτικών πρωτεϊνών. Οι ιδιότητες της χιτοζάνης και η διαλυτότητά της συνδέεται στενά με το μοριακό βάρος και τον βαθμό αποκετυλίωσης καθώς και με την τιμή του pH του υδατικού διαλύματος.

Η χιτοζάνη προέρχεται από το φυσικό προϊόν χιτίνη που βρίσκεται άφθονο στον εξωσκελετικό σχηματισμό των εντόμων και των οστρακοειδών. Ενώ η χιτίνη είναι αδιάλυτη στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες, η χιτοζάνη είναι εύκολα διαλυτή σε αραιά όξινα διαλύματα με pH μικρότερο του 6. Σε χαμηλό pH (~4.5) οι αμίνες πρωτονιώνονται και φορτίζονται θετικά, καθιστώντας έτσι την χιτοζάνη διαλυτή στο νερό. Ωστόσο, καθώς το pH αυξάνεται πολύ πάνω από τον 6.8, οι αμίνες αποπρωτονιώνονται, και έτσι η χιτοζάνη χάνει τα φορτία της, καθίσταται αδιάλυτη και καθιζάνει. Επομένως, η διαλυτότητα της χιτοζάνης εξαρτάται σημαντικά από τον βαθμό αποκετυλίωσης (PP) και την μέθοδο αποκετυλίωσης. Σημειώνεται ότι λόγω του φαινομένου εξαλάτωσης (salting-air effect) παρατηρείται πτώση της διαλυτότητας σε αυξημένες συγκεντρώσεις διαλύματος οξέος.



Εικόνα 1-4 Χημική δομή της χιτοζάνης

Προερχόμενη από την χιτίνη, τον δεύτερο πιο άφθονο πολυσακχαρίτη στο περιβάλλον μετά την κυτταρίνη, η χιτοζάνη είναι βιολογικής προέλευσης, φιλικό προς το περιβάλλον με αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες.

Στην φαρμακευτική, χρησιμοποιείται στους επιδέσμους για μείωση της αιμορραγίας, ως αντιβακτηριδιακός παράγοντας, ενώ επίσης χρησιμοποιείται για να μεταφέρει το φάρμακο μέσα από το δέρμα. Εκτός αυτού έχει διερευνηθεί στην ανάπτυξη νανοϋλικών, βελτιωμένα συστήματα μεταφοράς φαρμάκων υλικών επιδέσμων πληγών.

Τα άλατα χιτοζάνης είναι βιοσυμβατά και βιοαποικοδομήσιμα. Μπορούν να αναμιχθούν με άλλα υλικά για να τα καταστήσουν απορροφητικά, όπως το αλγινικό, ή για να μεταβάλλεται ο ρυθμός διαλυτότητας και βιοαπορροφητικότητας του άλατος χιτοζάνης. [14]

1.2.1 Νανοσωματίδια χιτοζάνης ως φορέας φαρμάκων

Τα τελευταία χρόνια, τα νανοσωματίδια χιτοζάνης χαμηλού μοριακού βάρους (LMW) έχουν δείξει μεγάλη δυνατότητα στις εφαρμογές χορήγησης φαρμάκων και μη ιικών φορέων για χορήγηση γονιδίων. Αυτό συμβαίνει επειδή, σε σύγκριση με τη χιτοζάνη υψηλού μοριακού βάρους (HMW), η χιτοζάνη LMW παρουσιάζει καλύτερη διαλυτότητα, βιοσυμβατότητα, βιοδραστικότητα, βιοαποικοδομησιμότητα και ακόμη λιγότερη τοξικότητα. Επιπλέον, πολλές μελέτες έχουν τονίσει τη σημασία του μεγέθους και έχουν αποκαλύψει τα πλεονεκτήματα των νανοσωματιδίων έναντι των μικροσφαιρών. [14]

1.2.2 Παρασκευή νανοσωματιδίων χιτοζάνης

Μεταξύ της ποικιλίας των μεθόδων που αναπτύχθηκαν για την παρασκευή νανοσωματιδίων χιτοζάνης, η τεχνική ιοντικής πήξης έχει προσελκύσει μεγάλη προσοχή, επειδή αυτή η διαδικασία είναι μη τοξική, χωρίς οργανικούς διαλύτες, βολική και ελεγχόμενη. Η τεχνική της ιοντικής πήξης βασίζεται στις ιοντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των θετικά φορτισμένων πρωτοταγών αμινομάδων της χιτοζάνης και των αρνητικά φορτισμένων ομάδων πολυανιόνιου, όπως το τριπολυφωσφορικό νάτριο (TPP), το οποίο είναι ο πιο εκτεταμένα χρησιμοποιούμενος παράγοντας διασταύρωσης ιόντων λόγω των μη τοξικών ιδιοτήτων του. Αυτή η φυσική διαδικασία διασταύρωσης όχι μόνο αποφεύγει τη χρήση χημικών παραγόντων διασταύρωσης και γαλακτωματοποιητικών παραγόντων που είναι συχνά τοξικοί για τους οργανισμούς, αλλά επίσης αποτρέπει την πιθανότητα βλάβης σε φάρμακα. [14]

1.2.3 Εφαρμογή της χιτοζάνης κατά της παχυσαρκίας

Η συμβατική θεραπεία για την διαχείριση της παχυσαρκίας βασίζεται σε διαιτητικούς περιορισμούς και τροποποίηση της συμπεριφοράς και γενικά οδηγεί σε περιορισμένη μόνο επιτυχία, με την πλειοψηφία των παχύσαρκων ασθενών να αδυνατούν να διατηρήσουν βραχυπρόθεσμες απώλειες βάρους. Επομένως, υπάρχει αναγνωρισμένη ανάγκη για ασφαλή και αποτελεσματική φαρμακοθεραπεία με την χρήση συμπληρωμάτων διατροφής, ειδικά αυτών για τον έλεγχο του βάρους, να αυξάνεται. . [15]

Η χιτοζάνη καταναλώνεται κυρίως ως συμπλήρωμα και συχνά χρησιμοποιείται για την πρόληψη της διαιτητικής απορρόφησης λίπους ως μέσο ελέγχου του βάρους.

Οι πρωτοποριακές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν έδειξαν ότι η χιτοζάνη, σε μέτριες συγκεντρώσεις 4-5%, μπορεί να μειώσει σημαντικά τα επίπεδα της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων στον ορό και το ήπαρ. Αρκετές *in vitro* και *in*

νίνο μελέτες έχουν δείξει ότι η χιτοζάνη θα μπορούσε να δεσμεύσει τα λιπίδια των διαιτητικών ουσιών και έτσι να επηρεάσει την απορρόφησή τους από το γαστρεντερικό σωλήνα. [15] Εκτός αυτού, περιορίζει την πρόσληψη τροφής ελαττώνοντας την όρεξη και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο και σε άλλες φυσιολογικές διεργασίες εντός του λευκού λιπώδη ιστού.

1.3 Αιθέρια Έλαια

Τα ΕΟ είναι πολύπλοκα μίγματα πτητικών ενώσεων που εκχυλίζονται από φυτά. Διακρίνονται για τις αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές τους ιδιότητες. Τα ΕΟ διαφορετικών βοτάνων έχουν χρησιμοποιηθεί ως αρωματικές ουσίες τροφίμων, στα φάρμακα και στην παρασκευή αρωμάτων, λόγω των μονοτερπενοειδών, που αποτελούν κύρια πτητικά συστατικά των αιθερίων ελαίων. Περιέχουν τόσο ασταθείς όσο και πτητικές ενώσεις που μπορούν να αποσυντεθούν ή να εξατμιστούν εύκολα υπό συνθήκες επεξεργασίας, κατά τη χρήση και την αποθήκευση ή όταν ενσωματωθούν σε τρόφιμα ή υλικά συσκευασίας λόγω των υψηλών θερμοκρασιών, των χαμηλών πιέσεων, της παρουσίας αέρα και φωτός κ.λπ. [16], [17], [18]

Τα αιθέρια έλαια έχουν χρησιμοποιηθεί σε μεγάλο βαθμό ως αντιβακτηριακοί, αντιμυκητιασικοί και εντομοκτόνοι παράγοντες ενώ αρκετές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει αυτές τις βιολογικές ιδιότητες. Επιπλέον, διακρίνονται για τις αναλγητικές, ηρεμιστικές, αντιφλεγμονώδεις, σπασμολυτικές και τοπικά αναισθητικές τους ιδιότητες. Τέλος, φαίνεται να έχουν μεγάλη δυνατότητα ως αντικαρκινικοί θεραπευτικοί παράγοντες, αλλά οι μηχανισμοί δράσης είναι ακόμη άγνωστοι. [19]

Ως προς την χημική τους σύσταση, τα αιθέρια έλαια αποτελούνται από πολλά διαφορετικά πτητικά συστατικά χαμηλού μοριακού βάρους, τα οποία ανάλογα με τη συγκέντρωσή τους χωρίζονται σε κύρια (20-95%), δευτερεύοντα (1-20%) και ιχνοστοιχεία (λιγότερο από 1%). Αυτές οι ενώσεις χαμηλής μοριακής μάζας είναι αδιάλυτες στο νερό.

1.3.1 Αιθέριο έλαιο λεβάντας

Το αιθέριο έλαιο λεβάντας είναι δημοφιλές ως συμπληρωματικό φάρμακο από μόνο του και ως πρόσθετο σε πολλά συμπληρωματικά ιατρικά και καλλυντικά προϊόντα. Προϊόντα που προέρχονται από το βότανο *Lavandula spp* έχουν χρησιμοποιηθεί για αιώνες ως θεραπευτικό συστατικό, ενώ τα αιθέρια έλαια που προέρχονται από αυτά τα φυτά διαθέτουν ηρεμιστικές, αντικαταθλιπτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, πέρα από τις αναγνωρισμένες αντιμικροβιακές επιδράσεις τους. Έχει βρεθεί ότι είναι δραστικό ενάντια σε πολλά είδη βακτηρίων, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που

είναι ανθεκτικά σε αντιβιοτικά όπως ο ανθεκτικός στη μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* (MRSA) και ο ανθεκτικός στη βανκομυκίνη *Enterococcus* (VRE). [16], [17]

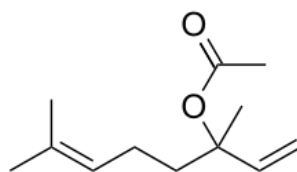
1.3.1.1 Χημική σύσταση αιθερίου ελαίου λεβάντας

Τα αιθέρια έλαια είναι πολύπλοκα μείγματα πολλών και διαφορετικών αρωματικών ενώσεων. Αυτό το οποίο καθορίζει κυρίως τη σύσταση του ελαίου είναι η γενετική σύνθεση της κάθε ποικιλίας, καθώς επίσης και η διεργασία της απόσταξης. Υπάρχουν πολλές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανάλυση ελαίων από το *Lavandula spp.* συμπεριλαμβανομένων τυποποιημένων αναλυτικών τεχνικών αεριοχρωματογραφίας με φασματομετρία μάζας (GC/MS) ή φασματοσκοπία υπερύθρου (GC/IRFT). Επομένως, τα αιθέρια έλαια λεβάντας που χρησιμοποιούνται στο εμπόριο έχουν αναλυθεί και οι προδιαγραφές τους (International Standard (ISO)) έχουν δημοσιευθεί.

Τα κύρια συστατικά του ελαίου λεβάντας είναι η λιναλοόλη, το οξικό λιναλύλιο, η 1,8-κινεόλη, το β-οκιμένιο (συνήθως το trans-), η τερπινενόλη-4 και η καμφορά. Η συγκέντρωση καθενός από αυτά τα συστατικά μπορεί να διαφέρει σημαντικά στα έλαια τα οποία προέρχονται από διαφορετικές ποικιλίες με τα σχετικά επίπεδα καθενός να είναι ο κύριος καθοριστικός παράγοντας της αγοραστικής αξίας, εφαρμογής και αρώματος. [20]

Οξικό Λιναλύλιο

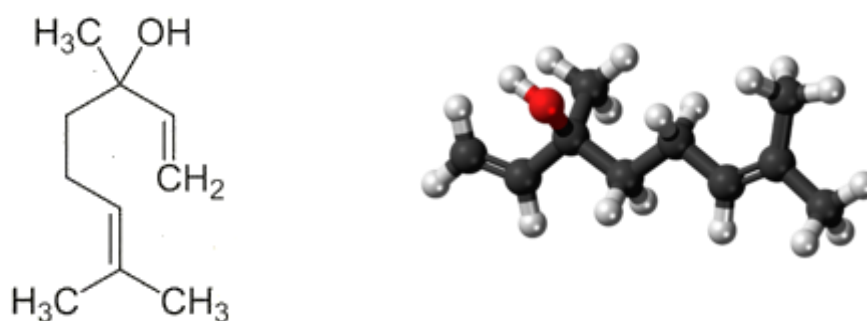
Μοριακός τύπος	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
Μοριακό Βάρος	196.290 g·mol ⁻¹
Σημείο βρασμού	220 °C
Διαλυτότητα στο νερό	Αδιάλυτο
Διαλυτότητα στην αιθανόλη και διμεθυλαιθέρα	Διαλυτό
Πυκνότητα	0.895 g/cm ³



Εικόνα 1-5 Χημική δομή οξικού λιναλύλιου

Λιναλοόλη

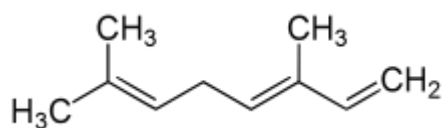
Μοριακός τύπος	C ₁₀ H ₁₈ O
Μοριακό Βάρος	154.253 g·mol ⁻¹
Σημείο τήξης	< -20 °C
Σημείο βρασμού	198 to 199 °C
Διαλυτότητα στο νερό	1.589 g/l
Πυκνότητα	0.858 έως 0.868 g/cm ³



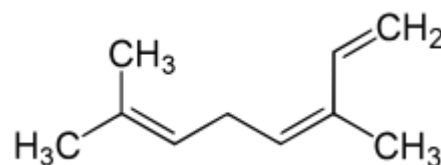
Εικόνα 1-6 Χημικός τύπος και 3D αναπαράσταση του μορίου της λιναλοόλης

β- Οκιμένιο

Μοριακός τύπος	C ₁₀ H ₁₆
Μοριακό Βάρος	136.24 g/mol
Σημείο τήξης	50 °C
Σημείο βρασμού	100 °C στα 70 mmHg
Πυκνότητα	0.800 g/cm ³



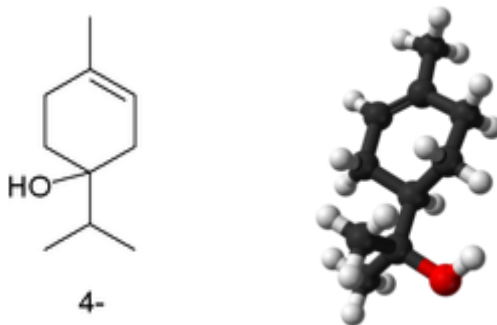
Εικόνα 1-8 Χημική δομή του β-οκιμενίου-trans



Εικόνα 1-7 Χημική δομή του β-οκιμενίου-cis

Τερπινενόλη-4

Μοριακός τύπος	C ₁₀ H ₁₈ O
Μοριακό Βάρος	154.253 g/mol
Σημείο τήξης	-35.9 έως -28.2 °C
Σημείο βρασμού	214–217 °C
Πυκνότητα	0.93 g/cm ³



Εικόνα 1-9 Χημικός τύπος και 3D απεικόνιση του μορίου της 4-τερπινεόλης

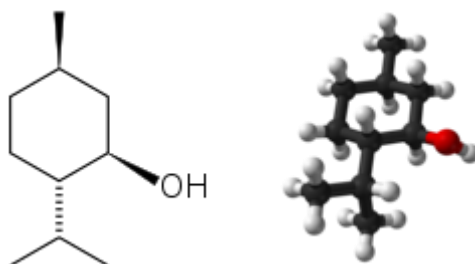
1.3.2 Αιθέριο έλαιο μέντας

Το γένος *Mentha* ανήκει στην οικογένεια *Lamiaceae* και μπορεί να βρεθεί στην Ευρώπη, την Αφρική, την Ασία, την Αυστραλία και τη Βόρεια Αμερική. Με δροσιστική γεύση και άρωμα, οι μέντες ξεχωρίζουν για μαγειρικά ή φαρμακευτικά τσάγια για την καταπολέμηση των εντερικών παρασίτων και των πεπτικών διαταραχών. Έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία ότι το γένος *Mentha* έχει χρησιμοποιηθεί στη λαϊκή ιατρική για τη θεραπεία της ναυτίας, της βρογχίτιδας, της ανορεξίας, της ελκώδους κολίτιδας και των προβλημάτων του ήπατος λόγω των αντιφλεγμονωδών, αντιεμετικών, μυρωδικών, αντισπασμωδικών, αναλγητικών και διεγερτικών ιδιοτήτων. Επιπλέον, αναφέρεται στη βιβλιογραφία ότι τα αιθέρια έλαια ή εκχυλίσματα ορισμένων ειδών *Mentha*, συμπεριλαμβανομένων των *Mentha spicata*, *Mentha × piperita*, *Mentha arvensis*, *Mentha rotundifolia*, *Mentha suaveolens* και *Mentha pulegium* διαθέτουν αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές δραστηριότητες. [21]

1.3.2.1 Χημική σύσταση αιθερίου ελαίου *Menthas*

Μενθόλη

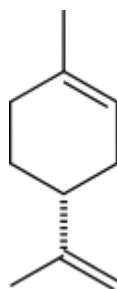
Μοριακός τύπος	C ₁₀ H ₂₀ O
Μοριακό Βάρος	156.269 g/mol
Σημείο τήξης	36–38 °C
Σημείο βρασμού	214.6 °C
Πυκνότητα	0.890 g cm ⁻³
Μορφή	Λευκό ή άχρωμο κρυσταλλικό στερεό



Εικόνα 1-10 Χημικός τύπος και 3D απεικόνιση του μορίου της μενθόλης

Λεμονένιο

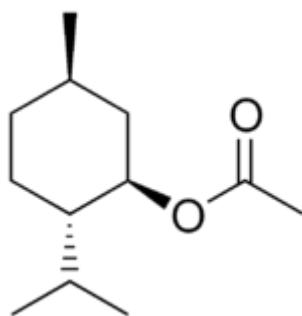
Μοριακός τύπος	$C_{10}H_{16}$
Μοριακό Βάρος	136,24 g/mol
Σημείο τήξης	-74,35 °C
Σημείο βρασμού	176 °C
Πυκνότητα	0,8411 gr/cm ³
Διαλυτότητα στο νερό	Αδιάλυτο
Διαλυτότητα	αναμίξιμο με το βενζόλιο, το χλωροφόρμιο, τον διαιθυλαιθέρα, τον CS ₂ και έλαια



Εικόνα 1-11 Χημικός τύπος λεμονενίου

Οξικό μενθύλιο

Μοριακός τύπος	$C_{12}H_{22}O_2$
Μοριακό Βάρος	198.30 g/mol
Σημείο βρασμού	229–230 °C
Πυκνότητα	0.92 g/mL



Εικόνα 1-12 Χημικός τύπος του οξικού μενθυλίου

1.4 Σχηματισμός υδρογελών

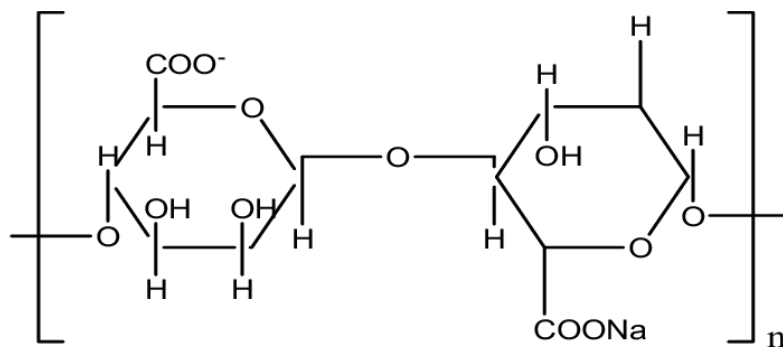
Οι υδρογέλες βρίσκονται μέχρι στιγμής υπό διερεύνηση ως μήτρες για την ελεγχόμενη απελευθέρωση βιοδραστικών μορίων, και πιο συγκεκριμένα φαρμακευτικών πρωτεϊνών, και για την ενθυλάκωση ζωντανών κυττάρων.

Με στόχο τη βελτίωση των φυσικών ιδιοτήτων και της σταθερότητας των υδρογέλων προστίθενται διασταυρωτές στις υδρογέλες εμποδίζοντας τη διάλυση και την αποσάθρωση της πολυμερούς μήτρας [22]. Υπάρχουν διαφορετικές μέθοδοι διασύνδεσης, των χημικών και φυσικών τεχνικών διασταύρωσης, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στο σχηματισμό μιας υδρογέλης. Η χημική διασύνδεση είναι μια εξαιρετικά ευέλικτη μέθοδος που σχηματίζει πολύ σταθερές υδρογέλες που προκύπτουν από το σχηματισμό πρωτογενών δυνάμεων, όπως ομοιοπολικοί δεσμοί. Οι χημικά διασταυρωμένες υδρογέλες είναι επίσης πολύ ισχυρότερες και πιο σταθερές στη θερμότητα, σε μηχανικές ή άλλες εξωτερικές προκλήσεις. Αντίθετα, η φυσική διασταύρωση των γελών σχηματίζει δευτερεύοντες, αναστρέψιμους δεσμούς που είναι λιγότερο σταθεροί σε σύγκριση με εκείνους στις υδρογέλες που συνδέονται χημικά. Ωστόσο, είναι χρήσιμες, ειδικά για τον εγκλεισμό ασταθών βιοδραστικών ουσιών και ζωντανών κυττάρων σε υδρογέλες [23]. Βιβλιογραφικά αναφέρονται πολλά παραδείγματα πολυσακχαριτών που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή υδρογέλων με φυσική διασταύρωση με υδρόφοβη τροποποίηση, όπως η χιτοζάνη, η δεξτράνη, η πουλουλάνη και η καρβοξυμεθυλ-κουρδλάνη.

Λόγω της ικανότητάς τους να απορροφούν νερό, οι υδρογέλες δεν βρίσκουν εφαρμογή μόνο λόγω της ικανότητας διόγκωσής τους, αλλά χρησιμοποιούνται και σε διαφορετικούς τεχνολογικούς τομείς, ως υλικά για φακούς επαφής και διαχωρισμό πρωτεϊνών, μήτρες για εγκλεισμό κυττάρων και συσκευές για την ελεγχόμενη απελευθέρωση φαρμάκων και πρωτεϊνών.

1.4.1 Αλγινικό Νάτριο

Το αλγινικό νάτριο είναι ένα γραμμικό συμπολυμερές πολυσακχαρίτη β-D-μαννουρονικού οξέος (M) και α-L-γουλουρονικού οξέος (G) που συνδέονται με α-1, 4 γλυκοζιτικούς δεσμούς, το οποίο προέρχεται από καφέ φύκια και βακτήρια. Λόγω της συγκεκριμένης δομής έχει την ικανότητα να απορροφά μεγάλες ποσότητες νερού για να σχηματίσει υδρογέλες. Επίσης, το αλγινικό περιέχει τη λειτουργική ομάδα καρβοξυλικών που μπορεί απλώς να διαχωριστεί στην υδατική φάση για να μεταφέρει αρνητικά φορτία.



Εικόνα 1-13 Χημικός τύπος του αλγινικού

Τα αλγινικά μπορούν να παρασκευαστούν με ένα ευρύ φάσμα μοριακών βαρών (50-100.000 kDa) και τα υδατικά διαλύματα αλγινικών έχουν μη νευτώνεια χαρακτηριστικά, δηλαδή το ιξώδες μειώνεται με την αύξηση του ρυθμού διάτμησης. Το ιξώδες ενός αλγινικού διαλύματος εξαρτάται από τη συγκέντρωση του πολυμερούς και την κατανομή των μοριακών βαρών. [24]

1.4.1.1 Εφαρμογές Αλγινικού

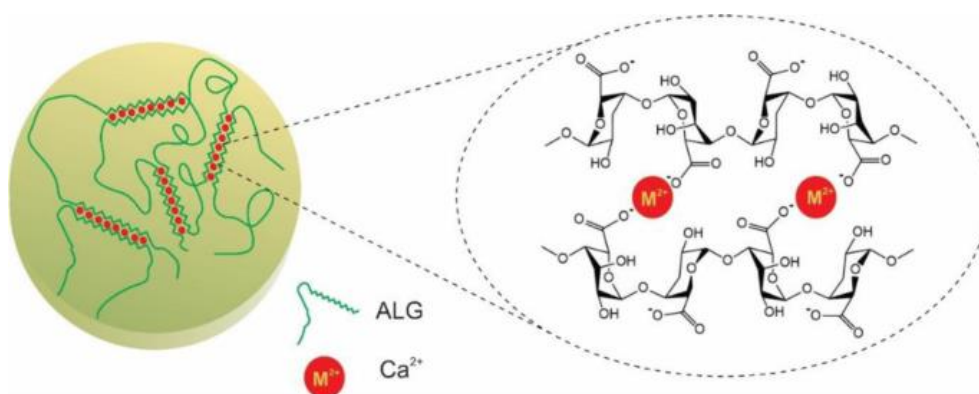
Το αλγινικό και τα πηκτώματα του έχουν βρει πολυάριθμες και διαφορετικές εφαρμογές. Ιστορικά έχει χρησιμοποιηθεί ευρύτερα στη βιομηχανία τροφίμων ως σταθεροποιητής και γαλακτωματοποιητής, π.χ. σε υποκατάστατα λιπαρών λιπαρών, λόγω των εγγενών ιδιοτήτων του και των αλληλεπιδράσεων του αλγινικού με πρωτεΐνες, λίπη ή ίνες. Το αλγινικό άλας χρησιμοποιείται επίσης ως πηκτικός παράγοντας για προϊόντα διατροφής, καθώς η αλγινική πηκτίνη σχηματίζει πήκτωμα ανεξάρτητα από την περιεκτικότητα σε ζάχαρη και η χρήση του μπορεί να αποδώσει προϊόντα χαμηλών θερμίδων. Το αλγινικό άλας τροποποιείται χημικά με προπυλενογλυκόλη για να μπορέσει να χρησιμοποιηθεί υπό όξινες συνθήκες και να δεσμεύσει τρόφιμα με νιφάδες, κομμάτια ή άλεση.

Το αλγινικό είναι επίσης ένας παράγοντας αραίωσης/διάτμησης στη βιομηχανία κλωστοϋφαντουργίας/εκτύπωσης χαρτιού λόγω της υψηλής απόδοσης χρωμάτων και της στάθμης εκτύπωσης.

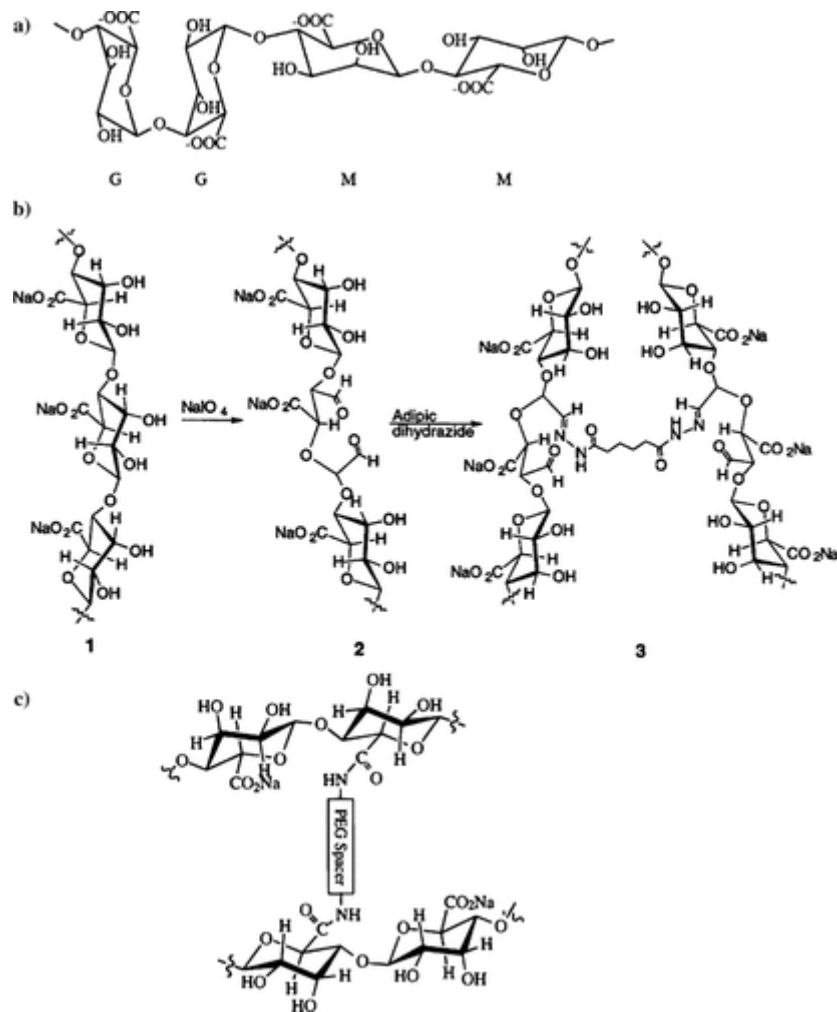
Εκτός αυτού, το συγκεκριμένο πολυμερές εφαρμόζεται ευρέως στη φαρμακευτική βιομηχανία ως έκδοχο φαρμάκων και ως επίδεσμος πληγών. Ως βιοϋλικό, το αλγινικό έχει μια σειρά πλεονεκτικών χαρακτηριστικών, συμπεριλαμβανομένης της βιοσυμβατότητας και πιθανόν να σχετίζονται με το γεγονός ότι είναι υδρόφιλο. Επιπλέον, έχει ήπια πηκτική συμπεριφορά, η οποία επιτρέπει τον εγκλεισμό διαφόρων ουσιών με ελάχιστο τραύμα. Ένα χημικώς τροποποιημένο αλγινικό άλας χρησιμοποιείται σήμερα κλινικά ως φορέας χορήγησης φαρμάκων για πρωτεΐνες που προάγουν την αναγέννηση ιστού και ως φορέας για μεταμοσχευμένα κύτταρα. [24]

1.4.2 Υδρογέλες Αλγινικού

Οι υδρογέλες σχηματίζονται μέσω χημικής διασύνδεσης υδρόφιλων πολυμερικών αλυσίδων μέσα σε ένα υδατικό περιβάλλον. Η ζελατινοποίηση μπορεί να επιτευχθεί μέσω μιας ποικιλίας μηχανισμών που περιλαμβάνουν φυσική εμπλοκή των αλυσίδων, ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων και ομοιοπολική χημική διασύνδεση. Οι υδρογέλες αλγινικού σχηματίζονται όταν δισθενή κατιόντα, όπως Ca^{2+} , αλληλοεπιδρούν συνεργατικά με μπλοκ G μονομερών για να σχηματίσουν ιοντικές γέφυρες μεταξύ διαφορετικών πολυμερικών αλυσίδων. Τα μπλοκ είναι είτε παρόμοια είτε αυστηρά εναλλασσόμενα (MMMMM, GGGGGG ή GMGMGM) και η σχετική ποσότητα εξαρτάται από την προέλευση του αλγινικού άλατος. Επίσης, μπορούν να σχηματιστούν με ομοιοπολική διασύνδεση των αλγινικών αλυσίδων με PEG ή αδιπικό υδροξείδιο χρησιμοποιώντας πρότυπη χημική καρβοδιιμίδη. [25]



Εικόνα 1-14 Ιοντικές γέφυρες μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων



Εικόνα 1-15 α) Αλγινικός πολυσακχαρίτης που αποτελείται από δύο γουλουρονικό οξύ και δύο υπολείμματα μανουρονικού οξέος με (1,4) -συνδέσεις. β) Οι πηκτές PAG παράγονται από πολυ (γουλουρονικό) (1), το οποίο οξειδώνεται (2) και ομοιοπολικώς συνδέεται με AAD (3). γ) Ως εναλλακτική λύση στο AAD, οι PEG-διαμίμες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως διασταυρωτές

1.4.3 Εφαρμογές Υδρογελών Αλγινικού Οξέος

Οι υδρογέλες αλγινικού οξέος με κατάλληλες ιδιότητες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως παράγοντες διόγκωσης ιστών. Οι απαιτήσεις αυτών των υλικών περιλαμβάνουν τη βιοσυμβατότητα και τη διατήρηση ενός συγκεκριμένου μεγέθους και σχήματος μέσα στο σώμα.

Επιπλέον, είναι ευρέως χρήσιμες για την παρατεταμένη και τοπική χορήγηση παραδοσιακών φαρμάκων χαμηλών MW και μακρομορίων για αναγέννηση ιστών. Η στοχευμένη χορήγηση μικρών ποσοτήτων φαρμάκου με ελεγχόμενη απελευθέρωση από ένα πολυμερές στο οποίο είναι εγκλωβισμένο είναι συχνά επιθυμητή για να επιτρέπονται υψηλές τοπικές συγκεντρώσεις για παρατεταμένες χρονικές περιόδους.

Η κινητική απελευθέρωσης φαρμάκων χαμηλού μοριακού βάρους από υδρογέλες αλγινικού μπορεί να ελεγχθεί ρυθμίζοντας τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ του φαρμάκου και του αλγινικού άλατος. Όταν δεν υπάρχουν χημικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του φαρμάκου και του πολυμερούς, η απελευθέρωση εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την πόλωση του φορτίου του μορίου, με τα υδρόφιλα μόρια να διαχέονται πολύ γρήγορα ενώ τα υδρόφοβα φάρμακα να διαχέονται αργά μέσω των πόρων της γέλης. Τα υδρόφιλα φάρμακα μπορούν να συνδεθούν με αλγινικά με διάφορους μηχανισμούς για τον έλεγχο της κινητικής απελευθέρωσής τους.

Ο ρυθμός απελευθέρωσης μπορεί να ελεγχθεί από τη συγκέντρωση του διυδραζιδίου του αδιπικού οξέος (AAD) και μπορούν να παραχθούν γέλες με την χρονική διάρκεια της απελευθέρωσης να κυμαίνεται από μερικές ημέρες έως αρκετές εβδομάδες *in vitro*. Τα φάρμακα μπορούν επίσης να συνδεθούν με αλγινικά με ιοντικά σύμπλοκα.

Μία ακόμη σημαντική εφαρμογή των αλγινικών γελών είναι η χρήση τους ως φορείς πρωτεϊνών με στοχευμένη απελευθέρωση, ενισχύοντας σημαντικά την αποτελεσματικότητα και την στόχευσή τους.

Τέλος, οι υδρογέλες αλγινικού χρησιμοποιούνται ως φορείς παράδοσης κυττάρων στην μηχανική ιστών για να επιτρέψουν τον εντοπισμό των μεταμοσχευμένων κυττάρων. [24], [26]

1.4.4 Μηχανικές Ιδιότητες Υδρογελών Αλγινικού Οξέος

Οι μηχανικές ιδιότητες των πηκτωμάτων που χρησιμοποιούνται ως εμφυτεύματα πρέπει να είναι επαρκείς για να διατηρήσουν τη φυσική ακεραιότητα ή ακόμη και να φέρουν φορτία μέχρι να αντικατασταθούν από νεοσχηματισμένο ιστό ή τα τζελ να έχουν ολοκληρώσει τη λειτουργία τους.

Οι μηχανικές ιδιότητες όπως η δυσκαμψία και η διόγκωση μπορούν να ελεγχθούν (ανεξάρτητα) από φυσικούς παράγοντες όπως η πυκνότητα της διασύνδεσης, ο τύπος του διασταυρωτή και η κατανομή του μοριακού βάρους, καθώς και η χημική τροποποίηση του πολυμερούς.

Επιπλέον, η τροποποίηση των πολυμερών αλυσίδων και της σύνθεσης του υλικού επηρεάζει τη μηχανική συμπεριφορά της γέλης. Γενικά, μια αύξηση της συγκέντρωσης πολυμερούς στο διάλυμα θα αυξήσει την ακαμψία, ιδιαίτερα στην περίπτωση των αλγινικών με υψηλό μοριακό βάρος. Αυτό, ωστόσο, οδηγεί σε αύξηση του ιξώδους του προ-πηκτωμένου διαλύματος, το οποίο είναι συχνά ανεπιθύμητο καθώς αυξάνει τη δυσκολία επεξεργασίας και τα κύτταρα που αναμιγνύονται με το πολυμερές θα μπορούσαν να υποστούν βλάβη λόγω των υψηλών δυνάμεων διάτμησης που προκύπτουν από ανάμιξη ή έγχυση.

Τα αλγινικά πηκτώματα μπορούν επίσης να ενισχυθούν μηχανικά μέσω του σχηματισμού συμπλόκων πολυηλεκτρολυτών. Η προσθήκη κατιονικής πολυ-αιθυλενοϊμίνης (PEI) στο αλγινικό οδηγεί σε πηκτώματα με βελτιωμένες μηχανικές

ιδιότητες υπό στατικές και δυναμικές συνθήκες φόρτωσης, ενώ αυξάνοντας το μοριακό βάρος του ΡΕΙ αυξάνεται η αντίσταση στην αποσύνθεση, η οποία πιθανότατα οφείλεται στην περιορισμένη κινητικότητα του ΡΕΙ υψηλού μοριακού βάρους εντός της γέλης. [26]

1.4.5 Αποικοδόμηση Υδρογελών Αλγινικού Οξέος

Η ελεγχόμενη αποικοδόμηση ενός βιοϋλικού είναι συχνά βασικός παράγοντας για την αντικατάσταση ιστών και την απελευθέρωση φαρμάκου. Η υδρογέλη καθώς αποδομείται κάνει χώρο για την ανάπτυξη νέου ιστού, επιτρέπει την ενσωμάτωση τυχόν μεταφερόμενων κυττάρων στους περιβάλλοντες ιστούς και απελευθερώνει ενσωματωμένα βιοδραστικά μόρια. Οι υδρογέλες αλγινικού που έχουν σχηματιστεί με ιοντική διασύνδεση διαλύονται σε ουδέτερο pH με απώλεια των δισθενών κατιόντων διασύνδεσης, για να οδηγήσουν σε ανεξέλεγκτη και τυπικά αργή κινητική αποικοδόμηση *in vivo*. Η αποικοδόμηση μπορεί να ελεγχθεί μέσω της διαχείρισης του μοριακού βάρους του πολυμερούς και των συστατικών του, καθώς και μέσω της μερικής οξείδωσης, καθώς το αλγινικό άλας υδρολύεται μέσω αντίδρασης με υπεροδικό νάτριο.

1.5 Νανοσυστήματα

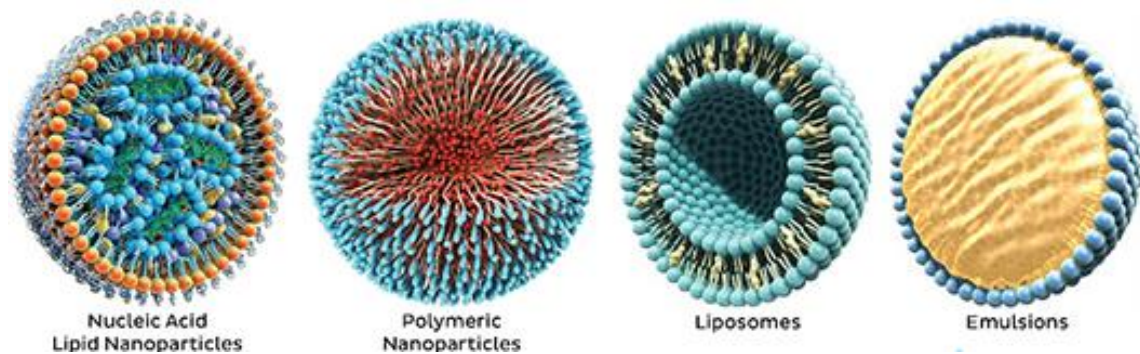
Ο εγκλεισμός είναι μια τεχνική κατά την οποία οι δραστικοί παράγοντες παγιδεύονται σε μια βιοδιασπώμενη μήτρα, σχηματίζοντας μικρο/νανο-συστήματα.

Σημαντικό ρόλο στον σχηματισμό των νανοσωματιδίων έχει ο φορέας εγκλεισμού, ο οποίος επιλέγεται με βάση τις φυσικοχημικές ιδιότητες της εγκλεισμένης δραστικής ουσίας. Εκτός αυτού, το προφίλ απελευθέρωσης της δραστικής ουσίας, ο επιθυμητός στόχος δράσης, το σχήμα και το μέγεθος των σωματιδίων καθώς και η λειτουργικότητά τους αποτελούν επίσης βασικά κριτήρια επιλογής.

Νανοσωματίδια ιδανικά για συστήματα μεταφοράς φαρμάκων είναι τα εξής:

- πολυ(γαλακτικό οξύ) (PLA)
- πολυ(γαλακτικό-γλυκολικό οξύ) (PLGA)
- πολυ(καπρολακτάνη) (PCL),
- πολυγλυκολίτες (PGA)
- πολυανυδρίτες (Polyanhydrides)
- πολυμερικές νανοσφαίρες
- πολυμερικές νανοκάψουλες

- ο πολυμερικά μικκύλια
- ο διακλαδισμένα πολυμερή-δενδριμερή (dendrimers)
- ο πολυμερικές υδρογέλες
- ο πολυμερικές νανοΐνες



Εικόνα 1-16 Τύποι νανοσωματιδίων

Ο εγκλεισμός βιοενεργών φυσικών ενώσεων βρίσκει εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων, γεωργίας, φαρμάκων και καλλυντικών.

Η τεχνική του εγκλεισμού εφαρμόζεται με στόχο:

1. την προστασία ασταθών βιοδραστικών ενώσεων από σκληρές συνθήκες επεξεργασίας (π.χ. υψηλή θερμοκρασία, οξυγόνο)
2. την προστασία των πτητικών ενώσεων όπως τα αιθέρια έλαια
3. την στοχευμένη και ελεγχόμενη αποδέσμευση της δραστικής ουσίας
4. την κατασκευή στοχευμένων συστημάτων παροχής και ελεγχόμενης απελευθέρωσης της ενθυλακωμένης ένωσης
5. τον ευκολότερο χειρισμό λόγω αλλαγών φυσικών χαρακτηριστικών του αρχικού υλικού πυρήνα (μετατροπή υγρού σε στερεό)
6. η συγκάλυψη των ανεπιθύμητων γεύσεων ή μυρωδιών ορισμένων δραστικών ενώσεων βελτιώνοντας την αποδοχή τους ως προϊόντα
7. η αύξηση της υδατικής διαλυτότητας

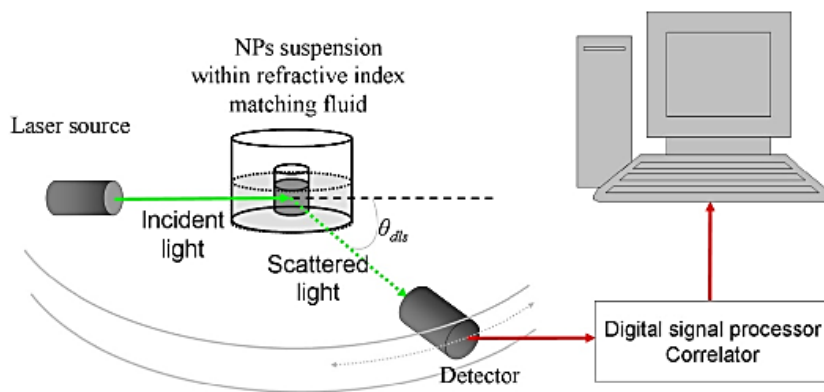
Τα τελευταία χρόνια, έχουν αναπτυχθεί πολλές μέθοδοι παρασκευής νανοσωματιδίων με στόχο τον εγκλεισμό φυσικών προϊόντων, όπως εκχυλίσματα, αιθέρια έλαια ή καθαρές φυσικές βιοδραστικές ενώσεις, με πιο χαρακτηριστικές την ξήρανση με ψεκασμό, την ιοντική πηκτωμάτωση και την γαλακτωματοποίηση. [27]

1.6 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων

1.6.1 Μέθοδος Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (Dynamic Light Scattering, DLS)

Ο χαρακτηρισμός των νανοσωματιδίων πραγματοποιείται με την μέθοδο της Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (Dynamic Light Scattering, DLS). Πρόκειται για μία μη-επεμβατική, γρήγορη, σχετικά οικονομική και εύκολη μέθοδο προσδιορισμού του μεγέθους των σωματιδίων, του ζ-δυναμικού και του δείκτη πολυδιασποράς (Pdl).

Η συγκεκριμένη μέθοδος βασίζεται στον προσδιορισμό του συντελεστή διάχυσης των σωματιδίων. Αυτό επιτυγχάνεται με φωτοβόληση του δείγματος με μονοχρωματική ακτινοβολία (laser). Τα σωματίδια μέσα στο δείγμα ακολουθούν τυχαία κίνηση Brown, με αποτέλεσμα να υπάρχουν διακυμάνσεις στην ένταση του σκεδαζόμενου φωτός.



Εικόνα 1-17 Πειραματική διάταξη της μεθόδου της δυναμικής σκέδασης φωτός

Για τα σφαιρικά σωματίδια, η υδροδυναμική διάμετρος του σωματιδίου D_h μπορεί να υπολογιστεί από τον συντελεστή διάχυσης με την εξίσωση Stokes-Einstein:

$$D_h = \frac{k_B \cdot T}{3 \cdot \pi \cdot \eta \cdot D_t}$$

όπου:

- D_h : υδροδυναμική διάμετρος
- η : ιξώδες του διαλύτη
- k_B : σταθερά Boltzmann
- T : θερμοκρασία

- D_t : συντελεστής διάχυσης

Η μετρούμενη υδροδυναμική διάμετρος αντανακλά τη διάσταση του NP (πυρήνας συν κέλυφος) μαζί με στρώμα επιφανειακά συνδεδεμένου διαλύτη.

Ωστόσο, η μέθοδος πάσχει από χαμηλή ευαισθησία στα μικρά σωματίδια και πιθανές παρεμβολές από είδη που απορροφούν το φως.

1.6.1.1 Μέγεθος (*size*)

Σε όλες τις εφαρμογές που περιλαμβάνουν τη χρήση νανοσωματιδίων, το μέγεθος των σωματιδίων παραμένει ως η πιο σημαντική παράμετρος καθώς πολλές από τις χημικές και φυσικές ιδιότητες που σχετίζονται με τα νανοσωματίδια εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τη διάμετρο των νανοσωματιδίων. [28]

Τα σωματίδια ανάλογα με το μέγεθός τους ονομάζονται μικροσωματίδια και νανοσωματίδια. Μικροσωματίδια χαρακτηρίζονται τα σωματίδια με διάμετρο που κυμαίνεται από 1 μm έως 1000 μm , ενώ ως νανοσωματίδια ορίζονται τα στερεά κολλοειδή σωματίδια με διάμετρο από 10 nm έως 1000 nm. Ο όρος νανοσωματίδιο περιλαμβάνει τόσο τις νανόσφαιρες όσο και τις νανοκάψουλες με 100 nm και 300 nm. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι στη φαρμακευτική η νανοκλίμακα αφορά σωματίδια που η διάμετρος τους συνήθως κυμαίνεται από 1 έως 100 nm, ώστε να συμπίπτει με τον μέγεθος των βιολογικών συστημάτων, όπως το κύτταρο, οι πρωτεΐνες και τα γονίδια. Όσο μικρότερο είναι το μέγεθος των σωματιδίων μειώνονται φαινόμενα καθίζησης και συσσωμάτωσης αλλά αυξάνεται και το ιξώδες του τελικού προϊόντος. [29] , [30]

Η κατανομή μεγέθους σωματιδίων και ο δείκτης πολυδιασποράς (PDI) των νανοφορέων είναι σημαντικά φυσικά χαρακτηριστικά που πρέπει να ληφθούν υπόψη κατά τη δημιουργία προϊόντων ποιότητας τροφίμων ή φαρμάκων. Αυτά τα χαρακτηριστικά των νανοφορέων μπορούν να επηρεάσουν τις ιδιότητες του όγκου, την απόδοση του προϊόντος, τη δυνατότητα επεξεργασίας, τη σταθερότητα και την εμφάνιση του τελικού προϊόντος.

Τεχνικές όπως εξώθηση, υπερήχηση, ομογενοποίηση ή/και κατάψυξη-απόψυξη χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο του μεγέθους και της κατανομής διαφόρων συστημάτων μεταφοράς φαρμάκων. Οι συνεχείς φυσικοχημικές βελτιώσεις στην ανάπτυξη των νανοφορέων έχουν ως αποτέλεσμα την βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας της εγκλεισμένης δραστικής ουσίας. Το μέγεθος των σωματιδίων είναι ένα πολύ κρίσιμο χαρακτηριστικό των νανοφορέων, καθώς επηρεάζει τη σταθερότητα, την αποτελεσματικότητα εγκλεισμού, το προφίλ απελευθέρωσης και την κυτταρική πρόσληψη. [31]

1.6.1.2 ζ-Δυναμικό (*ζ-potential*)

Για μικρά σωματίδια σε υγρό, δεν υπάρχει ικανοποιητική τεχνική για τον προσδιορισμό του επιφανειακού φορτίου των σωματιδίων. Η συνήθης πρακτική είναι να προσδιορίζεται το ηλεκτρικό δυναμικό ενός σωματιδίου σε μια τοποθεσία μακριά από την επιφάνεια των σωματιδίων, κάπου στο διάχυτο στρώμα. Αυτή η θέση, που σχετίζεται με την κίνηση των σωματιδίων στο υγρό, ονομάζεται επίπεδο ολίσθησης ή διάτμησης. Το δυναμικό που μετράται σε αυτό το επίπεδο ονομάζεται ζ-δυναμικό, το οποίο είναι μια πολύ σημαντική παράμετρος για κolloειδή ή νανοσωματίδια σε εναιώρηση. Η αξία του σχετίζεται στενά με τη σταθερότητα του εναιωρήματος και τη μορφολογία της επιφάνειας των σωματιδίων. Ως εκ τούτου, χρησιμοποιείται ευρέως σε μελέτες σταθερότητας προϊόντων και έρευνες προσρόφησης επιφάνειας. [32]

Οι διασπορές με ζ-δυναμικό μεταξύ -10 και $+10$ mV θεωρούνται περίπου ουδέτερες, ενώ αυτές με ζ-δυναμικό μεγαλύτερο από $+30$ mV ή μικρότερο από -30 mV θεωρούνται έντονα κατιονικές και έντονα ανιονικές, αντίστοιχα και σε κάθε περίπτωση σταθερές. Δεδομένου ότι οι περισσότερες κυτταρικές μεμβράνες είναι αρνητικά φορτισμένες, το ζ-δυναμικό μπορεί να επηρεάσει την τάση ενός νανοσωματιδίου να διαπερνά τις μεμβράνες, με τα κατιονικά σωματίδια να εμφανίζουν γενικά περισσότερη τοξικότητα που σχετίζεται με τη διάσπαση του κυτταρικού τοιχώματος [33].

1.6.1.3 Δείκτης πολυδιασποράς - *Polydispersity Index (Pdl)*

Ο δείκτης πολυδιασποράς (Pdl) αποτελεί μέτρο της ομοιομορφίας του μεγέθους των σωματιδίων. Όταν η τιμή του είναι κοντά στο μηδέν, τα σωματίδια έχουν ομοιόμορφη κατανομή μεγέθους, δηλαδή πρόκειται για μονοδιασπορά. Για τιμές μεγαλύτερες του 0.2, υπάρχει μεγάλη μεταβολή στο μέγεθος των σωματιδίων και επομένως πρόκειται για πολυδιασπορά. Το πλεονέκτημα ενός συστήματος μονοδιασποράς σχετίζεται με την ικανότητά του να παρέχει μια σταθερή ποσότητα της ένωσης, σε σύγκριση με ένα μίγμα από πολυδιασπαρμένα σωματίδια με διαφορετικές ικανότητες φόρτωσης. [30]

1.6.2 Φασματομετρία υπέρυθρου (FT-IR)

Μέσω της φασματομετρίας υπέρυθρου (FT-IR) επιτυγχάνεται ο δομικός χαρακτηρισμός των νανοσωματιδίων. Πραγματοποιείται ποιοτική ανάλυση των σωματιδίων, καθώς το φάσμα IR αποτελεί θεμελιώδη ιδιότητα κάθε μορίου, αποτυπώνει την φύση των ατόμων που βρίσκονται σε ένα μόριο και την διάταξή τους στον χώρο. Τα στερεά δείγματα, αναμειγνύονται σε καθορισμένη αναλογία με KBr και δημιουργούνται δισκία προκειμένου να αναλυθεί το δείγμα. Η υπέρυθρη ακτινοβολία προκαλεί διεγέρσεις μεταξύ των ενεργειακών σταθμών δόνησης και

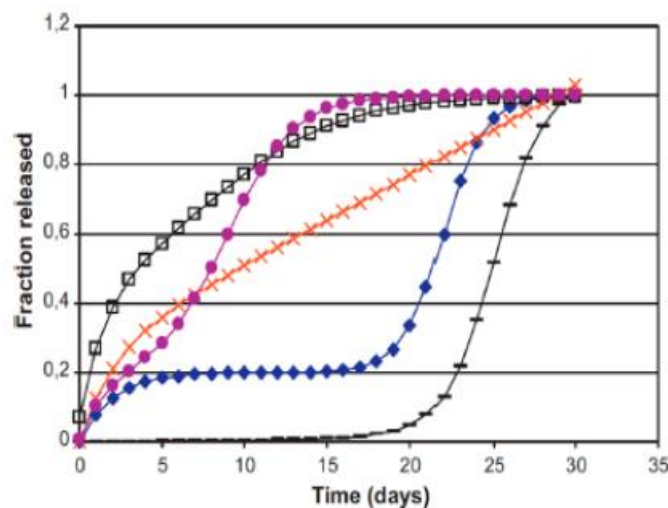
περιστροφής του μορίου. Η ταυτοποίηση μιας οργανικής ένωσης από το φάσμα της περιλαμβάνει τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών ομάδων, η παρουσία των οποίων καλύπτει τις συχνότητες από 3600 cm^{-1} έως 1250 cm^{-1} , και στην συνέχεια την σύγκριση του φάσματος της άγνωστης ουσίας με τα φάσματα καθαρών ουσιών, που περιέχουν όλες τις δραστικές ομάδες που βρέθηκαν στο πρώτο στάδιο (περιοχή από 1200 cm^{-1} έως 600 cm^{-1}).

1.7 Κινητική Απελευθέρωσης

Για τον πλήρη χαρακτηρισμό των νανοσωματιδίων απαιτείται η μελέτη του προφίλ απελευθέρωσης της δραστικής ουσίας από τους νανοφορείς. Το πιο σύνηθες προφίλ απελευθέρωσης από πολυμερικά συστήματα μεταφοράς δραστικής ουσίας είναι το τριφασικό προφίλ. Η διαμόρφωση του συγκεκριμένου προφίλ είναι η ακόλουθη:

- Η πρώτη φάση χαρακτηρίζεται από την απότομη απελευθέρωση (burst effect) των μορίων της δραστικής ουσίας που είναι επιφανειακά προσροφημένα
- Η δεύτερη φάση του προφίλ απελευθέρωσης είναι μια βραδεία φάση απελευθέρωσης, που αποδίδεται στη βραδεία διάχυση μέσω των πόρων του πολυμερούς ενώ παράλληλα αρχίζει η υδρόλυση και η αποικοδόμηση του πολυμερούς
- Η τρίτη φάση είναι μία ταχεία φάση απελευθέρωσης, η οποία ελέγχεται από τη διάβρωση του πολυμερούς

Ο ρυθμός απελευθέρωσης μπορεί να είναι διφασικός στην περίπτωση μικρότερων σωματιδίων.



Εικόνα 1-18 Πρότυπα προφίλ απελευθέρωσης φαρμάκων [γκρι καμπύλη: απότομη απελευθέρωση και ταχεία φάση II, μωβ καμπύλη: τριφασική απελευθέρωση με σύντομη φάση II, πορτοκαλί καμπύλη: απότομη απελευθέρωση μηδενικής τάξης, μπλε καμπύλη: τριφασική απελευθέρωση, μαύρη καμπύλη: διφασική απελευθέρωση]

Τα κυριότερα κινητικά μοντέλα απελευθέρωσης με τα οποία επιτυγχάνεται η καλύτερη περιγραφή των φαινομένων κατά την απελευθέρωση της δραστικής ένωσης είναι :

- Μηδενικής τάξης (Zero order)
- Πρώτης τάξης (Frist order)
- Higuchi
- Korsmeyer-Peppas

1.7.1 Μηδενικής τάξης (Zero order)

Η κινητική μηδενικής τάξης περιγράφει συστήματα όπου ο ρυθμός απελευθέρωσης της δραστικής ουσίας είναι σταθερός ανεξάρτητα από τη συγκέντρωσή της. Η εξίσωση που περιγράφει το κινητικό μοντέλο απελευθέρωσης μηδενικής τάξης είναι:

$$Q_t = Q_0 + K_0t$$

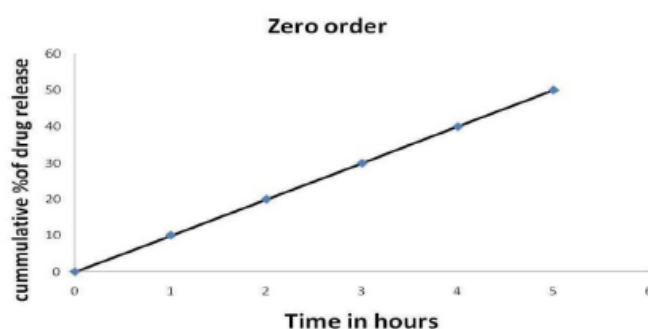
όπου:

Q_0 : η αρχική ποσότητα της δραστικής ουσίας στο διάλυμα

Q_t : η ποσότητα της δραστικής ουσίας που διαλύεται σε χρόνο t

K_0 : η σταθερά απελευθέρωσης μηδενικής τάξης

t : χρόνος (h)



1.7.2 Πρώτης τάξης (Frist order)

Η κινητική πρώτης τάξης περιγράφει συστήματα όπου ο ρυθμός απελευθέρωσης της δραστικής ουσίας εξαρτάται από τη συγκέντρωσή της. Η εξίσωση για κινητικό μοντέλο απελευθέρωσης πρώτης τάξης είναι:

$$\log Q_t = \log Q_0 + Kt/2.303$$

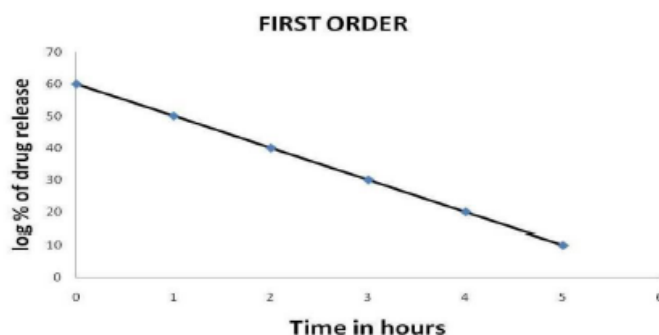
όπου:

Q_0 : η αρχική ποσότητα της δραστικής ουσίας στο διάλυμα

Q_t : η ποσότητα της δραστικής ουσίας που διαλύεται σε χρόνο t

K : η σταθερά απελευθέρωσης πρώτης τάξης

t : χρόνος (h)



Το συγκεκριμένο μοντέλο χρησιμοποιείται για να περιγράψει την απορρόφηση και την απέκκριση διαφόρων θεραπευτικών βιοδραστικών ενώσεων, οι οποίες είναι υδατοδιαλυτές και περικλείονται από πορώδη μήτρα.

1.7.3 Μοντέλο Higuchi

Το μοντέλο Higuchi περιγράφει την απελευθέρωση της δραστικής ουσίας με διάχυση που διέπεται από τον 1^ο νόμο του Fick. Η εξίσωση για το κινητικό μοντέλο Higuchi είναι:

$$Q = K_H t^{1/2}$$

ή

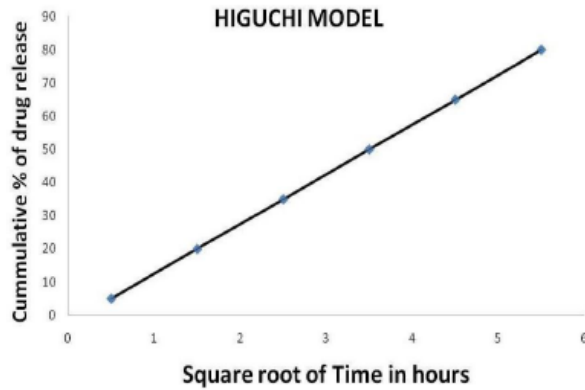
$$\frac{M_t}{M_0} = kt^{1/2}$$

όπου:

Q : η ποσότητα της δραστικής ουσίας που διαλύεται σε χρόνο t

K_H : σταθερά Higuchi

t : χρόνος (h)



1.7.4 Μοντέλο Korsmeyer-Peppas

Το μοντέλο Korsmeyer-Peppas είναι ένα ημι-εμπειρικό μοντέλο που περιγράφει την απελευθέρωση της δραστικής ουσίας με βάση την εκθετική σχέση της απελευθέρωσης και του χρόνου. Η εξίσωση K-P είναι :

$$F = M_t/M = K_m t^n$$

όπου:

F : κλάσμα της δραστικής ουσίας που απελευθερώνεται τη χρονική στιγμή t

M_t : ποσότητα της δραστικής ουσίας που απελευθερώνεται τη χρονική στιγμή t

M : συνολική ποσότητα της δραστικής ουσίας σε δοσολογική μορφή

K_m : κινητική σταθερά

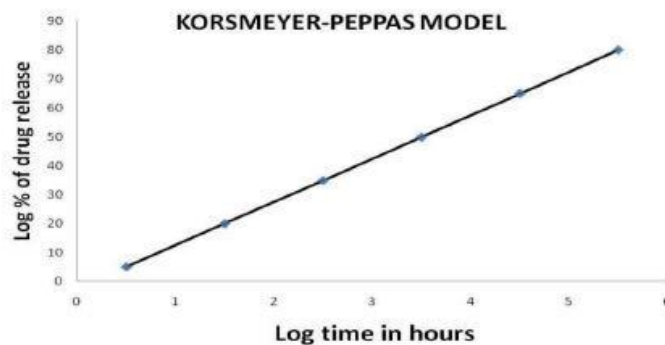
t : χρόνος σε h

n : εκθέτης διάχυσης ή απελευθέρωσης

Η συγκεκριμένη εξίσωση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση του πρώτου 60% των δεδομένων απελευθέρωσης της δραστικής ένωσης.

Η τιμή του εκθέτη διάχυσης ή απελευθέρωσης (n) του κινητικού μοντέλου Korsmeyer-Peppas χρησιμοποιείται για τον χαρακτηρισμό του μηχανισμού απελευθέρωσης. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι τιμές του εκθέτη διάχυσης που αντιστοιχούν για κάθε μηχανισμό απελευθέρωσης.

Μηχανισμός Απελευθέρωσης	Γεωμετρία	Εκθέτης Διάχυσης (n)
Fickian Διάχυση	Φιλμ	0.5
	Κύλινδρος	0.45
	Σφαίρα	0.43
Ανώμαλη Μεταφορά	Φιλμ	$0.5 < n < 1$
	Κύλινδρος	$0.45 < n < 0.89$
	Σφαίρα	$0.43 < n < 0.85$
Μη Fickian / Case II	Φιλμ	1
	Κύλινδρος	0.89
	Σφαίρα	0.85
Super Case II	Φιλμ	$n > 1$
	Κύλινδρος	$n > 0.89$
	Σφαίρα	$n > 0.85$



1.8 Πειραματικός Σχεδιασμός (Design of Experiment, DoE)

Για την παρασκευή της βέλτιστης υδρογέλης, απαιτείται ο βέλτιστος συνδυασμός των συστατικών της. Όλοι οι παράγοντες που αναλύθηκαν παραπάνω αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και επηρεάζουν την βιολογική δράση της υδρογέλης. Για τον λόγο αυτό είναι απαραίτητη η ανάλυση της ταυτόχρονης επίδρασης των παραμέτρων αυτών σε κάθε απόκριση που εξετάζεται.

Η χρήση πειραματικού σχεδιασμού για την αξιολόγηση και τη βελτιστοποίηση της σύστασης της υδρογέλης καθιστά δυνατή τη λήψη χρήσιμων πληροφοριών μέσα από μικρότερο αριθμό πειραμάτων, και κατά συνέπεια την ελαχιστοποίηση του κόστους και την επίτευξη των επιθυμητών αποκρίσεων. [34]

Η μεθοδολογία επιφάνειας απόκρισης (RSM) είναι μια συλλογή μαθηματικών και στατιστικών τεχνικών που χρησιμοποιείται για την ανάλυση των επιδράσεων αρκετών ανεξάρτητων μεταβλητών. Σε πολλές διεργασίες, η σχέση μεταξύ της απόκρισης και των ανεξάρτητων μεταβλητών είναι συνήθως άγνωστη. Επομένως, το πρώτο βήμα στην RSM είναι η προσέγγιση της συνάρτησης (απόκρισης) όσον αφορά την ανάλυση μεταβλητών (ανεξάρτητες μεταβλητές). Συνήθως, αυτή η διαδικασία χρησιμοποιεί μια πολυωνυμική εξίσωση χαμηλής τάξης σε μια προκαθορισμένη

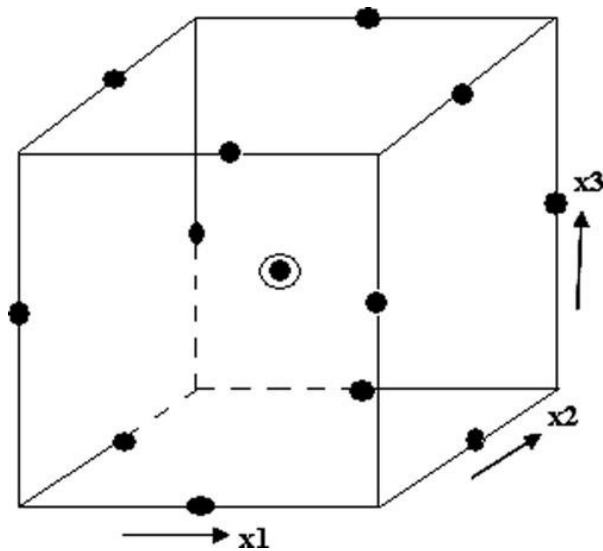
περιοχή των ανεξάρτητων μεταβλητών, η οποία αργότερα αναλύεται για να εντοπίσει τις βέλτιστες τιμές των ανεξάρτητων μεταβλητών για την καλύτερη απόκριση. Μάλιστα, τα γραφήματα επιφάνειας απόκρισης βοηθούν στην οπτικοποίηση των συσχετίσεων ανάμεσα στις πειραματικές συνθήκες και τις μελετούμενες αποκρίσεις. Ειδικότερα, τα τρισδιάστατα διαγράμματα της επιφάνειας απόκρισης αναπαριστούν τη σχέση ανάμεσα σε μία απόκριση και δύο ανεξάρτητες μεταβλητές, όταν οι υπόλοιπες διατηρούνται σε σταθερά επίπεδα. Μάλιστα, τα γραφήματα επιφάνειας απόκρισης βοηθούν στην οπτικοποίηση των συσχετίσεων ανάμεσα στις πειραματικές συνθήκες και τις μελετούμενες αποκρίσεις. Η RSM εφαρμόζεται όταν μια απόκριση ή ένα σύνολο αποκρίσεων που μας ενδιαφέρουν επηρεάζονται από διάφορες μεταβλητές. Ο στόχος είναι η ταυτόχρονη βελτιστοποίηση των τιμών αυτών των μεταβλητών για την επίτευξη της καλύτερης απόδοσης του συστήματος. [35] , [36]

Το βασικότερο πλεονέκτημα της RSM είναι ότι μειώνει τον αριθμό πειραματικών δοκιμών, εξοικονομώντας ενέργεια, χρόνο και πρώτες ύλες, καθώς ταυτόχρονα βελτιώνεται η ποιότητα των πληροφοριών που λαμβάνονται από τα αποτελέσματα σε σύγκριση με την μεμονωμένη μελέτη κάθε μεταβλητής. Χρησιμοποιείται ευρέως για βελτιστοποίηση της εξαγωγής πολυσακχαριτών, ελαίων, φλαβονοειδών, φαινολικών ενώσεων, ανθοκυανινών, διαλυτών σακχάρων, πρωτεϊνών και πολυφαινολών από διαφορετικά φυτικά υλικά. [37]

Όταν συνδυάζεται με τη συνάρτηση επιθυμητότητας, η οποία είναι ένας αλγόριθμος για βελτιστοποίηση πολλαπλών αποκρίσεων, η RSM μπορεί να βελτιστοποιήσει αποτελεσματικά προβλήματα πολλαπλών αποκρίσεων με πολλαπλές μεταβλητές. [38]

1.8.1 Πειραματικός Σχεδιασμός Box-Behnken

Ο πειραματικός σχεδιασμός Box-Behnken (BBD) είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για την εκτέλεση πειραμάτων πολλαπλών παραγόντων και επιτρέπει τον σχεδιασμό ενός προγνωστικού μοντέλου. Βασίζεται σε έναν κλασματικό παραγοντικό σχεδιασμό σε τρία επίπεδα (χαμηλό, ενδιάμεσο και υψηλό) και αποτελείται από μια ομάδα σημείων που βρίσκονται στο μέσο κάθε άκρης του πολυδιάστατου κύβου συν του κεντρικού σημείου το οποίο επαναλαμβάνεται εις τριπλούν.



Εικόνα 1-19 Ο σχεδιασμός Box-Behnken θέτει σημεία στο μέσο κάθε άκρου ενός πολυδιάστατου κύβου και στο κεντρικό σημείο εις τριπλούν

Ο πειραματικός σχεδιασμός BBD μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό των βέλτιστων συνθηκών για την επιθυμητή σύνθεση, όπου οι τετραγωνικοί όροι υπολογίζονται με τη συμμετοχή των αξονικών σημείων και η καθαρή πειραματική αβεβαιότητα στα επίπεδα των συντελεστών εκτιμάται από την επανάληψη των κεντρικών σημείων. [39]

Ο αριθμός των πειραμάτων (N) που απαιτούνται για την ανάπτυξη του BBD ορίζεται ως:

$$N = 2k(k - 1) + C_0$$

όπου k είναι αριθμός παραγόντων και C_0 είναι ο αριθμός των κεντρικών σημείων.

Ένα άλλο πλεονέκτημα του πειραματικού σχεδιασμού BBD είναι ότι δεν περιέχει συνδυασμούς για τους οποίους όλοι οι παράγοντες βρίσκονται ταυτόχρονα στα υψηλότερα ή χαμηλότερα επίπεδα. Συνεπώς αποφεύγονται πειράματα που εκτελούνται σε ακραίες συνθήκες, για τα οποία μπορεί να προκύψουν μη ικανοποιητικά αποτελέσματα. Με άλλα λόγια, δεν ενδείκνυνται για καταστάσεις στις οποίες θα θέλαμε να γνωρίζουμε τις απαντήσεις στα άκρα, δηλαδή στις κορυφές του κύβου. [40]

2 Πειραματικό Μέρος

2.1 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η ανάπτυξη μίας ολοκληρωμένης πράσινης διεργασίας παρασκευής υδρογελών με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών για τον εγκλεισμό αιθερίων ελαίων. Αρχικά, συντέθηκαν τα νανοσωματίδια χιτοζάνης εγκλείοντας αιθέρια έλαια λεβάντας και μέντας χρησιμοποιώντας τον Φυσικό Βαθέως Ευτηκτικό Διαλύτη (NADES) χλωριούχου χολίνης και ασκορβικού οξέος. Ο χαρακτηρισμός των νανοσωματιδίων ως προς το μέγεθος (size), τον δείκτη πολυδιασποράς (Pdl) και το ζ-δυναμικό (z-potential) πραγματοποιήθηκε μέσω της μεθόδου της δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS). Επίσης, πραγματοποιήθηκε δομικός χαρακτηρισμός τους μέσω φασματομετρίας υπερύθρου (FT-IR). Επιπλέον, μελετήθηκε το προφίλ και η κινητική απελευθέρωσης των νανοσωματιδίων χιτοζάνης με εγκλεισμένο αιθέριο έλαιο μέντας ως προς το κύριο συστατικό του, την μενθόλη. Τέλος, τα νανοσωματίδια χιτοζάνης ενσωματώθηκαν σε υδρογέλες αλγινικού με CaCl_2 .

Τα αιθέρια έλαια χαρακτηρίστηκαν ως προς τα συστατικά τους και ποσοτικοποιήθηκε η απελευθέρωσή τους μέσω της αεριοχρωματογραφίας (GC) σε συνδυασμό με την φασματομετρία ατομικών μαζών (MS) και δομικά μέσω την φασματομετρίας υπερύθρου (FT-IR).

Στην συνέχεια, στόχο αποτέλεσε η βελτιστοποίηση της σύστασης της υδρογέλης. Την σύσταση της υδρογέλης την καθορίζουν τρεις παράγοντες: η περιεκτικότητα του NADES (%v/v), η περιεκτικότητα της χιτοζάνης (%w/v) και η περιεκτικότητα του αλγινικού (%w/v). Οι υδρογέλες αξιολογήθηκαν από την ικανότητα διόγκωσης της υδρογέλης, την ικανότητα συγκράτησης νερού και την ικανότητα απορρόφησης ελαίου. Η βελτιστοποίηση της πράσινης διεργασίας επιτεύχθηκε με την χρήση του πειραματικού σχεδιασμού Bow-Behnken τριών επιπέδων.

Έπειτα, παρασκευάστηκαν οι υδρογέλες με την βέλτιστη σύσταση και αξιολογήθηκαν εκ νέου ως προς τις μηχανικές τους ιδιότητες και την απορρόφηση ελαίου. Έτσι, πραγματοποιήθηκε επιβεβαίωση του βελτιστοποιημένου μοντέλου που προτάθηκε από τον πειραματικό σχεδιασμό και εξετάστηκε η επαναληψιμότητα των αποκρίσεων. Τέλος οι βέλτιστες υδρογέλες χαρακτηρίστηκαν δομικά μέσω της φασματομετρίας υπερύθρου (FT-IR).

2.2 Όργανα, συσκευές και αντιδραστήρια

Κατά την διεξαγωγή των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω όργανα-συσκευές και αντιδραστήρια:

Πίνακας 2-1 Πίνακας οργάνων και συσκευών

Όργανο-Συσκευή	Κατασκευαστής	Μοντέλο
Ζυγός ακριβείας (μέχρι 210 g)	KERN	ADB 200-4
Ζυγός ακριβείας (μέχρι 2 g)	Sartorius	M2P
Μαγνητικός αναδευτήρας με θερμαινόμενο μάτι	Witeg	MSH-20A
Αναδευτήρας τύπου Vortex	Velp	ZX4
Λουτρό υπερήχων	Branson	2210 Ultrasonic Bath
Πεχάμετρο	Metrohm	744
Φασματόμετρο FT-IR	Jasco	4200
Συσκευή λυοφιλίωσης	Frozen In Time	Lablyo Mini
DLS		Zetasizer Nano ZS
Φυγόκεντρος	Sorvall	LYNX 6000
Επωαστήρας (Incubator)	Gallenkamp	
Αέριος Χρωματογράφος (GC)	VARIAN	450
Φασματόμετρο Ατομικών Μαζών (MS)	VARIAN	420

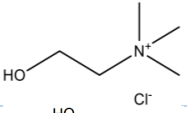
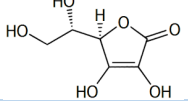
Πίνακας 2-2 Πίνακας αντιδραστηρίων

Αντιδραστήριο	Μοριακός Τύπος	Προμηθευτής
Νερό (απιονισμένο)	H ₂ O	-
Χλωριούχος χολίνη	C ₅ H ₁₄ ClNO	Alfa Aesar
Ασκορβικό Οξύ	C ₆ H ₈ O ₆	Duchefa
Χιτοζάνη		Glentham Life Sciences
Καυστικό Νάτριο	NaOH	Panreac
Αιθέριο έλαιο λεβάντας		
Αιθέριο έλαιο μέντας		Pranarom
Αλγινικό Νάτριο		Glentham Life Sciences
Χλωριούχο Ασβέστιο	CaCl ₂	Glentham Life Sciences
Υδροχλώριο	HCl	

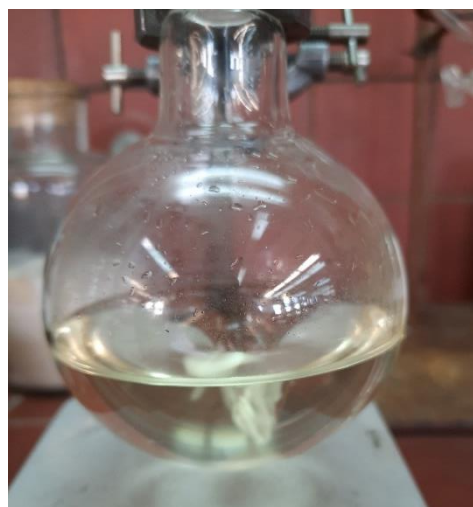
2.3 Παρασκευή του NADES

Το NADES που χρησιμοποιήθηκε παρασκευάστηκε με την μέθοδο της θέρμανσης σε συνδυασμό με μαγνητική ανάδευση. Τα επιμέρους συστατικά του παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 2-3 Πίνακας συστατικών των NADES

Ένωση	Μοριακός τύπος	Συντακτικός τύπος	Μοριακό βάρος (g/mol)
Χλωριούχος Χολίνη	C ₅ H ₁₄ ClNO		139.62
Ασκορβικό οξύ	C ₆ H ₈ O ₆		176.12

Το NADES χλωριούχος χολίνη : ασκορβικό οξύ (ChCl:AA) παρασκευάζεται με την μέθοδο της θέρμανσης. Το μίγμα παρασκευάστηκε με ανάμιξη 2.9927 g χλωριούχου χολίνης και 1.887 g ασκορβικού οξέος για να ληφθεί η μοριακή αναλογία 2:1. Τα συστατικά μεταφέρθηκαν σε σφραγισμένη γυάλινη φιάλη και θερμάνθηκαν στους 70 °C, με συνεχή μαγνητική ανάδευση, για τον απαιτούμενο χρόνο μέχρι το σχηματισμό ενός διαυγούς υγρού (περίπου 3h). Το μείγμα αφέθηκε να κρυώσει φυσικά σε θερμοκρασία δωματίου και στην συνέχεια αποθηκεύτηκε σε ξηραντήρα. [6]



Εικόνα 2-1 Πειραματική διάταξη κατά την παρασκευή του NADES και το σχηματισμένο NADES

2.4 Δομικός Χαρακτηρισμός NADES

2.4.1 Πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός (NMR)

Η καταγραφή των φασμάτων πρωτονίου (¹H) NMR πραγματοποιείται με τα όργανα Varian 300 MHz και 600 MHz. Για την παρασκευή του δείγματος χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης το δευτεριωμένο διμεθυλο-σουλφοξείδιο (DMSO-d₆). Οι τιμές των μετατοπίσεων μετρώνται σε ppm ως προς τη συχνότητα συντονισμού του

τετραμεθυλοσιλανίου (TMS) και η πολλαπλότητα των σημάτων αναφέρεται ως s (singlet, απλό), d (double, διπλό), t (triple, τριπλό), q (quartet, τετραπλό), m (multiplet, πολλαπλό), br (broad, ευρύ), dd (doublet of doublets, διπλή διπλών), tt (triplet of triplets, τριπλή τριπλών) και td (triplet of doublets, τριπλή διπλών). Οι σταθερές συζεύξεως (J) δίνονται σε Hz. Ως διαλύτης φάσματος ^1H NMR, χρησιμοποιείται δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO- d_6).

2.4.2 Φασματοσκοπία υπέρυθρου FT-IR

Μικρή ποσότητα δείγματος αναμειγνύεται με ξηρό βρωμιούχο κάλιο (KBr) και λειοτριβείται έως ότου προκύψει ένα ομοιογενές μίγμα. Με χρήση πρέσας 10tn μικρή ποσότητα του μίγματος γίνεται παστίλια και μελετάται η αλληλεπίδρασή του δείγματος με την υπέρυθη α -κτινοβολία στο εύρος $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$. Τα φάσματα FT-IR καταγράφηκαν σε φασματογράφο JASCO 4200.

2.5 Χαρακτηρισμός αιθερίων ελαίων

2.5.1 Ανάλυση μέσω Αεριοχρωματογραφίας (GC) σε συνδυασμό με Φασματομετρία Ατομικών Μαζών (MS)

Για την ανάλυση της χημικής σύστασης των αιθερίων ελαίων χρησιμοποιήθηκε αέριος χρωματογράφος συζευγμένος με φασματόμετρο μάζας (Gas Chromatography (GC)). Εγχύθηκε 1 μL δείγματος στο χρωματογράφο και πραγματοποιήθηκε διαχωρισμός ροής. Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε είναι η VF-5ms της Varian με διαστάσεις 30 m x 0.25 mm x 0.25 μm . Ως φέρον αέριο επιλέχθηκε το ήλιο (He) με παροχή 1 mL/min. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα που επιλέχθηκε ήταν το εξής: αρχική θερμοκρασία 36 °C για 3 min, 190 °C με ρυθμό 3 °C/min. Ο συνολικός χρόνος παραμονής ήταν 54.33 min.

Για την ανίχνευση και την ταυτοποίηση των ενώσεων χρησιμοποιήθηκε Mass Spectrometer Varian 220-MS με παγίδα ιόντων (Ion Trap).

2.5.2 Δομικός χαρακτηρισμός μέσω Υπέρυθρης φασματομετρίας μετασχηματισμού Fourier (FT-IR)

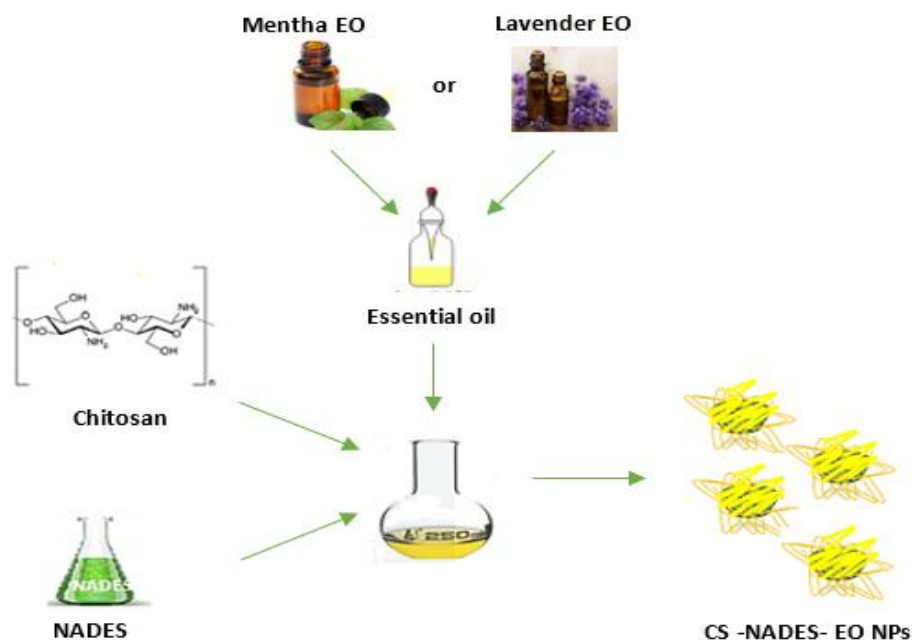
Η φασματοσκοπία μετασχηματισμού Fourier υπέρυθρης ακτινοβολίας (FTIR) εφαρμόστηκε για ανάλυση της χημικής δομής των αιθερίων ελαίων. Η διάταξη που χρησιμοποιείται είναι η FT-IR 4200 Jasco του Εργαστηρίου Αναλυτικής Χημείας. Συγκεκριμένα, λαμβάνονται τα φάσματα των αιθερίων ελαίων λεβάντας και μέντας. Τα δείγματα αναμείχθηκαν με βρωμιούχο κάλιο (KBr) σε αναλογία 1:40, αλέστηκαν

καλά και πιέστηκαν για να σχηματιστούν δισκία (παστίλιες). Στη συνέχεια λαμβάνεται φάσμα κυματαριθμών (cm^{-1}) μεταξύ 4000 cm^{-1} και 400 cm^{-1} συναρτήσει της αλληλεπίδρασης της ένωσης με την υπέρυθη ακτινοβολία, το οποίο χρησιμοποιείται για το χαρακτηρισμό των ενώσεων και τον έλεγχο της καθαρότητάς τους.

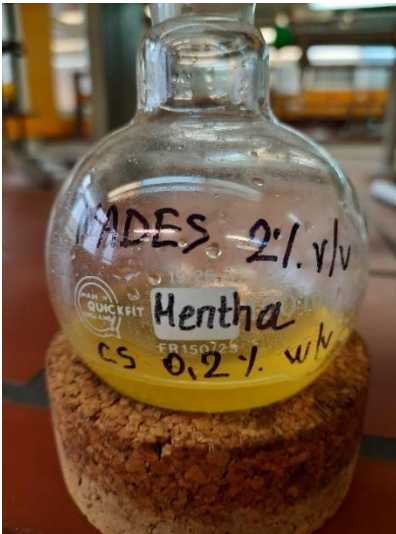
2.6 Παρασκευή Νανοσωματιδίων Χιτοζάνης ως φορείς αιθερίων ελαίων

2.6.1 Μέθοδος σχηματισμού νανοσωματιδίων

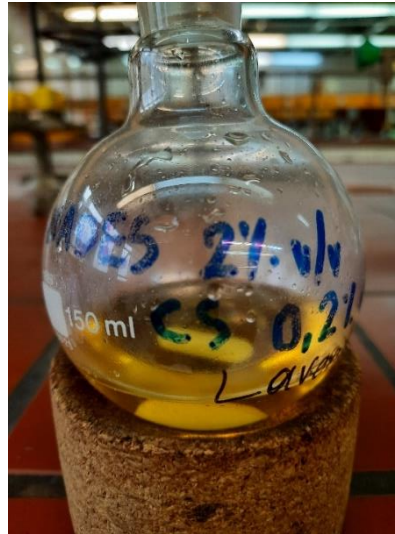
Σε σφαιρική φιάλη προστίθενται διάλυμα NADES και ποσότητα χιτοζάνης (CS). Το διάλυμα NADES έχει όξινο pH, επομένως η χιτοζάνη διαλύεται εύκολα. Το μείγμα αναδεύεται για 15 min μέχρι την πλήρη διαλυτοποίηση της χιτοζάνης. Στην συνέχεια φυγοκεντρείται για 15 min στις 15,000 rpm με στόχο την απομάκρυνση των ακαθαρσιών. Το υπερκείμενο διάλυμα οδηγείται σε νέα σφαιρική φιάλη όπου προστίθεται το αιθέριο έλαιο σε αναλογία 1:1 σε σχέση με την ποσότητα της χιτοζάνης. Ακολουθεί έντονη μαγνητική ανάδευση για 1 h ώστε να σχηματιστούν τα νανοσωματίδια. Στην συνέχεια τα νανοσωματίδια οδηγούνται στο λουτρό υπερήχων σε ένταση 18% για 2 min, με στόχο την αποφυγή συσσωμάτωσής τους.



Εικόνα 2-2 Μέθοδος παρασκευής νανοσωματιδίων



Εικόνα 2-5 Νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο μέντας



Εικόνα 2-5 Νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο λεβάντας



Εικόνα 2-5 Νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο λεβάντας μετά την λυοφιλοποίηση

2.6.2 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων

2.6.2.1 Προσδιορισμός μεγέθους (size), δείκτη πολυδιασποράς (PDI) και ζ-δυναμικού (z-potential)

Ο προσδιορισμός του μεγέθους (size), της κατανομής μεγέθους (PDI) και του ζ-δυναμικού των συμπλόκων έγινε μέσω της μεθόδου Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (Dynamic Light Scattering, DLS) με χρήση του οργάνου Zetasizer Nano ZS.

Σε ένα γυάλινο φιαλίδιο τοποθετούνται 1 mL διαλύματος νανοσωματιδίων και 20 mL υπερκάθαρου νερού και αναδεύονται για 2 min σε αναδευτήρα τύπου Vortex, για να δημιουργηθεί ομοιόμορφη διασπορά. Το δείγμα τοποθετείται με χρήση σύριγγας στην κυψελίδα τύπου U (DTS, Malvern, UK) και εισάγεται στο όργανο σε θερμοκρασία 25 °C. Με τη χρήση κατάλληλου λογισμικού λαμβάνονται οι μετρήσεις. Για κάθε ένα από τα μεγέθη πραγματοποιούνται τρεις μετρήσεις και λαμβάνεται ο μέσος όρος.

2.6.2.2 Μελέτη δομής μέσω Υπέρυθρης φασματοσκοπίας μετασχηματισμού Fourier (FT-IR)

Η φασματοσκοπία μετασχηματισμού Fourier υπέρυθρης ακτινοβολίας (FTIR) εφαρμόστηκε για ανάλυση της χημικής δομής των νανοσωματιδίων χιτοζάνης. Η διάταξη που χρησιμοποιείται είναι η FT-IR 4200 Jasco του Εργαστηρίου Αναλυτικής Χημείας. Συγκεκριμένα, λαμβάνονται τα φάσματα των λιοφιλοποιημένων νανοσωματιδίων. Τα δείγματα αναμείχθηκαν με βρωμιούχο κάλιο (KBr) σε αναλογία 1:40, αλέστηκαν καλά και πιέστηκαν για να σχηματιστούν δισκία (παστίλιες). Στη συνέχεια λαμβάνεται φάσμα κυματαριθμών (cm^{-1}) μεταξύ 4000 cm^{-1} και 400 cm^{-1} συναρτήσει της αλληλεπίδρασης της ένωσης με την υπέρυθρη ακτινοβολία, το οποίο χρησιμοποιείται για το χαρακτηρισμό των ενώσεων και τον έλεγχο της καθαρότητάς τους.

2.6.2.3 Μελέτη κινητικής Απελευθέρωσης

Με στόχο την τη μελέτη του μοντέλου κινητικής απελευθέρωσης του αιθερίου ελαίου της μέντας από τα νανοσωματίδια, εφαρμόστηκε η μέθοδος με μεμβράνη διάλυσης-διάχυσης (Dialysis bag method). Αρχικά, παρασκευάζεται ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων με $\text{pH}=7.4$. Στην συνέχεια, μετρούνται 5 ml νανοσωματιδίων και εισάγονται μέσα σε μία μεμβράνη. Η μεμβράνη ασφαρίζεται καλά και εισάγεται στο ποτήρι ζέσεως με το ρυθμιστικό διάλυμα, σε θερμοκρασία 37°C και σε συνεχή μαγνητική ανάδευση. Με το πέρας του χρόνου, τα νανοσωματίδια διασπώνται και το εγκλεισμένο αιθέριο έλαιο διαχέεται μέσα από την μεμβράνη προς το ρυθμιστικό διάλυμα. Σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα 20 min, 1h, 2h, 3h και 4h λαμβάνεται 1 ml από το ρυθμιστικό διάλυμα σε μικρό φιαλίδιο και ταυτόχρονα προστίθεται 1 ml ρυθμιστικού διαλύματος μέσα στο ποτήρι ζέσεως. Τα δείγματα αναλύονται με GC-MS, προκειμένου να υπολογιστεί το αιθέριο έλαιο που απελευθερώθηκε συναρτήσει του χρόνου. Με τα δεδομένα που προκύπτουν, σχεδιάζεται το διάγραμμα ποσοστιαίου ρυθμού απελευθέρωσης καθώς και τα διαγράμματα των κινητικών μοντέλων απελευθέρωσης.

2.7 Παρασκευή Υδρογελών με ενσωματωμένα τα νανοσωματίδια χιτοζάνης

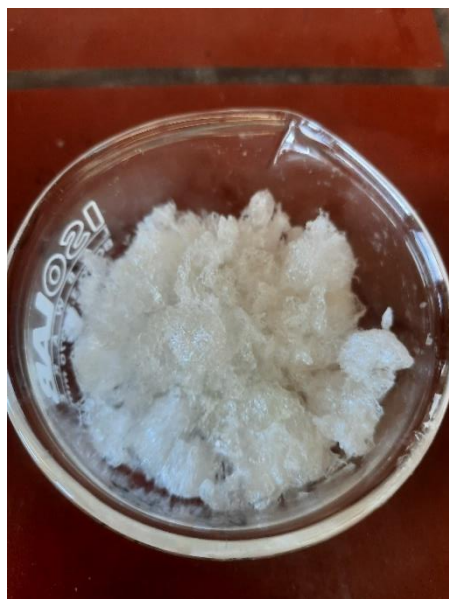
2.7.1 Σχηματισμός υδρογελών

Τα νανοσωματίδια που έχουν παρασκευαστεί αναμειγνύονται με διάλυμα αλγινικού οξέος σε αναλογία 1:1. Το μείγμα αναδεύεται για 5 min με μηχανική ανάδευση με την χρήση ράβδου. Στην συνέχεια προστίθεται στάγδην διάλυμα CaCl_2 5% w/v με συνεχή ανάδευση ώστε να σχηματιστεί το πλέγμα της υδρογέλης. Η σχηματισμένες υδρογέλες, αφού ψυχθούν για 1 h, ξεπλένονται με υπερκάρθο νερό με στόχο την

απομάκρυνση της περίσσειας CaCl_2 . Τέλος, οι υδρογέλες οδηγούνται στην συσκευή λυοφιλοποίησης και έπειτα αποθηκεύονται σε ξηρό μέρος.



Εικόνα 2-7 Υδρογέλη πριν την λυοφιλοποίηση



Εικόνα 2-7 Υδρογέλη πριν την λυοφιλοποίηση

2.7.2 Χαρακτηρισμός υδρογελών

2.7.2.1 Προσδιορισμός ικανότητας διόγκωσης – Swelling Ratio

Από τις λυοφιλοποιημένες υδρογέλες ζυγίζεται μάζα 6 mg από κάθε δείγμα και εισάγεται σε φιαλίδιο που περιέχει διάλυμα υδροχλωρικού οξέος (HCl) 0.1 N και pH ίσο με 1.2. Ο προσδιορισμός του ρυθμού διόγκωσης πραγματοποιήθηκε λαμβάνοντας τιμές της μάζας των διογκωμένων υδρογελών στα χρονικά διαστήματα 5 min, 10 min, 20 min, 40 min, 1 h, 2 h και 3h. Η μέτρηση της μάζας των διογκωμένων υδρογελών πραγματοποιήθηκε μετά από την αφαίρεση της επιφανειακής περίσσειας HCl με διηθητικό χαρτί.

Η ικανότητα διόγκωσης υπολογίζεται σύμφωνα με την εξίσωση που ακολουθεί:

$$SC (\%) = \frac{W_s - W_d}{W_d} * 100$$

όπου:

SC: η ικανότητα διόγκωσης

Ws : η μάζα διογκωμένων υδρογελών

W_d : η μάζα ξηρών υδρογελών



Εικόνα 2-8 Διογκωμένη υδρογέλη μέσα σε διάλυμα HCl

2.7.2.2 Προσδιορισμός ικανότητας συγκράτησης του νερού – *Water Retention Ratio*

Η ικανότητα συγκράτησης του νερού προσδιορίζεται από το χρονικό σημείο όπου η υδρογέλη έχει φτάσει στο σημείο ισορροπίας. Στο σημείο ισορροπίας, η μάζα της υδρογέλης διατηρείται πρακτικά σταθερή. Το ποσοστό συγκράτησης νερού εκφράζεται ως το ποσοστό της ποσότητας του νερού που συγκρατείται σε σχέση με το σημείο ισορροπίας. Η ικανότητα συγκράτησης νερού υπολογίζεται σύμφωνα με την εξίσωση:

$$WRR (\%) = \frac{W_s - W_d}{W_e - W_d} * 100$$

όπου:

WRR: το ποσοστό συγκράτησης νερού

W_s : η μάζα διογκωμένων υδρογελών

W_d : η μάζα ξηρών υδρογελών

W_e: η μάζα της υδρογέλης στο σημείο ισορροπίας

Οι υδρογέλες παραμένουν στο φιαλίδιο όπου πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός του ρυθμού διόγκωσης και ανά 5 min, 10 min, 20 min, 40 min, 1 h, 2 h και 3h λαμβάνεται η τιμή της μάζας τους.

2.7.2.3 Προσδιορισμός ικανότητας απορρόφησης ελαίου – Oil Absorption

Το πεπτικό χημικό πειραματικό μοντέλο επέτρεψε τη μίμηση, στο εργαστήριο, των *in vivo* αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα στο στομάχι και το δωδεκαδάκτυλο.

Σε ένα ποτήρι ζέσης προστίθεται διάλυμα υδροχλωρικού οξέος (HCl) 0.1 N με pH=1.2 και φέρεται σε θερμοκρασία 37°C για την προσομοίωση του γαστρικού περιβάλλοντος. Στην συνέχεια προστίθεται η υδρογέλη και αναδεύεται για 1 h σε ήπια ανάδευση προσεγγίζοντας τις συνθήκες του στομάχου κατά την πέψη. Έπειτα, προστίθεται ποσότητα ελαίου και συνεχίζεται η ανάδευση για 30 min στους 37°C. Τα είδη ελαίων που προστίθενται είναι τρία: ελαιόλαδο, ηλιέλαιο και αραβοσιτέλαιο. Σύμφωνα με τα διαφορετικά περιεχόμενα λιπιδίων στη διατροφή του ανθρώπου 4.0 g αντιστοιχούν στο 12% της πρόσληψης λιπιδίων, 10.0 g αντιστοιχούν στο 30% της πρόσληψης λιπιδίων, 16,0 g αντιστοιχούν στο 48% της πρόσληψης λιπιδίων και 32.0 g που αντιστοιχούν στο 96 % της πρόσληψης λιπιδίων. Στην συγκεκριμένη μελέτη προστίθενται σταθερά 32 g ελαίου σε όλα τα δείγματα ώστε να εξεταστεί η μεγαλύτερη δυνατή πρόσληψη λιπιδίων. Μετά το πέρας των 30 min, προστίθεται διάλυμα NaOH στάγδην έως ότου το pH γίνει ίσο με 6.8 (η θερμοκρασία διατηρείται σταθερή) και η ανάδευση γίνεται έντονη, προσομοιάζοντας το περιβάλλον του δωδεκαδάκτυλου.



Εικόνα 2-11 Πειραματική διαδικασία με χρησιμοποιούμενο λάδι το ηλιέλαιο



Εικόνα 2-11 Πειραματική διαδικασία με χρησιμοποιούμενο λάδι το αραβοσιτέλαιο



Εικόνα 2-11 Πειραματική διαδικασία με χρησιμοποιούμενο λάδι το ελαιόλαδο

Μετά από 30 min, η υδρογέλη αφαιρείται από το διάλυμα και απομακρύνεται η εξωτερική ποσότητα ελαίου και HCl με διηθητικό χαρτί. Μεταφέρεται σε σφαιρική φιάλη, όπου γίνεται έκπλυση με αιθέρα καταστρέφοντας την γέλη ώστε να δεσμευτεί το λάδι που απορροφήθηκε από τον αιθέρα. Ο αιθέρας με το λάδι αποχύνεται σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη, εξατμίζεται και τέλος, ζυγίζεται η μάζα του λαδιού που απορροφήθηκε.



Εικόνα 2-12 Υδρογέλη με απορροφημένο λάδι

2.7.3 Προκαταρκτικά πειράματα

Για την παρασκευή των νανοσωματιδίων χιτοζάνης χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ιονοτροπικής πηκτωμάτωσης με χρήση φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών.

Σε μία σφαιρική φιάλη παρασκευάζονται 100 ml διαλύματος NADES 2% v/v με pH=2.62. Έπειτα, προστίθενται 200 mg χιτοζάνης (0.2% w/v) και το μείγμα αναδεύεται με μαγνητική ανάδευση μέχρι την πλήρη διαλυτοποίηση της χιτοζάνης. Το μείγμα, στην συνέχεια, φυγοκεντρείται για 15 min στις 15000 rpm και διαχωρίζονται τυχόν ακαθαρσίες. Τα έλαια τα οποία χρησιμοποιούνται είναι το αιθέριο έλαιο λεβάντας και το αιθέριο έλαιο μέντας. Το αιθέριο έλαιο προστίθεται με αναλογία 1:1 σε σχέση με την ποσότητα χιτοζάνης.

Τα νανοσωματίδια που παρασκευάστηκαν φαίνονται παρακάτω:

- CS (0.2% w/v) - NADES (2% v/v) - Lavender EO
- CS (0.2% w/v) - NADES (2% v/v) - Mentha EO
- CS (0.2% w/v) - NADES (2% v/v)

Για την παρασκευή των υδρογελών, λαμβάνονται 2 ml από κάθε δείγμα νανοσωματιδίων που παρασκευάστηκαν και αναμειγνύονται με 2 ml διαλύματος αλγινικού 2% w/v. Στην συνέχεια, παρασκευάζεται διάλυμα CaCl₂ 5% w/v και προστίθεται στάγδην και με συνεχή ανάδευση σε κάθε δείγμα για τον σχηματισμό της υδρογέλης. Τέλος, οι υδρογέλες οδηγούνται στην συσκευή λυοφιλίωσης και έπειτα αποθηκεύονται σε ξηρό μέρος.



Εικόνα 2-14 Υδρογέλη πριν την
λυοφιλιοποίηση



Εικόνα 2-14 Υδρογέλη μετά την λυοφιλιοποίηση

2.7.4 Πειραματικός Σχεδιασμός – Design of Experiments (DoE)

Αφού πραγματοποιηθεί η πρώτη σειρά πειραμάτων, διεξάγεται ένας πειραματικός σχεδιασμός Box Behnken Design τριών παραγόντων, τριών επιπέδων (3^3) για τη στατιστική βελτιστοποίηση της σύστασης παρασκευής των υδρογελών. Η κατασκευή και η εκτίμηση του πειραματικού σχεδιασμού πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το λογισμικό *Design-Expert® Έκδοση 12, Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA*. Οι υδρογέλες αξιολογούνται με βάση την ικανότητα διόγκωσής τους, την ικανότητα συγκράτησης νερού και την ικανότητα απορρόφησης ελαίου. Παρατηρήθηκε πως η υδρογέλη με εγκλεισμένο το αιθέριο έλαιο λεβάντας είχε τα βέλτιστα αποτελέσματα. Για τον λόγο αυτόν, ο πειραματικός σχεδιασμός στηρίχθηκε στην υδρογέλη:

CS (0,2% w/v) - NADES (2% v/v) - Lavender EO

Με βάση τα αποτελέσματα της αξιολόγησης, επιλέχθηκαν τα όρια για τις τιμές των πειραματικών παραμέτρων που θα καθορίσουν την δεύτερη σειρά πειραμάτων, κατά την οποία επιτυγχάνεται βελτιστοποίηση της σύστασης της υδρογέλης μέσω πειραματικού σχεδιασμού, τύπου Box-Behnken.

Οι ανεξάρτητες μεταβλητές που θα εξεταστούν είναι οι παρακάτω:

Πίνακας 2-4 Ανεξάρτητες μεταβλητές πειραματικού σχεδιασμού

X1	X2	X3
Φυσικός Βαθέως Ευτηκτικός Διαλύτης (% v/v)	Χιτοζάνη (% w/v)	Αλγινικό (% w/v)

Για κάθε μία ανεξάρτητη μεταβλητή ορίζονται τρεις τιμές: η ελάχιστη, η μέση και η μέγιστη τιμή που μπορεί να λάβει κάθε μεταβλητή. Έτσι έχουμε:

Πίνακας 2-5 Εύρη τιμών ανεξάρτητων μεταβλητών

	Ελάχιστη τιμή	Μέση τιμή	Μέγιστη τιμή
X1 (%v/v)	2	3.5	5
X2 (%w/v)	0.2	0.5	0.8
X3 (%w/v)	1	3	5

Με βάση τις παραπάνω τιμές, πραγματοποιήθηκαν 15 πειράματα όπως προτάθηκαν από το πρόγραμμα Design Expert. Ο κωδικός της κάθε υδρογέλης καθώς και η σύστασή της δίνονται στον ακόλουθο πίνακα:

Πίνακας 2-6 Δεδομένα πειραματικού σχεδιασμού

Αριθμός Πειραμάτων	X1 (%v/v)	X2 (%w/v)	X3 (%w/v)
1	3.5	0.2	1
2	3.5	0.8	1
3	3.5	0.5	3
4	3.5	0.5	3
5	5	0.5	5
6	2	0.5	5
7	2	0.8	3
8	3.5	0.2	5
9	3.5	0.5	3
10	5	0.5	1
11	2	0.5	1
12	5	0.8	3
13	5	0.2	3
14	3.5	0.8	5
15	2	0.2	3

2.7.5 Προσδιορισμός της βέλτιστης υδρογέλης

Στόχος του πειραματικού σχεδιασμού είναι η βελτιστοποίηση της σύστασης της υδρογέλης αυξάνοντας στον μέγιστο βαθμό την ικανότητα διόγκωσής της, την ικανότητα συγκράτησης νερού και την ικανότητα απορρόφησης ελαίου. Τα παραπάνω αποτελούν τις εξαρτημένες μεταβλητές της μελέτης και συμβολίζονται ως εξής:

Πίνακας 2-7 Εξαρτημένες μεταβλητές του πειραματικού σχεδιασμού

R1	R2	R3
Ικανότητα διόγκωσης (%) (10min)	Ικανότητα συγκράτησης νερού (%) (2h)	απορρόφησης ελαίου (mg)

Κατά την διεξαγωγή των 15 πειραμάτων προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

Πίνακας 2-8 Αποτελέσματα πειραματικού σχεδιασμού

Αριθμός Πειραμάτων	Ικανότητα Διόγκωσης (%)	Ικανότητα Συγκράτησης Νερού (%)	Απορρόφησης Ελαίου (mg)
1	365.625	46.5812	172.5
2	607.143	69.7059	153.3
3	600	73.2026	6.1
4	450.685	75.6684	86.8
5	406.061	94.5205	0
6	462.903	97.9094	109.8
7	170.769	97.619	116.8
8	509.091	67.1429	0.1
9	552.727	56.25	64.8
10	305.455	55.3571	22.1
11	337.037	80.2198	293.1
12	200	68.9796	250.3
13	590.741	78.9969	20.2
14	541.935	87.7976	3.5
15	353.846	84.8624	388.9

Πραγματοποιήθηκε στατιστική μελέτη τα παραπάνω αποτελεσμάτων μέσω του προγράμματος Design Expert και επιλέχθηκε το κατάλληλο μοντέλο παλινδρόμησης που συσχετίζει αποτελεσματικότερα κάθε απόκριση με τις ανεξάρτητες μεταβλητές, με αποτέλεσμα να προκύψει η παρακάτω βέλτιστη σύσταση:

Πίνακας 2-9 Βέλτιστη σύσταση της υδρογέλης

NADES (% v/v)	Χιτοζάνη (%w/v)	Αλγινικό (%w/v)
2	0.2	4.67

Με βάση την βέλτιστη σύσταση που προέκυψε, παρασκευάστηκαν οι ακόλουθες υδρογέλες:

- Υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο λεβάντας

- Υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο μέντας
- Υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών χωρίς εγκλεισμένο αιθέριο έλαιο
- Υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη με αιθέριο έλαιο λεβάντας
- Υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη με αιθέριο έλαιο μέντας
- Υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη χωρίς εγκλεισμένο αιθέριο έλαιο

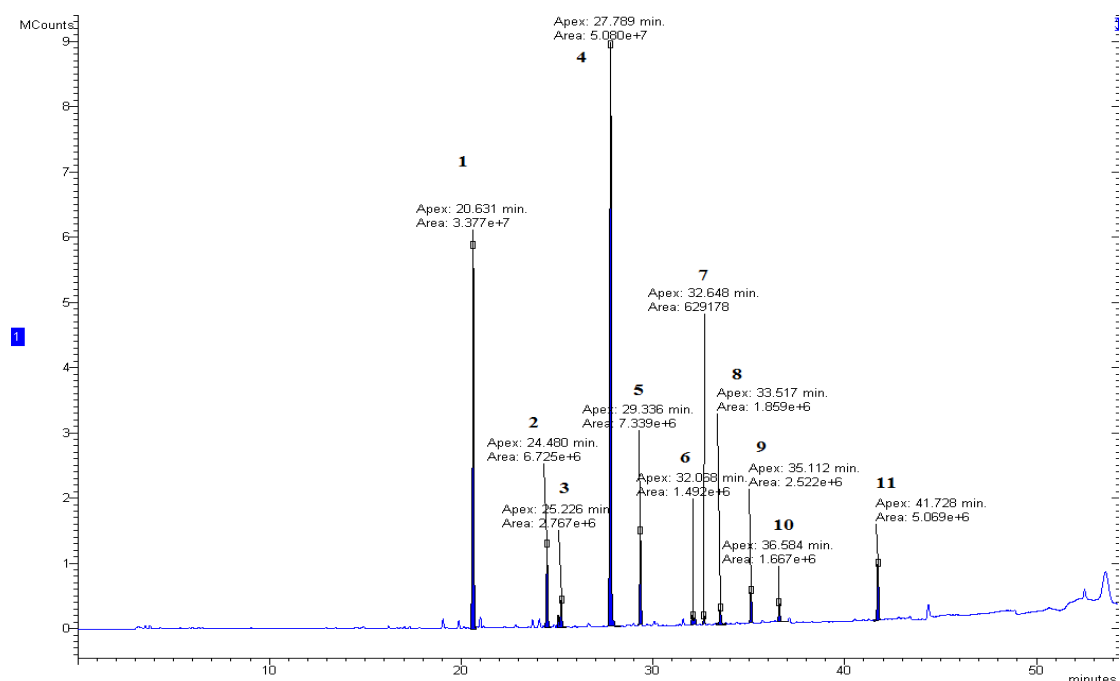
Όλες οι παραπάνω υδρογέλες αξιολογήθηκαν ως προς την ικανότητα διόγκωσης, συγκράτησης νερού και απορρόφησης ελαίου. Τέλος, πραγματοποιήθηκε επιβεβαίωση του μοντέλου (Confirmation).

3 Αποτελέσματα

3.1 Χημική σύσταση αιθερίων ελαίων μέσω αέριας χρωματογραφίας - φασματομετρίας μάζας

3.1.1 Αιθέριο έλαιο λεβάντας – Lavender Essential Oil

Η ανάλυση των κύριων συστατικών του αιθερίου ελαίου της λεβάντας υποδεικνύει ότι το κύριο συστατικό είναι το οξικό λιναλύλιο, σύμφωνα με τη βιβλιοθήκη του οργάνου και τη βιβλιογραφία, και έχει χρόνο ανάσχεσης 27.79 min. Τα συστατικά των αιθερίων ελαίων εξαρτώνται από το είδος της εκχύλισής τους, το χρόνο συγκομιδής τους καθώς και από άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Το παρακάτω φάσμα αποτελεί το φάσμα του GC για το αιθέριο έλαιο της λεβάντας, όπου φαίνεται και η κορυφή του οξικού λιναλυλίου.

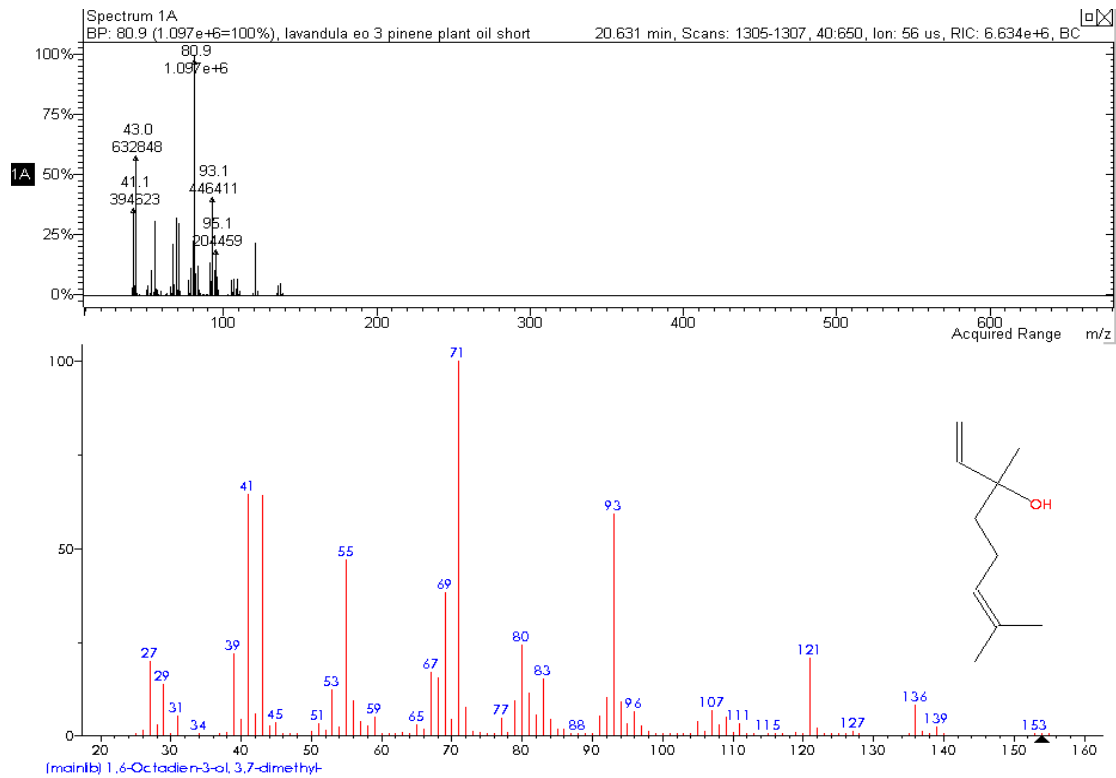


Γράφημα 3-1 Φάσμα GC του αιθερίου ελαίου λεβάντας

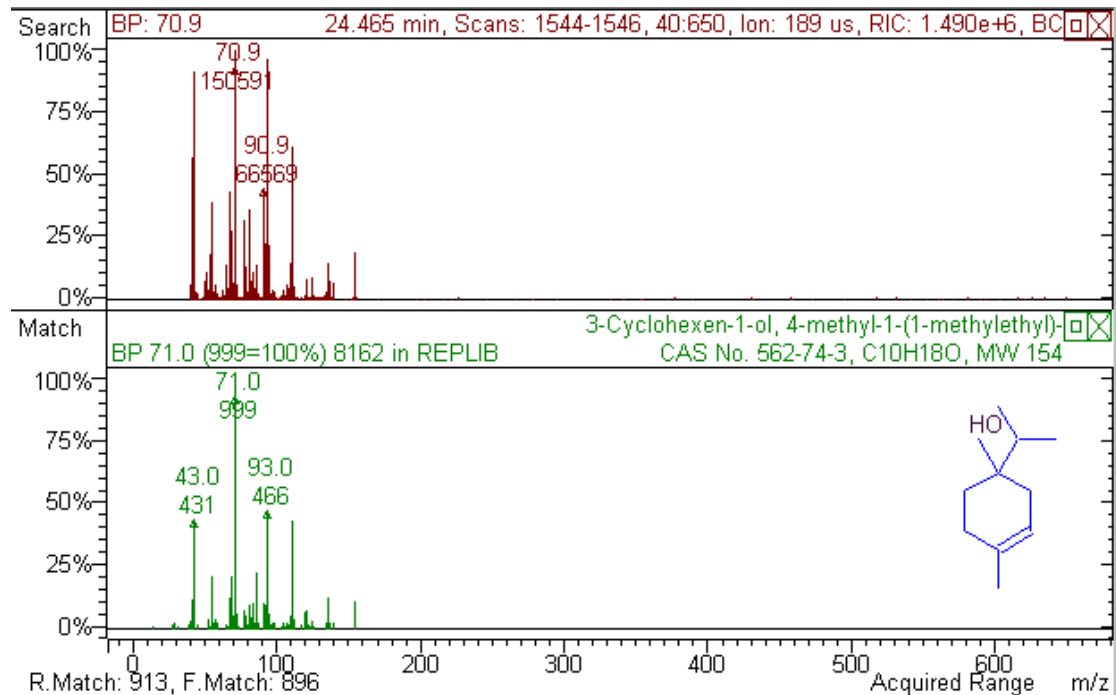
Πίνακας 3-1 Ενώσεις που περιέχονται στο αιθέριο έλαιο λεβάντας σύμφωνα με το φάσμα GC

ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΟΡΥΦΗΣ	ΧΡΟΝΟΣ ΑΝΑΣΧΕΣΗΣ (min)	ΕΝΩΣΗ		ΠΟΣΟΣΤΟ (%) ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ ΚΟΡΥΦΗΣ
		Όνομα	CAS No	
1	20.63	Linalool	78-70-6	26.24
2	24.48	Terpinenol-4	562-74-3	6.00
3	25.23	alpha-Terpineol	10482-56-1	1.76
4	27.79	linalyl acetate	115-95-7	40.14
5	29.34	trans-b-ocimene	3779-61-1	5.70
6	32.07	Fenchyl acetate	13851-11-1	2.41
7	32.65	Geranyl acetate	16409-44-2	1.13
8	33.52	Geraniol	106-24-1	1.17
9	35.11	beta-Caryophyllene	13877-93-5	2.02
10	41.73	Farnesene	502-61-4	3.98
ΣΥΝΟΛΟ				90.55

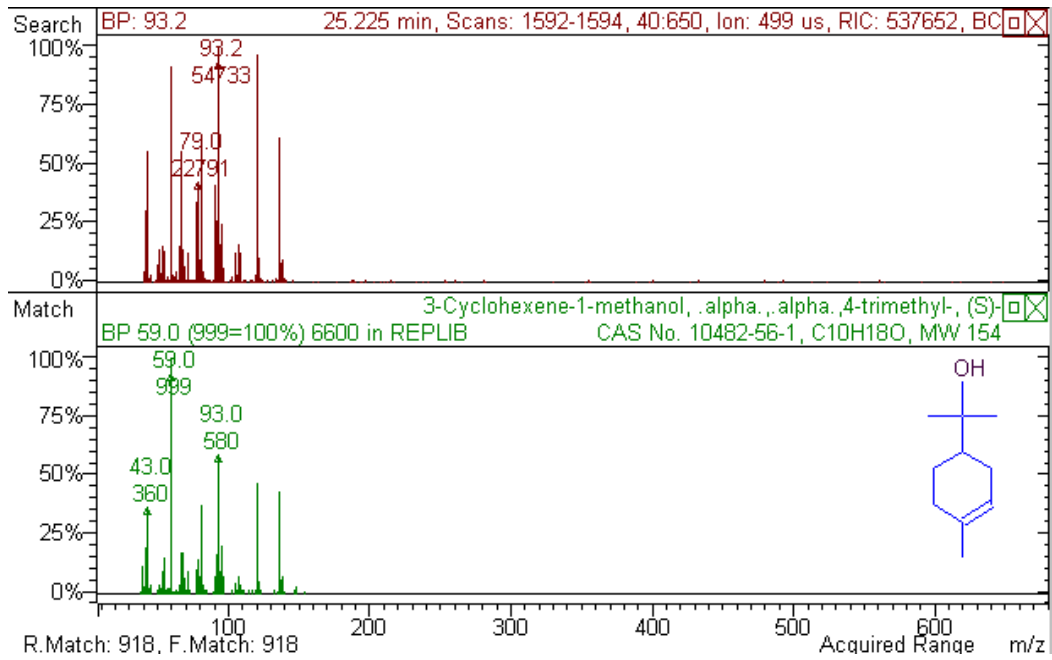
Παρόλα αυτά όπως φαίνεται από το φάσμα του GC, το αιθέριο έλαιο λεβάντας περιλαμβάνει και άλλα συστατικά σε σημαντικό ποσοστό, όπως η λιναλοόλη, η τερπινενόλη-4, η αλφα-τερπινεόλη, το trans- β-οκιμένιο, ο οξικός φαινυλεστέρας, το οξικό γερανύλιο, η γερανιόλη, το βήτα-καρυοφυλλένιο και το φαρνεσένιο. Τα φάσματα MS του κάθε συστατικού παρουσιάζονται στα παρακάτω διαγράμματα.



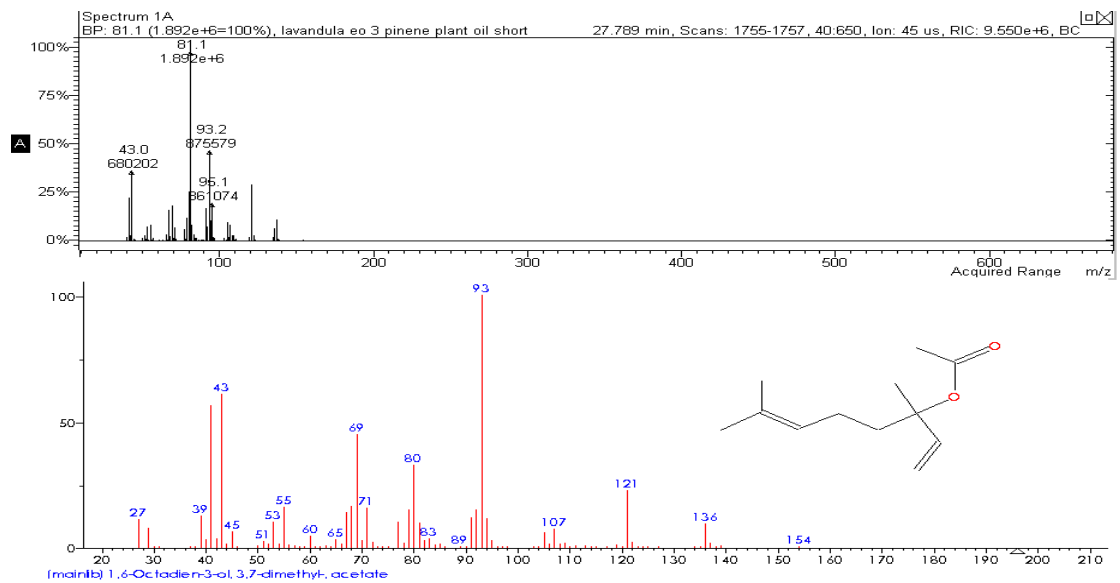
Γράφημα 3-2 Φάσμα MS της λιναλοόλης



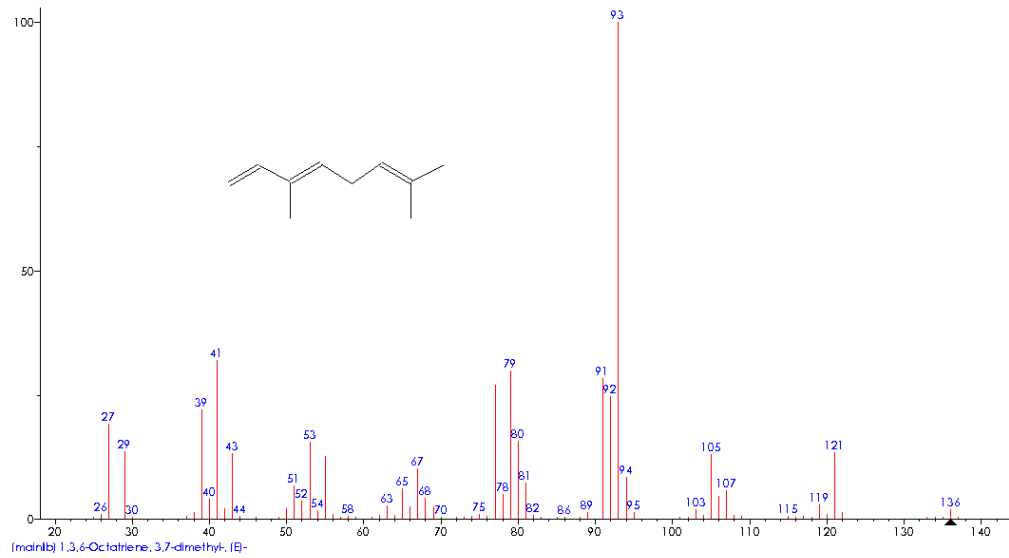
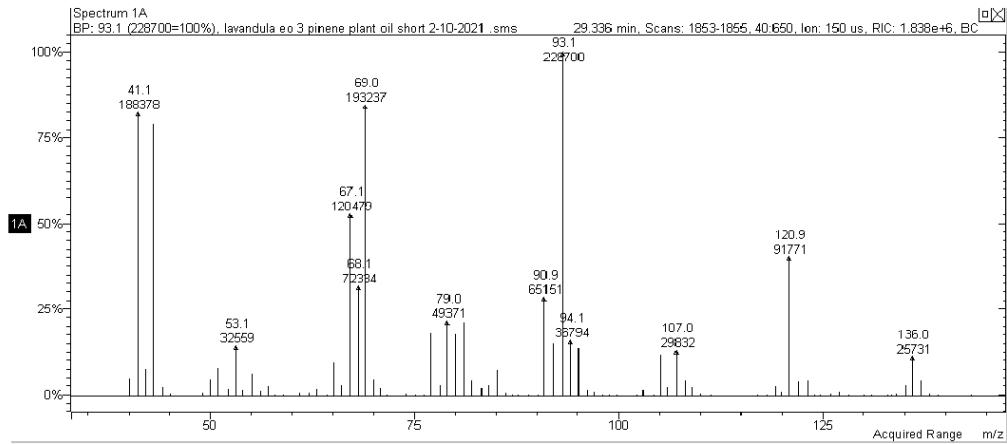
Γράφημα 3-3 Φάσμα MS της τερπινενόλης-4



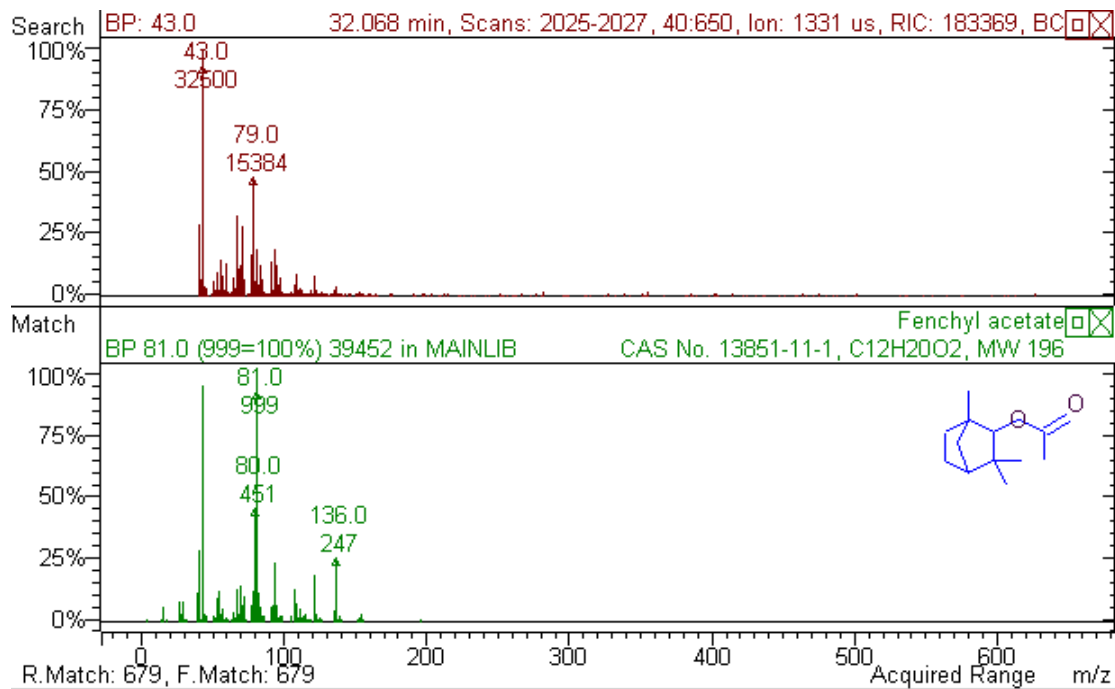
Γράφημα 3-4 Φάσμα MS της αλφα-τερπινεόλης



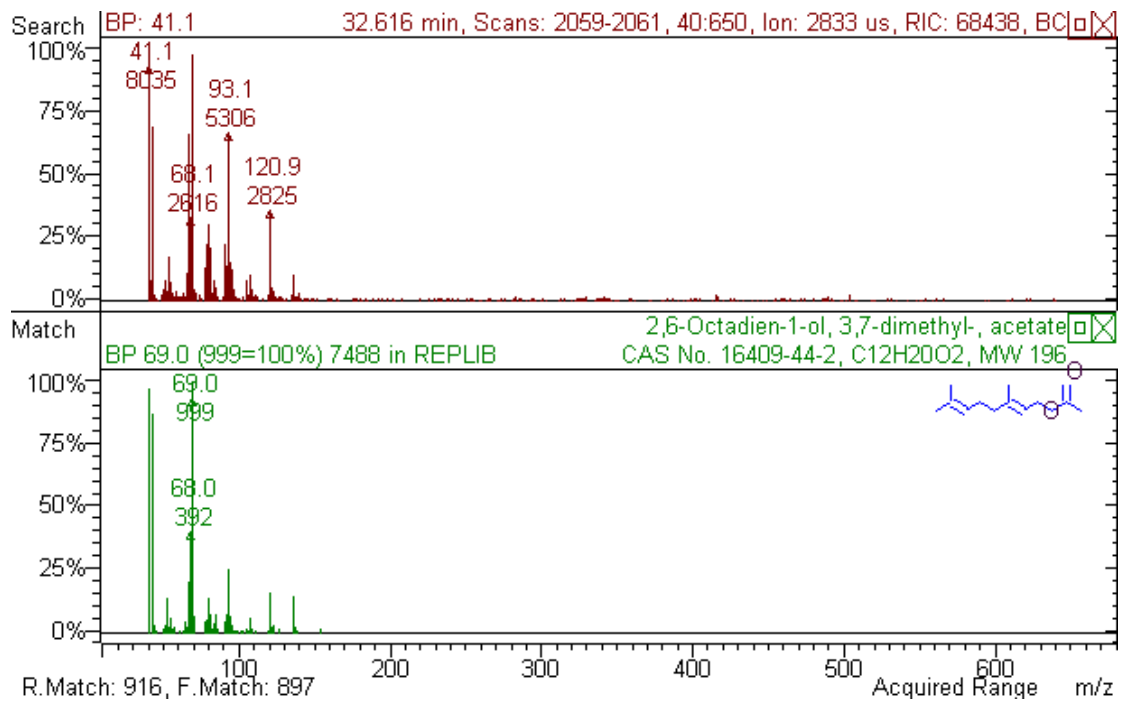
Γράφημα 3-5 Φάσμα MS του οξικού λιναλύλιου



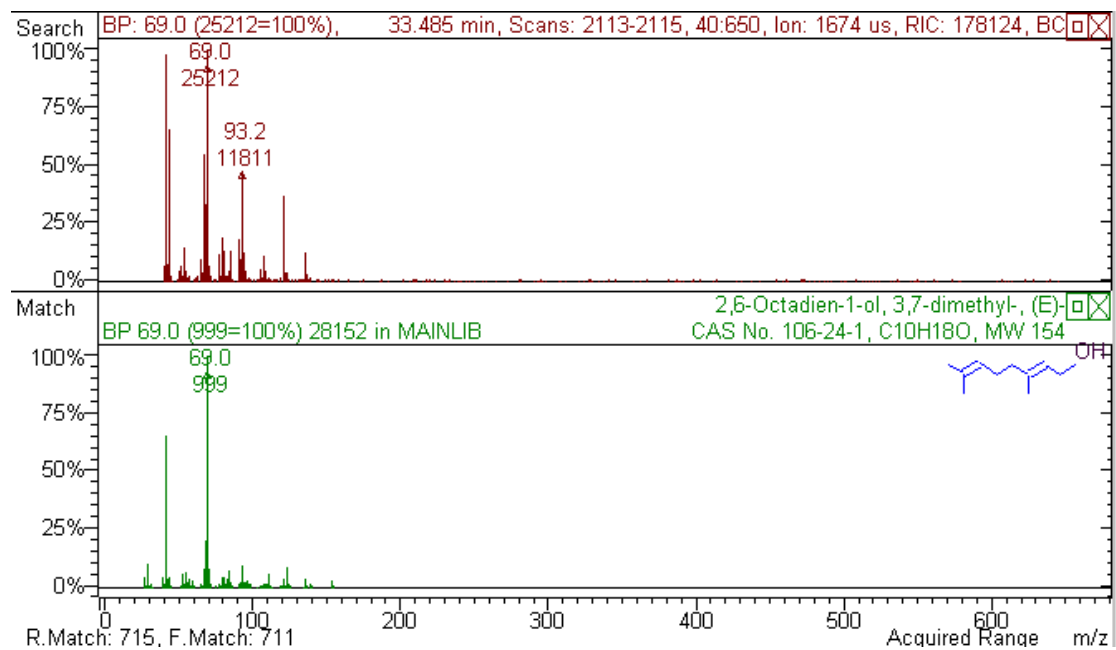
Γράφημα 3-6 Φάσμα MS του τρανς- β-οικιμένιου



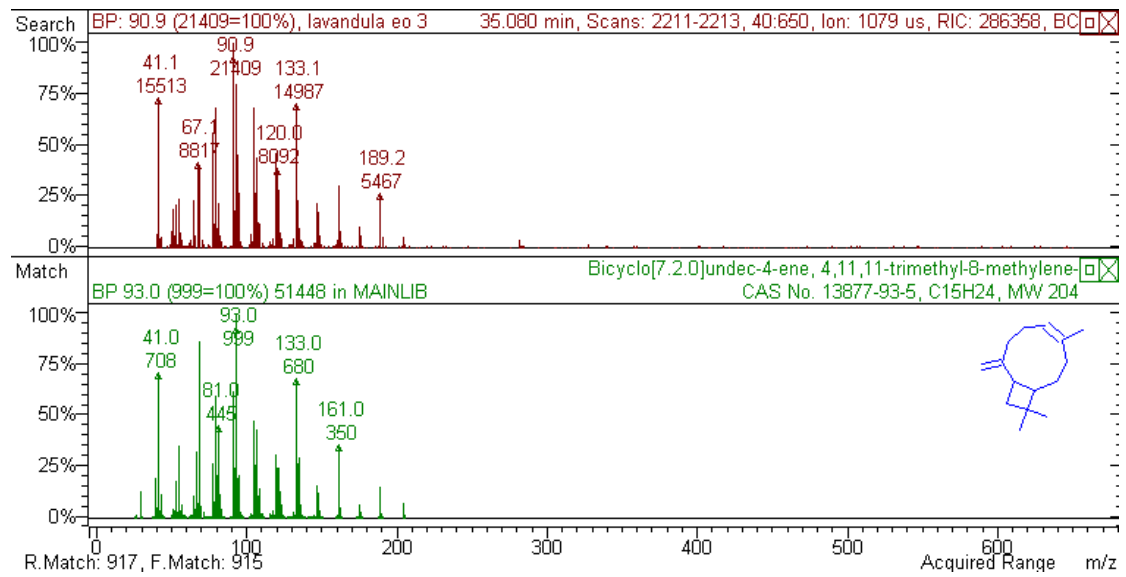
Γράφημα 3-7 Φάσμα MS του οξικού φαινυλεστέρη



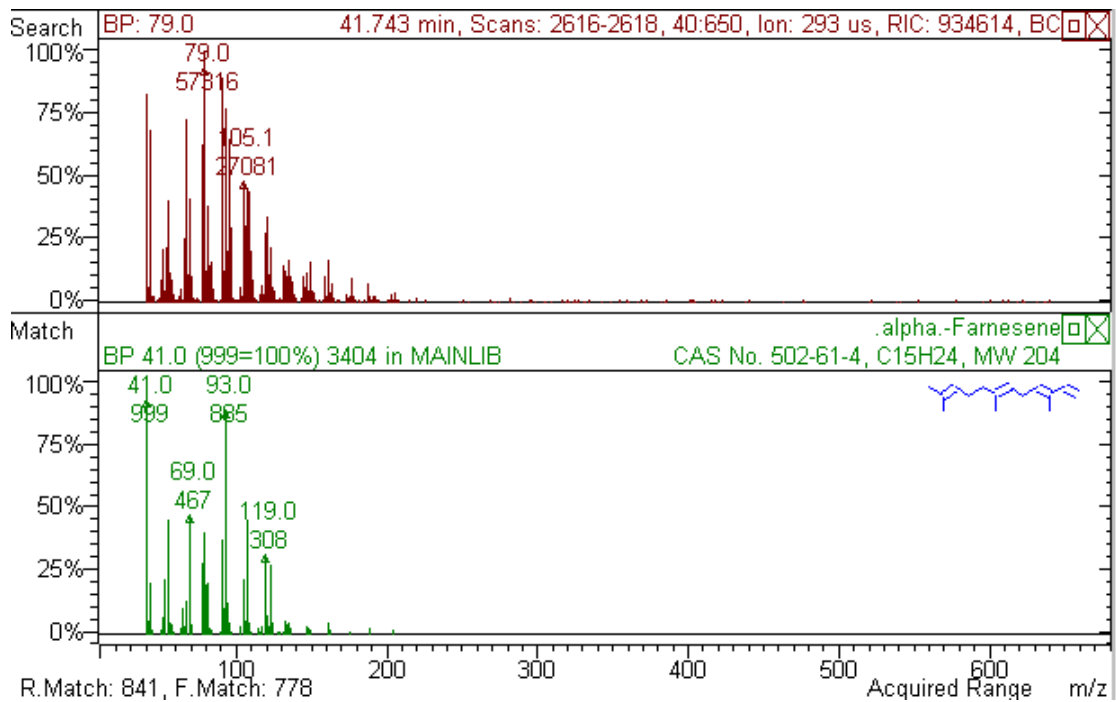
Γράφημα 3-8 Φάσμα MS του οξικού γερανυλίου



Γράφημα 3-9 Φάσμα MS της γερανιόλης



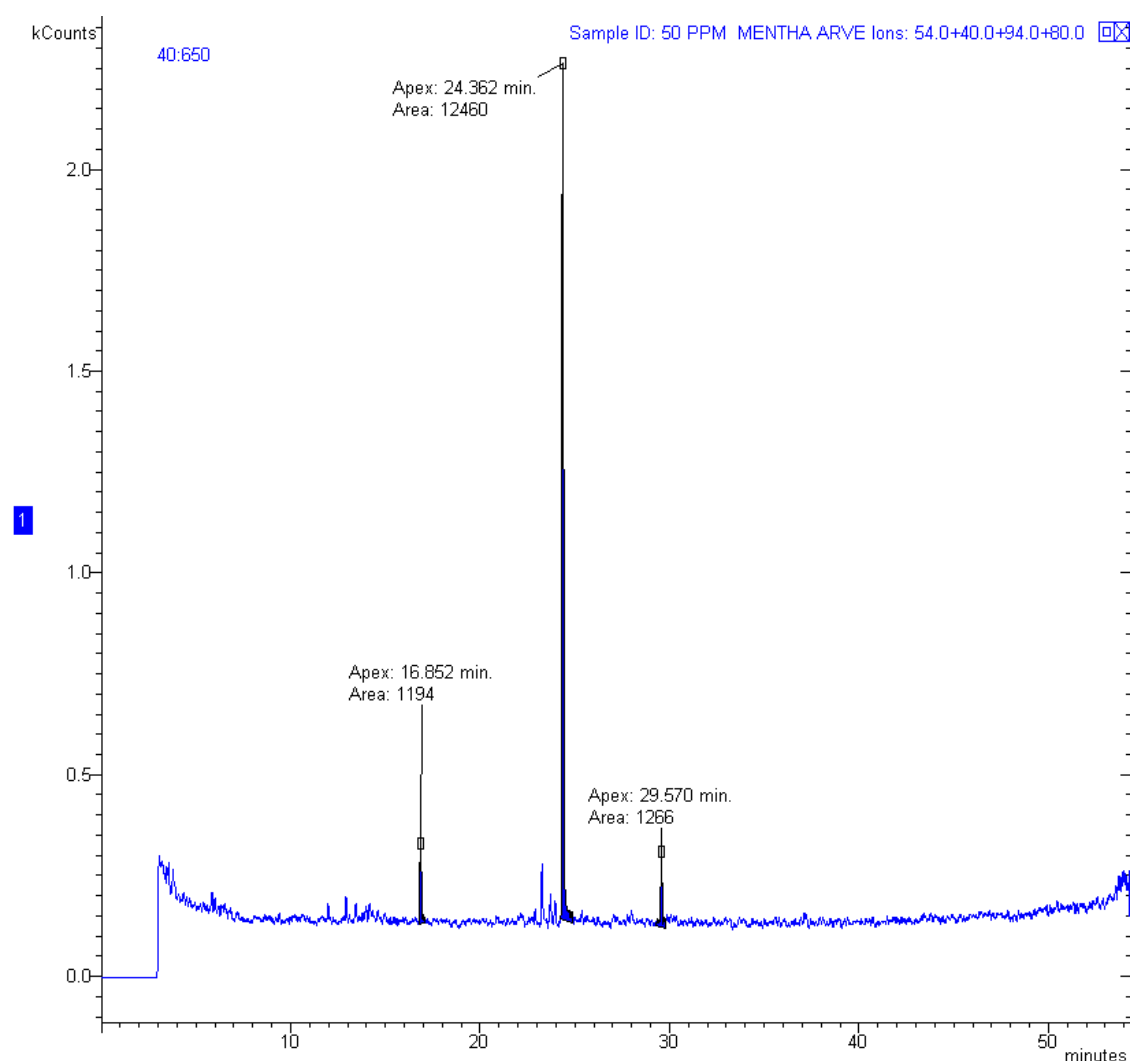
Γράφημα 3-10 Φάσμα MS του βήτα-καρυοφυλλένιου



Γράφημα 3-11 Φάσμα MS του φαρνεσένιου

3.1.2 Αιθέριο έλαιο μέντας – Mentha Essential Oil

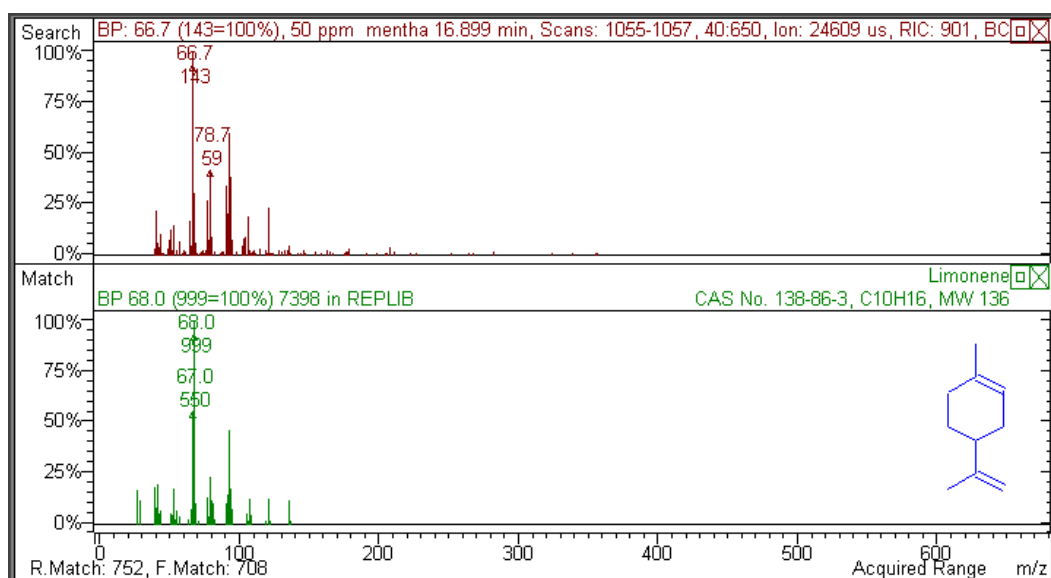
Η ανάλυση των κύριων συστατικών του αιθερίου ελαίου της μέντας υποδεικνύει ότι τα κύρια συστατικά είναι το λεμονένιο, η μενθόλη και το οξικό μενθύλιο, σύμφωνα με τη βιβλιοθήκη του οργάνου και τη βιβλιογραφία. Τα συστατικά των αιθερίων ελαίων εξαρτώνται από το είδος της εκχύλισής τους, το χρόνο συγκομιδής τους καθώς και από άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Το παρακάτω φάσμα αποτελεί το φάσμα του GC για το αιθέριο έλαιο της μέντας, όπου φαίνονται οι κορυφές των συστατικών του.



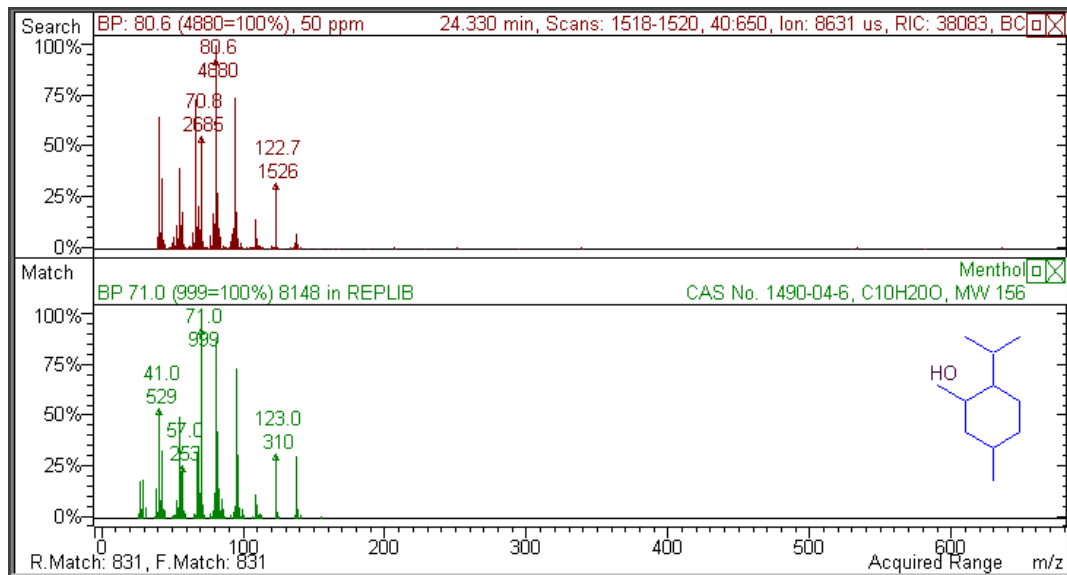
Γράφημα 3-12 Φάσμα GC του αιθερίου ελαίου μέντας

Πίνακας 3-2 Ενώσεις που περιέχονται στο αιθέριο έλαιο μέντας σύμφωνα με το φάσμα GC

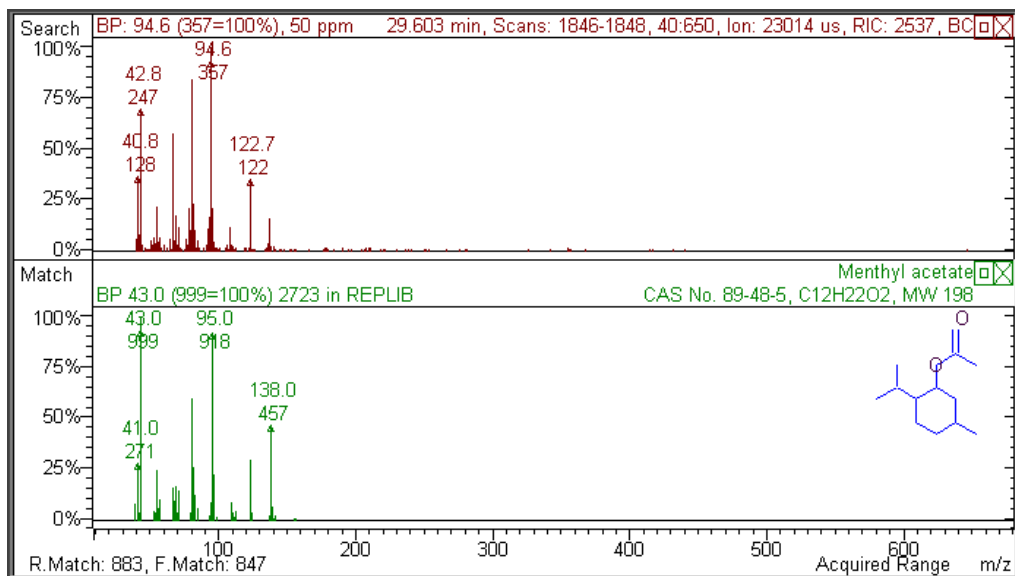
ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΟΡΥΦΗΣ	ΧΡΟΝΟΣ ΑΝΑΣΧΕΣΗΣ (min)	ΕΝΩΣΗ		ΠΟΣΟΣΤΟ (%) ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ ΚΟΡΥΦΗΣ
		Όνομα	CAS No	
1	16.85	limonene	138-86-3	8.00
2	24.36	menthol	1490-04-6	83.51
3	29.57	menthyl acetate	89-48-5	8.49
ΣΥΝΟΛΟ				100



Γράφημα 3-13 Φάσμα MS του λεμονένιου



Γράφημα 3-14 Φάσμα MS της μενθόλης

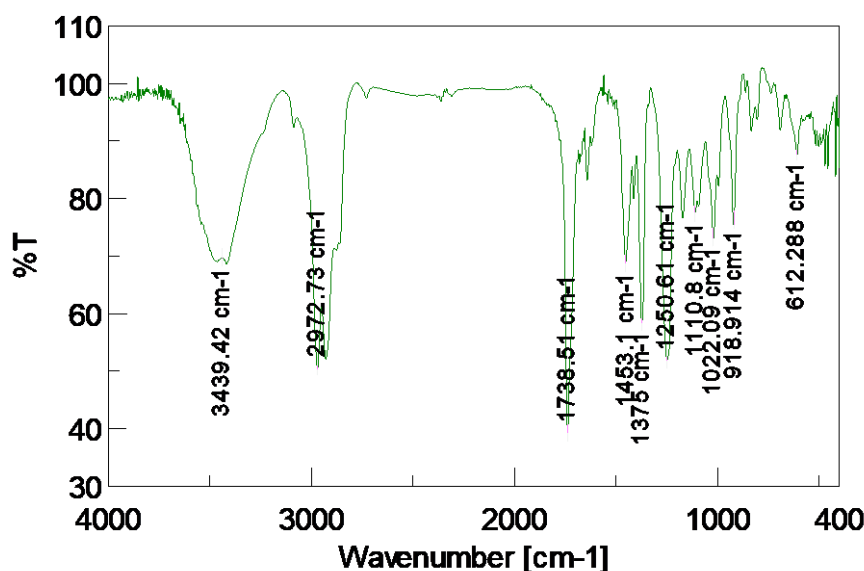


Γράφημα 3-15 Φάσμα MS του οξικού μενθυλίου

3.2 Χαρακτηρισμός αιθερίων ελαίων μέσω φασματομετρίας υπερέυθρου (FT-IR)

3.2.1 Αιθέριο έλαιο λεβάντας

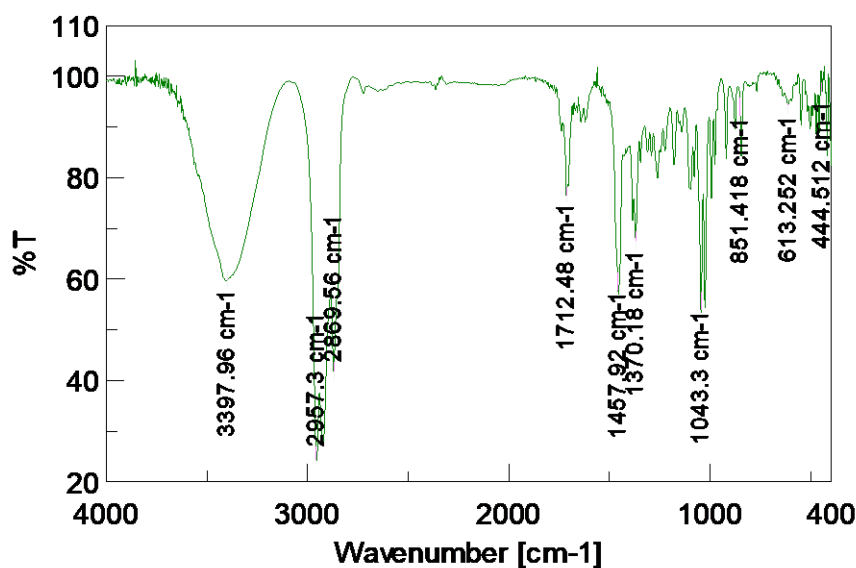
Παρακάτω φαίνεται το φάσμα IR του αιθερίου ελαίου λεβάντας με βάση του οποίου γίνεται ο δομικός χαρακτηρισμός του.



Γράφημα 3-16 Φάσμα FT-IR του αιθερίου ελαίου λεβάντας

Η χαρακτηριστική κορυφή με κυματαριθμό 1375 cm^{-1} αντιστοιχεί στην δόνηση τάσης του δεσμού $\text{C}=\text{CH}_2$. Η χαρακτηριστική κορυφή στα 1453.1 cm^{-1} είναι αποτέλεσμα αλληλεπικάλυψης της δόνησης CH_2 και ασύμμετρης δόνησης CH_3 , ενώ η ένταση αυτής της κορυφής είναι ανάλογη με τον αριθμό των CH_2 και CH_3 ομάδων που υπάρχουν. Στο εύρος κυματαριθμών $3400\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ παρατηρείται μια ευρεία κορυφή, η οποία υποδηλώνει υψηλή περιεκτικότητα σε φαινολικά (και φλαβονοειδή) και οφείλεται στην δόνηση του δεσμού O-H . Η χαρακτηριστική κορυφή στα 1738 cm^{-1} αντιστοιχεί την δόνηση τάσης του δεσμού $\text{C}=\text{O}$. Οι κορυφές στους κυματαριθμούς 612.288 cm^{-1} και 918.914 cm^{-1} αντιστοιχούν στις C-H των αλκενίων και των αρωματικών δακτυλίων. Οι κορυφές στα $1635\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$ είναι χαμηλές κορυφές μικρής έντασης και αντιστοιχούν στην δόνηση του δεσμού $\text{RHC}=\text{CH}_2$ της λιναλοόλης και του οξικού λιναλύλιου. [41]

3.2.2 Αιθέριο έλαιο μέντας



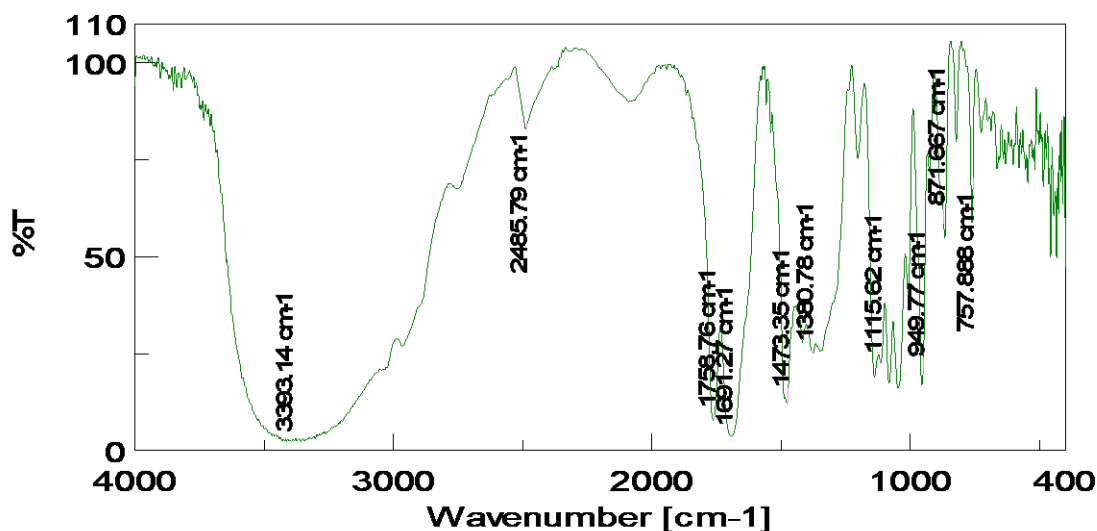
Γράφημα 3-17 Φάσμα FT-IR του αιθερίου ελαίου μέντας

Στο εύρος κυματαριθμών 3200-3600 cm^{-1} αντιστοιχεί μία ευρεία κορυφή, η οποία οφείλεται στην δόνηση του δεσμού O-H των φαινολών και των φλαβονοειδών. Οι κορυφές με κυματαριθμούς 2889.56 cm^{-1} και 2957.3 cm^{-1} είναι αποτέλεσμα της δόνησης του δεσμού C-H των αλκανίων, ενώ η χαρακτηριστική κορυφή με κυματαριθμό 1370.18 cm^{-1} αντιστοιχεί στην δόνηση τάσης του δεσμού C=CH₂. Η κορυφή στα 1457.92 cm^{-1} είναι αποτέλεσμα αλληλεπικάλυψης της δόνησης CH₂ και ασύμμετρης δόνησης CH₃, ενώ η ένταση αυτής της κορυφής είναι ανάλογη με τον αριθμό των CH₂ και CH₃ ομάδων που υπάρχουν. Η κορυφή στα 1712.48 cm^{-1} αντιστοιχεί στην δόνηση του δεσμού C=O των κετονών. Τέλος, οι κορυφές 613.252 cm^{-1} και 851.418 cm^{-1} είναι αποτέλεσμα της δόνησης του δεσμού C-H των αρωματικών δακτυλίων. [41]

3.3 Χαρακτηρισμός του NADES

3.3.1 Φασματομετρία υπέρυθρου FT-IR

Ο δομικός χαρακτηρισμός του NADES ChCl:AA πραγματοποιείται μέσω της φασματομετρίας υπέρυθρου (FT-IR). Μέσω του φάσματος FT-IR επιτυγχάνεται ταυτοποίηση των ενώσεων που περιέχονται στο NADES και παρατηρείται η αλληλεπίδραση των δύο μορίων, της χλωριούχου χολίνης και του ασκορβικού οξέος, κατά τον σχηματισμό του διαλύτη.



Γράφημα 3-18 Φάσμα FT-IR του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη ChCl:AA

Η κορυφή στα 949.77 cm^{-1} αντιστοιχεί στην δόνηση τάσης του δεσμού C—N της ChCl, ενώ γενικά η ζώνη δόνησης που αντιστοιχεί στην αμινομάδα της χλωριούχου χολίνης αντιστοιχεί στις κορυφές με κυματαριθμούς $864 - 1200\text{ cm}^{-1}$. Η κορυφή στον κυματαριθμό 1691.27 cm^{-1} προκύπτει από την δόνηση τάσης του δεσμού C=C, ενώ ο δεσμός C=O του ασκορβικού οξέος αντιστοιχεί στην χαρακτηριστική κορυφή με κυματαριθμό 1758.76 cm^{-1} . Στο εύρος κυματαριθμών $3600-3100\text{ cm}^{-1}$ παρατηρείται μια ευρεία κορυφή, η οποία υποδηλώνει το σχηματισμό δεσμού υδρογόνου μεταξύ της καθαρής χλωριούχου χολίνης και του ασκορβικού οξέος όταν σχηματίστηκε το NADES.

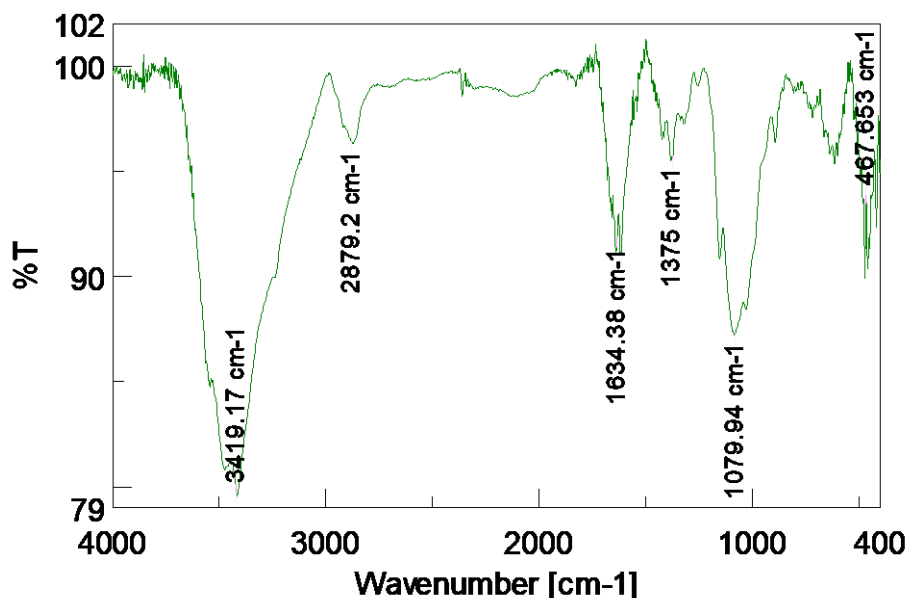
Τέλος, η χαρακτηριστική κορυφή στα 1473.35 cm^{-1} οφείλεται στον δεσμό N-C στην ChCl και αποτελεί χαρακτηριστική κορυφή για την ταυτοποίησή της. [42]

3.3.2 Φάσμα Πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)

Κάθε κορυφή του φάσματος ^1H NMR αντιστοιχεί σε μία ομάδα ισοδύναμων πρωτονίων, δηλαδή πρωτονίων που έχουν το ίδιο χημικό περιβάλλον και συντονίζονται στην ίδια συχνότητα. Το σήμα ενός πρωτονίου το οποίο έχει η γειτονικά πρωτόνια, σχάζεται δίνοντας πολλαπλή κορυφή, που αποτελείται από $n+1$ επιμέρους κορυφές και που χαρακτηρίζεται από μία σταθερά σύζευξης J . Δύο ομάδες πρωτονίων που συζεύγνυνται μεταξύ τους έχουν την ίδια τιμή σταθεράς J . Στο παράρτημα παρατίθεται το φάσμα ^1H NMR (600MHz , DMSO-d_6) του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη ChCl:AA.

3.4 Χαρακτηρισμός Χιτοζάνης μέσω φασματομετρίας υπερύθρου (FT-IR)

Ο δομικός χαρακτηρισμός της χιτοζάνης πραγματοποιείται μέσω της φασματομετρίας υπερύθρου (FT-IR). Το φάσμα FT-IR φαίνεται παρακάτω:



Γράφημα 3-19 Φάσμα FT-IR της χιτοζάνης

Η πλατιά κορυφή στα 3419.17 cm^{-1} οφείλεται στις δονήσεις έκτασης του δεσμού -OH και των -NH . Η κορυφή στα 1634.38 cm^{-1} οφείλεται στην δόνηση της ομάδας ακετυλίου μαζί με τον δεσμό -C=O . Επιπλέον, η κορυφή με κυματαριθμό 1375 cm^{-1} αντιστοιχεί στην συμμετρική δόνηση κάμψης του -CH_3 . Η χαρακτηριστική κορυφή 1079.94 cm^{-1} οφείλεται στην δόνηση έκτασης του δεσμού C-O-C . [43]

3.5 Χαρακτηρισμός Νανοσωματιδίων

3.5.1 Προσδιορισμός μεγέθους (size), δείκτη πολυδιασποράς (Pdl) και ζ-δυναμικού (z-potential)

Μέσω της μεθόδου δυναμικής σκέδασης (DLS) προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα για τον χαρακτηρισμό των νανοσωματιδίων:

Πίνακας 3-3 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών

	Μέγεθος (nm)	Δείκτης πολυδιασποράς (Pdl)	ζ-δυναμικό (mV)
CS-ChCl: AA-Lavender EO	313.3 ± 45.4	0.381 ± 0.098	+23.5 ± 0.2
CS-ChCl: AA-Mentha EO	303.7 ± 22.3	0.410 ± 0.063	+20.8 ± 0.4

Όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα, το μέγεθος των νανοσωματιδίων κυμαίνεται από 303.7 nm έως 313.3 nm.

Οι τιμές του δείκτη πολυδιασποράς κυμαίνονται από 0.381 έως 0.410. Το εύρος των τιμών αυτών υποδεικνύει ότι υπάρχει μέτρια προς καλή ομοιογένεια διασποράς των νανοσωματιδίων.

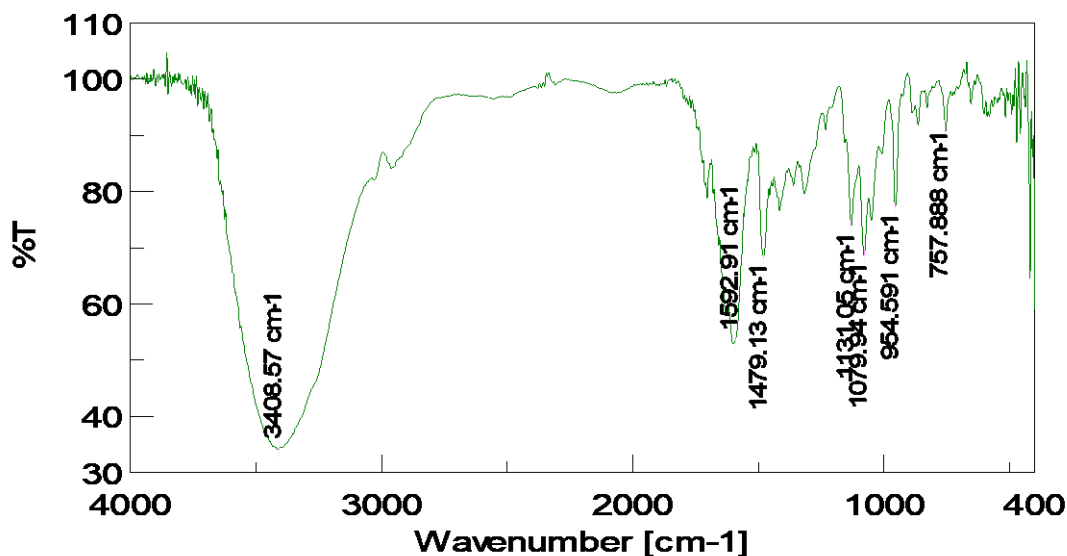
Το ζ-δυναμικό των νανοσωματιδίων χιτοζάνης, παρουσιάζει θετικό πρόσημο το οποίο είναι αναμενόμενο και οφείλεται στο θετικό φορτίο της χιτοζάνης. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, τιμές ζ-δυναμικού μεγαλύτερες από 30mV, κατά απόλυτη τιμή, δηλώνουν σταθερές διασπορές. Στην συγκεκριμένη περίπτωση, τα αποτελέσματα του ζ-δυναμικού κυμαίνονται από +20.8 mV έως +23.5 mV . Οι τιμές του ζ-δυναμικού είναι ικανοποιητικές και το θετικό φορτίο επιβεβαιώνει πως ο σχηματισμός των νανοσωματιδίων χιτοζάνης έχει πραγματοποιηθεί με επιτυχία.

Τα διαγράμματα του μεγέθους και του ζ-δυναμικού των νανοσωματιδίων παρατίθενται στο Παράρτημα Διαγραμμάτων.

3.5.2 Μελέτη δομής μέσω Υπέρυθρης φασματοσκοπίας μετασχηματισμού Fourier (FT-IR)

3.5.2.1 Νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (blank)

Παρακάτω φαίνεται το φάσμα FT-IR των CS-ChCl: AA με βάση το οποίο γίνεται ο δομικός χαρακτηρισμός τους.



Γράφημα 3-20 Φάσμα FT-IR των νανοσωματιδίων χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευηλεκτρικών διαλυτών (blank)

Η χαρακτηριστική κορυφή στα 757.888 cm^{-1} είναι κοινή με το φάσμα FT-IR του NADES, η οποία οφείλεται στην δόνηση του δεσμού C-H των αρωματικών δακτυλίων του ασκορβικού οξέος. Επιπλέον, η κορυφή στα 954.591 cm^{-1} αντιστοιχεί στην δόνηση τάσης του δεσμού C—N της ChCl, ενώ γενικά η ζώνη δόνησης που αντιστοιχεί στην αμινομάδα της χλωριούχου χολίνης επηρεάζει στις κορυφές με κυματαριθμούς $864 - 1200\text{ cm}^{-1}$.

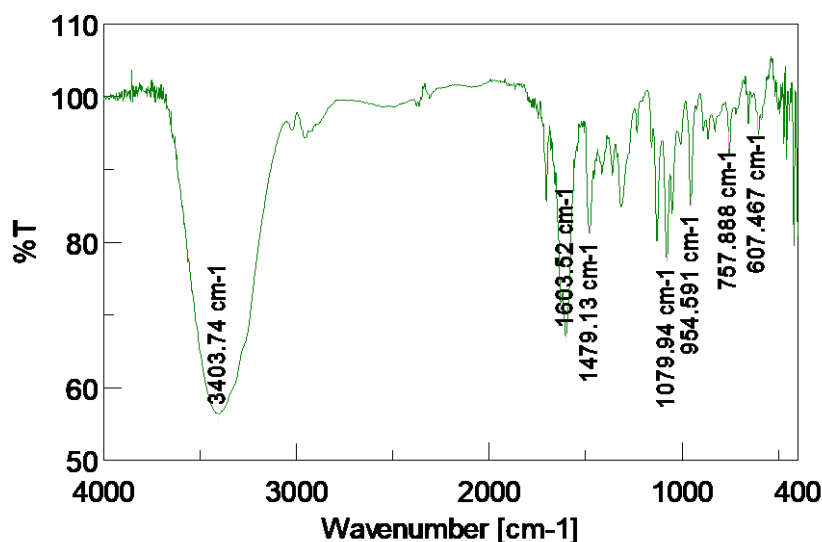
Η χαρακτηριστική κορυφή 1079.94 cm^{-1} αποτελεί κοινή κορυφή με το φάσμα FT-IR της χιτοζάνης και οφείλεται στην δόνηση του δεσμού C-O-C του δακτυλίου πυρανόζης. Η ένταση της κορυφής, ωστόσο, είναι πολύ μικρότερη, το οποίο οφείλεται στην αλληλεπίδραση του NADES με την χιτοζάνη.

Τέλος, η πλατιά κορυφή που εμφανίζεται στο εύρος των κυματαριθμών $3200-3600\text{ cm}^{-1}$ οφείλεται στην δόνηση του δεσμού O-H της χιτοζάνης, την έκταση του δεσμού N-H, που οφείλεται στις αμίνες της χιτοζάνης και το εύρος της είναι πολύ μικρότερο από αυτό των φασμάτων των επιμέρους συστατικών του που υποδηλώνει το σχηματισμό δεσμών υδρογόνου μεταξύ του NADES και της χιτοζάνης.

Τέλος, η χαρακτηριστική κορυφή στα 1479.13 cm^{-1} οφείλεται στον δεσμό N-C στην ChCl και αποτελεί χαρακτηριστική κορυφή για την ταυτοποίησή της. [17]

3.5.2.2 Νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο λεβάντας

Παρακάτω φαίνεται το φάσμα FT-IR των CS-ChCl: AA-Lavender EO με βάση το οποίο γίνεται ο δομικός χαρακτηρισμός τους.



Γράφημα 3-21 Φάσμα FT-IR νανοσωματιδίων χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο λεβάντας

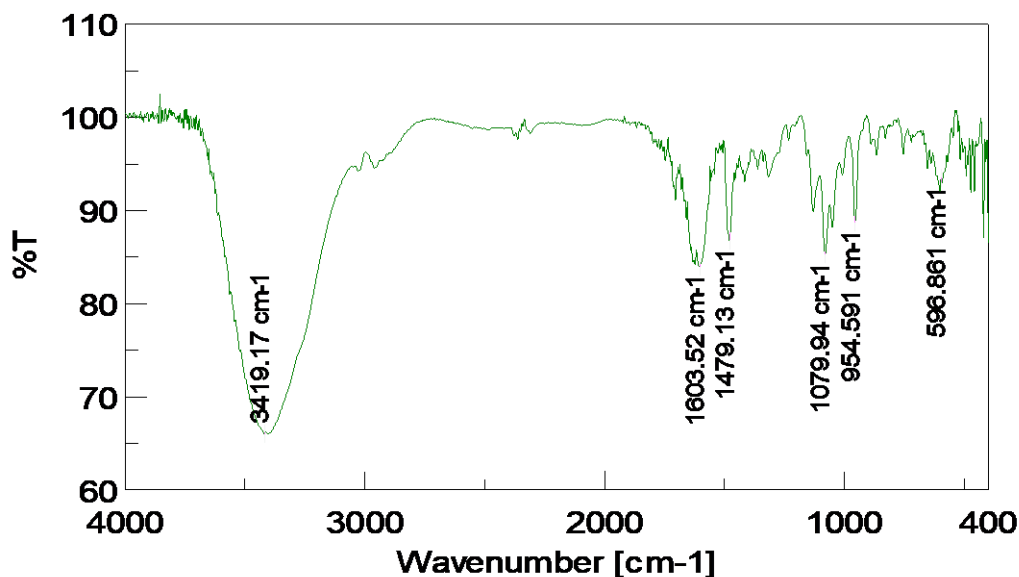
Η πλατιά κορυφή που εμφανίζεται στο εύρος των κυματαριθμών 3200-3600 cm^{-1} οφείλεται στην δόνηση του δεσμού O-H, ο οποίος αντιστοιχεί στις αλκοόλες που περιέχονται σε μεγάλο βαθμό στην χιτοζάνη καθώς και στις φαινόλες που περιέχονται στο αιθέριο έλαιο λεβάντας. Επίσης, στο εύρος αυτό συμπεριλαμβάνεται και η έκταση του δεσμού N-H₂, που οφείλεται στις αμίνες της χιτοζάνης. Η χαρακτηριστική κορυφή στα 1603.52 cm^{-1} αντιστοιχεί στην δόνηση του δεσμού C=C των αλκενίων, ενώ η κορυφή στα 1479.13 cm^{-1} οφείλεται στην δόνηση του δεσμού N-C της ChCl. Η χαρακτηριστική κορυφή 1079.94 cm^{-1} αποτελεί κοινή κορυφή με το φάσμα FT-IR της χιτοζάνης και οφείλεται στην δόνηση του δακτυλίου πυρανόζης.

Παρατηρείται πως η κορυφή στα 2972.73 cm^{-1} , η οποία ήταν πολύ έντονη στο φάσμα FT-IR του αιθερίου ελαίου λεβάντας και αντιστοιχούσε στην δόνηση του δεσμού C-H των αλκανίων έχει επικαλυφθεί, φανερώνοντας την έντονη αλληλεπίδραση του αιθερίου ελαίου με τα νανοσωματίδια.

Επιπλέον, η χαρακτηριστική κορυφή στα 757.888 cm^{-1} είναι κοινή με το φάσμα FT-IR του NADES, η οποία οφείλεται στην δόνηση του δεσμού C-H των αρωματικών δακτυλίων του ασκορβικού οξέος. [17], [41]

3.5.2.3 Νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο μέντας

Παρακάτω φαίνεται το φάσμα FT-IR των CS-ChCl: AA-Mentha EO με βάση το οποίο γίνεται ο δομικός χαρακτηρισμός τους.



Γράφημα 3-22 Φάσμα FT-IR νανοσωματιδίων χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο μέντας

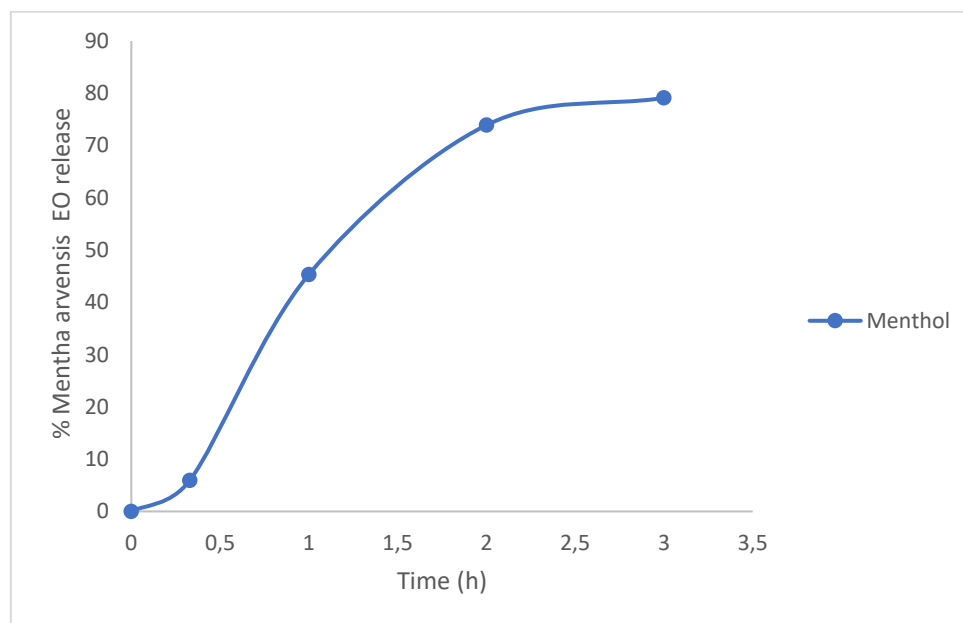
Παρατηρείται πως οι χαρακτηριστικές κορυφές 1603.52 cm^{-1} , 1479.13 cm^{-1} , 1079.94 cm^{-1} και 954.591 cm^{-1} είναι κοινές με το φάσμα FT-IR των νανοσωματιδίων χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με εγκλεισμένο αιθέριο έλαιο λεβάντας. Ωστόσο, η ένταση και τα εύρη αυτών των κορυφών διαφέρουν σημαντικά.

Η χαρακτηριστική κορυφή στον κυματαριθμό 596.861 cm^{-1} οφείλεται στην δόνηση των δεσμών C-H των δακτυλίων των συστατικών του αιθερίου ελαίου της μέντας. Οι κορυφές 2957.3 cm^{-1} και 2869.56 cm^{-1} που είχαν ισχυρή ένταση στο φάσμα FT-IR του αιθερίου ελαίου μέντας, έχουν σχεδόν επικαλυφθεί ως αποτέλεσμα των δεσμών του αιθερίου ελαίου με τα νανοσωματίδια.

Τέλος, η πλατιά κορυφή που εμφανίζεται στο εύρος των κυματαριθμών $3200\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$ οφείλεται στην δόνηση του δεσμού O-H της χιτοζάνης, στις φαινόλες που περιέχονται στο αιθέριο έλαιο μέντας και την έκταση του δεσμού N-H₂, που οφείλεται στις αμίνες της χιτοζάνης. [17], [41]

3.5.3 Μελέτη Αποδέσμευσης του αιθερίου ελαίου μέντας

Στο διάγραμμα που ακολουθεί παρουσιάζεται το ποσοστό απελευθέρωσης του αιθερίου ελαίου μέντας ως προς το κύριο συστατικό του, την μενθόλη, σε συνάρτηση με τον χρόνο (h).



Γράφημα 3-23 Προφίλ απελευθέρωσης αιθερίου ελαίου μέντας από τα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών

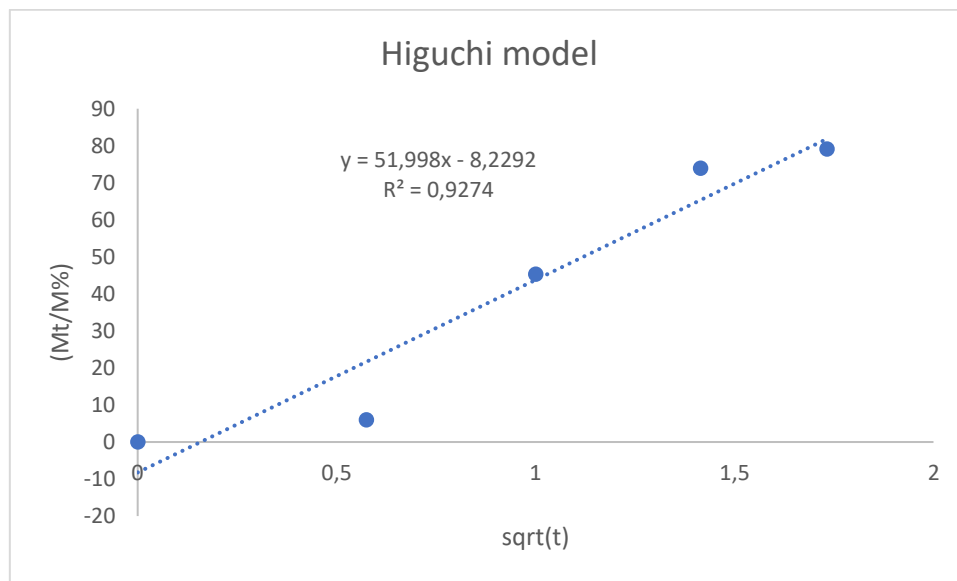
Σύμφωνα με το παραπάνω διάγραμμα, η απελευθέρωση χαρακτηρίζεται μια ταχεία φάση απελευθέρωσης, η οποία στις 2 h σταθεροποιείται (plateau). Στις 3 h παρατηρείται ότι το ποσοστό απελευθέρωσης του αιθερίου ελαίου της μέντας έχει φτάσει το 79% της συνολικής ποσότητας.

Με στόχο την επιλογή του βέλτιστου κινητικού μοντέλου για την περιγραφή του προφίλ απελευθέρωσης του αιθερίου ελαίου λαμβάνεται υπόψη ο συντελεστής R^2 . Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι συντελεστές R^2 κάθε κινητικού μοντέλου απελευθέρωσης.

Πίνακας 3-4 Συντελεστές R^2 καθενός από τα μοντέλα απελευθέρωσης

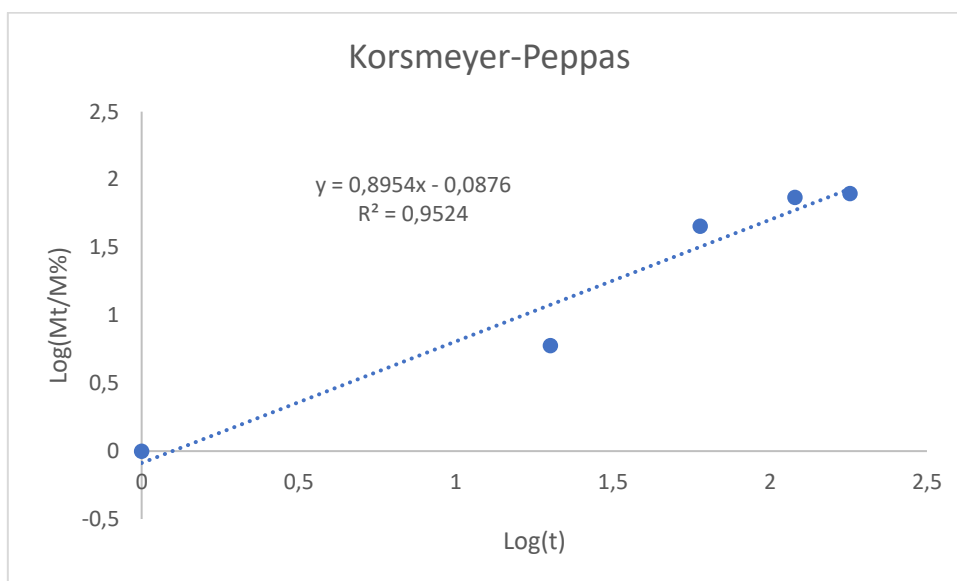
Μοντέλο Απελευθέρωσης	Συντελεστής R^2
Zero order	0.9071
First order	0.7279
Higuchi	0.9274
Korsmeyer–Peppas	0.9524

Σύμφωνα με τα παραπάνω, το μοντέλο με την καλύτερη προσαρμογή είναι το Higuchi.



Γράφημα 3-24 Γραφική παράσταση του κινητικού μοντέλου Higuchi

Το κινητικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas με υψηλό συντελεστή R^2 είναι ένα ημιεμπειρικό μοντέλο και εκφράζει το 60% των δεδομένων. Η τιμή του εκθέτη διάχυσης n , χρησιμοποιείται για τον χαρακτηρισμό του μηχανισμού απελευθέρωσης. Στη συγκεκριμένη περίπτωση ο συντελεστής διάχυσης είναι 0.89, άρα ο μηχανισμός απελευθέρωσης χαρακτηρίζεται ισοδύναμα από φαινόμενα διάχυσης και διόγκωσης. Το μοντέλο δεν ακολουθεί τον νόμο του Fick και χαρακτηρίζεται από ανώμαλη μεταφορά.



Γράφημα 3-25 Γραφική παράσταση του κινητικού μοντέλου Korsmeyer-Peppas

3.6 Πειραματικός σχεδιασμός

Τα 15 πειράματα τα οποία εκπονήθηκαν στα πλαίσια του πειραματικού σχεδιασμού Box-Behnken, προέκυψαν ύστερα από υπόδειξη του χρησιμοποιούμενου λογισμικού, Design Expert. Επιλέχθηκαν να γίνουν τρεις επαναλήψεις του κεντρικού σημείου για την εκτίμηση του γνήσιου σφάλματος. Αφού συγκεντρώθηκαν τα αποτελέσματα-τιμές των αποκρίσεων, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση αυτών και εξήχθη το μαθηματικό μοντέλο που περιγράφει ικανοποιητικά την κάθε απόκριση.

3.6.1 Προσδιορισμός μοντέλου πρόβλεψης αποκρίσεων

- **1^η Απόκριση : Ικανότητα Διόγκωσης (SR)**

Για τη μελέτη της απόκρισης αυτής, επιλέχθηκε το μοντέλο της μορφής reduced cubic model, δηλαδή απλοποιημένο κυβικό. Η αρχική μορφή της εξίσωσης που το διέπει περιέχει τους όρους A, B, C, AB, BC, A², B², A²B, A²C και AB², όπου με A, B, C έχουν συμβολιστεί οι ανεξάρτητες μεταβλητές:

A: περικτικότητα NADES κατ' όγκο (%v/v)

B: περιεκτικότητα χιτοζάνης κατά βάρος (% w/v)

C: περιεκτικότητα διαλύματος αλγινικού (% w/v)

Από το πλήρες κυβικό μοντέλο έχουν αφαιρεθεί οι όροι AC και C².

Οι p-values που είναι μικρότερες από 0.05 υποδεικνύουν ότι οι όροι του μοντέλου είναι σημαντικοί. Σε αυτή την περίπτωση τα A², A²B είναι σημαντικοί όροι μοντέλου. Τιμές μεγαλύτερες από 0.1000 υποδεικνύουν ότι οι όροι του μοντέλου δεν είναι σημαντικοί. Εάν υπάρχουν πολλοί ασήμαντοι όροι μοντέλου (χωρίς να υπολογίζονται αυτοί που απαιτούνται για την υποστήριξη της ιεραρχίας), η μείωση του μοντέλου μπορεί να βελτιώσει το μοντέλο σας.

Η F-value του μοντέλου είναι 8.66 και δηλώνει ότι το μοντέλο είναι σημαντικό. Υπάρχει μόνο 2.60% πιθανότητα να προκύψει μια τιμή F τόσο μεγάλη λόγω θορύβου.

Η τιμή F-value του Lack of Fit του μοντέλου είναι 0.05 το οποίο σημαίνει ότι η κακή προσαρμογή δεν είναι σημαντική σε σχέση με το καθαρό σφάλμα. Υπάρχει 95.51% πιθανότητα η F-value του Lack of Fit του μοντέλου να έχει αυτήν την τιμή λόγω του θορύβου.

Πίνακας 3-5 Αποτελέσματα ANOVA για το επιλεγμένο μοντέλο που περιγράφει την 1η απόκριση (ικανότητα διόγκωσης)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	2.640E+05	10	26404.94	8.66	0.0260	significant
A-NADES	1954.75	1	1954.75	0.6412	0.4682	
B-CS	18818.69	1	18818.69	6.17	0.0679	
C-Alginate	1531.10	1	1531.10	0.5022	0.5176	
AB	10781.07	1	10781.07	3.54	0.1332	
BC	10886.13	1	10886.13	3.57	0.1318	
A ²	1.044E+05	1	1.044E+05	34.24	0.0043	
B ²	5813.44	1	5813.44	1.91	0.2395	
ABC	0.0000	0				
A ² B	89926.18	1	89926.18	29.50	0.0056	
A ² C	2745.91	1	2745.91	0.9007	0.3963	
AB ²	15713.25	1	15713.25	5.15	0.0857	
AC ²	0.0000	0				
B ² C	0.0000	0				
BC ²	0.0000	0				
A ³	0.0000	0				
B ³	0.0000	0				
C ³	0.0000	0				
Residual	12194.99	4	3048.75			
Lack of Fit	547.54	2	273.77	0.0470	0.9551	not significant
Pure Error	11647.45	2	5823.72			
Cor Total	2.762E+05	14				

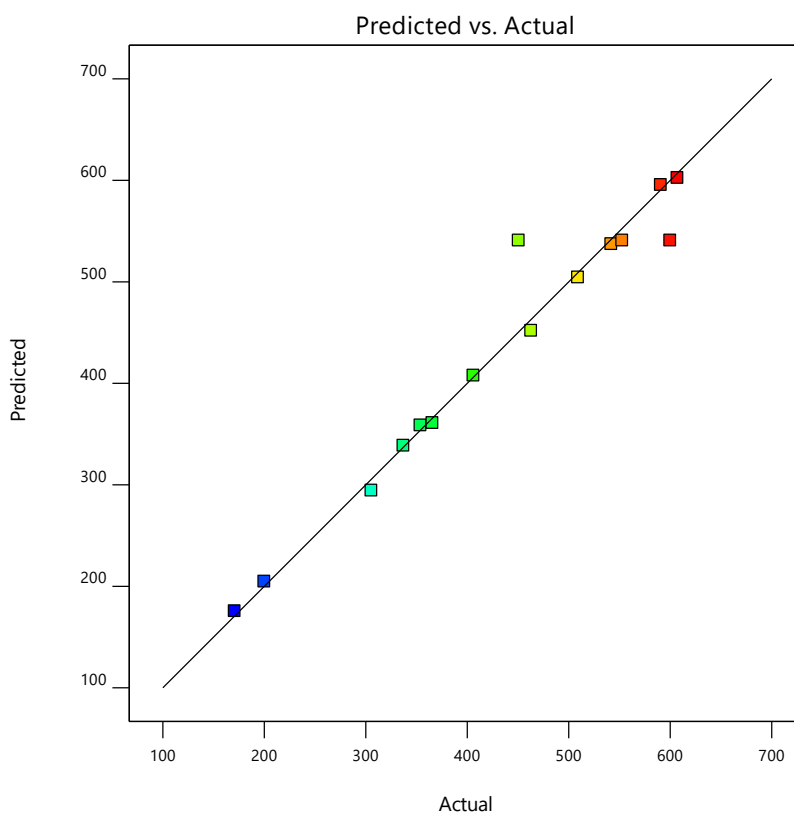
Σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα, ο συντελεστής πολλαπλής συσχέτισης (R^2) έχει τιμή 0.9559, που υποδηλώνει πολύ καλή προσαρμογή του μοντέλου. Ο προβλεπόμενος συντελεστής πολλαπλής συσχέτισης (Predicted R^2) έχει τιμή 0.7237 και είναι σε λογική συμφωνία με τον προσαρμοσμένο συντελεστή πολλαπλής συσχέτισης (Adjusted R^2) που έχει τιμή 0.8455, εφόσον η διαφορά είναι μικρότερη από 0.2.

Ο όρος «Adeq Precision» μετρά την αναλογία σήματος προς θόρυβο και στην συγκεκριμένη περίπτωση έχει λόγο 9.029. Μια αναλογία μεγαλύτερη από 4 είναι επιθυμητή και υποδεικνύει επαρκές σήμα.

Πίνακας 3-6 Αποτελέσματα σχετικά με την προσαρμογή στο μοντέλο που περιγράφει την 1η απόκριση

Std. Dev.	55.22	R²	0.9559
Mean	430.27	Adjusted R²	0.8455
C.V. %	12.83	Predicted R²	0.7237
		Adeq Precision	9.0287

Στο παρακάτω διάγραμμα, απεικονίζεται η συσχέτιση των προβλεπόμενων από το μοντέλο τιμών με τις πραγματικές που ελήφθησαν.



Γράφημα 3-26 Συσχέτιση πραγματικών και προβλεπόμενων τιμών της 1ης απόκρισης

Όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα, το μοντέλο εμφανίζει πολύ καλή γραμμικότητα.

Το μοντέλο παλινδρόμησης που συσχετίζει τις παραμέτρους του σχεδιασμού της διεργασίας A, B και C με την % διόγκωση R1(απόκριση):

$$R1 = 540.78 - 22.11A + 68.59B + 19.56C - 51.92AB - 52.17BC - 167.65A^2 - 39.56B^2 - 212.05A^2B + 37.05A^2C + 88.64AB^2$$

Η χιτοζάνη και ο συνδυασμός της με το NADES (ChCl: AA) παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική ($p < 0.005$) επίδραση στην ικανότητα διόγκωσης (SR) των υδρογελών.

- **2^η Απόκριση : Ικανότητα Συγκράτησης Νερού (WRR)**

Για τη μελέτη της απόκρισης αυτής, επιλέχθηκε ξανά το μοντέλο της μορφής reduced cubic model, δηλαδή απλοποιημένο κυβικό, όταν από το πλήρες κυβικό μοντέλο

έχουν αφαιρεθεί οι όροι BC, B² και C². Στην παρακάτω εικόνα φαίνονται τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης ANOVA.

Πίνακας 3-7 Αποτελέσματα ANOVA για το επιλεγμένο μοντέλο που περιγράφει την 2η απόκριση (ικανότητα συγκράτησης νερού)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	3163.74	9	351.53	7.77	0.0181	significant
A-NADES	199.54	1	199.54	4.41	0.0898	
B-CS	479.16	1	479.16	10.58	0.0226	
C-Alginate	373.52	1	373.52	8.25	0.0349	
AB	129.66	1	129.66	2.86	0.1513	
AC	115.28	1	115.28	2.55	0.1714	
A ²	758.98	1	758.98	16.77	0.0094	
ABC	0.0000	0				
A ² B	210.54	1	210.54	4.65	0.0835	
A ² C	41.40	1	41.40	0.9146	0.3828	
AB ²	4.89	1	4.89	0.1080	0.7558	
AC ²	0.0000	0				
B ² C	0.0000	0				
BC ²	0.0000	0				
A ³	0.0000	0				
B ³	0.0000	0				
C ³	0.0000	0				
Residual	226.34	5	45.27			
Lack of Fit	2.83	3	0.9423	0.0084	0.9986	not significant
Pure Error	223.52	2	111.76			
Cor Total	3390.08	14				

Οι p-values που είναι μικρότερες από 0.05 υποδεικνύουν ότι οι όροι του μοντέλου είναι σημαντικοί. Σε αυτή την περίπτωση τα B, C και A² είναι σημαντικοί όροι του μοντέλου. Τιμές μεγαλύτερες από 0.1000 υποδεικνύουν ότι οι όροι του μοντέλου δεν είναι σημαντικοί.

Η F-value του μοντέλου είναι 7.77 και δηλώνει ότι το μοντέλο είναι σημαντικό. Υπάρχει μόνο 1.81% πιθανότητα να προκύψει μια τόσο μεγάλη τιμή F λόγω θορύβου.

Η τιμή F-value του Lack of Fit του μοντέλου είναι 0.0084 το οποίο σημαίνει ότι η κακή προσαρμογή δεν είναι σημαντική σε σχέση με το καθαρό σφάλμα. Υπάρχει 99.86% πιθανότητα η F-value του Lack of Fit του μοντέλου να έχει αυτήν την τιμή λόγω του θορύβου.

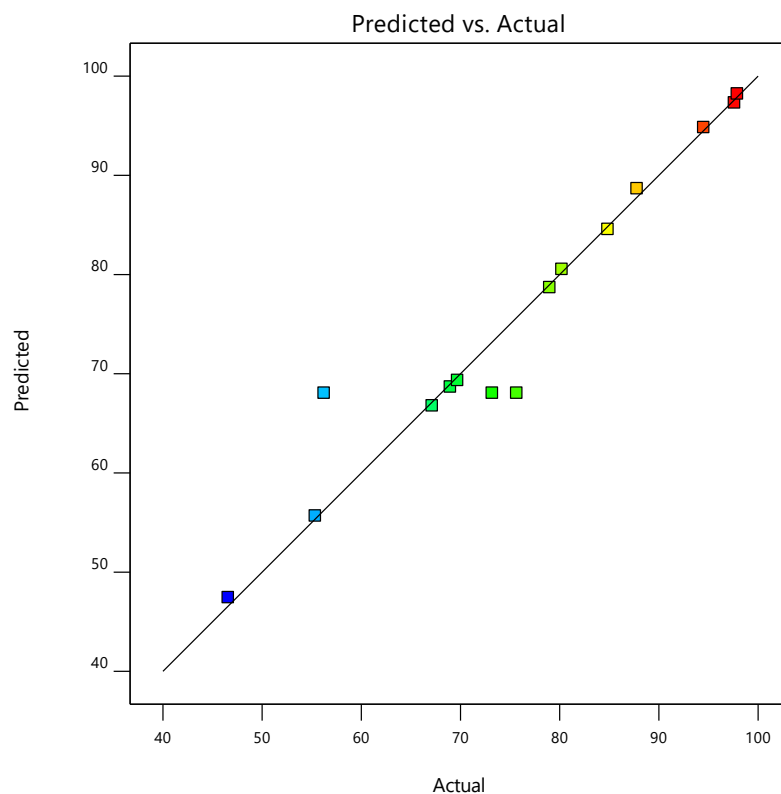
Με βάση τον παρακάτω πίνακα, ο συντελεστής πολλαπλής συσχέτισης (R²) έχει τιμή 0.9332, που υποδηλώνει πολύ καλή προσαρμογή του μοντέλου. Ο προβλεπόμενος συντελεστής πολλαπλής συσχέτισης (Predicted R²) έχει τιμή 0.8919 και είναι σε λογική συμφωνία με τον προσαρμοσμένο συντελεστή πολλαπλής συσχέτισης (Adjusted R²) που έχει τιμή 0.8131, εφόσον η διαφορά είναι μικρότερη από 0.2.

Ο όρος «Adeq Precision» μετρά την αναλογία σήματος προς θόρυβο και στην συγκεκριμένη περίπτωση έχει λόγο 9.2425. Μια αναλογία μεγαλύτερη από 4 είναι επιθυμητή και υποδεικνύει επαρκές σήμα.

Πίνακας 3-8 Αποτελέσματα σχετικά με την προσαρμογή στο μοντέλο που περιγράφει την 2η απόκριση

Std. Dev.	6.73	R²	0.9332
Mean	75.65	Adjusted R²	0.8131
C.V. %	8.89	Predicted R²	0.8919
		Adeq Precision	9.2425

Στο παρακάτω διάγραμμα, απεικονίζεται η συσχέτιση των προβλεπόμενων από το μοντέλο τιμών με τις πραγματικές που ελήφθησαν. Παρατηρείται πως το μοντέλο παλινδρόμησης που επιλέχθηκε, έχει πολύ καλή γραμμικότητα.



Γράφημα 3-27 Συσχέτιση πραγματικών και προβλεπόμενων τιμών της 2ης απόκρισης

Το μοντέλο παλινδρόμησης που συσχετίζει τις παραμέτρους του σχεδιασμού της διεργασίας A, B και C με την % συγκράτηση του νερού R2(απόκριση):

$$R^2 = 68.05 - 7.06A + 10.94B + 9.66C - 5.69AB + 5.37AC + 14.26A^2 - 10.26A^2B + 4.55A^2C - 1.56AB^2$$

Το αλγινικό, η χιτοζάνη και ο συνδυασμός της με το NADES (ChCl: AA) παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική ($p < 0.005$) επίδραση στην ικανότητα συγκράτησης του νερού (WRR) των υδρογελών.

- **3^η Απόκριση : Απορρόφηση ελαίου**

Για τη μελέτη της απόκρισης αυτής, επιλέχθηκε το μοντέλο της μορφής quadratic model, δηλαδή τετραγωνικό. Στην παρακάτω εικόνα φαίνονται τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης ANOVA.

Πίνακας 3-9 Αποτελέσματα ANOVA για το επιλεγμένο μοντέλο που περιγράφει την 3η απόκριση (απορρόφηση ελαίου)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	1.935E+05	9	21498.89	13.57	0.0052	significant
A-NADES	47432.00	1	47432.00	29.94	0.0028	
B-CS	417.61	1	417.61	0.2636	0.6295	
C-Alginate	34795.22	1	34795.22	21.96	0.0054	
AB	63051.21	1	63051.21	39.80	0.0015	
AC	6496.36	1	6496.36	4.10	0.0987	
BC	127.69	1	127.69	0.0806	0.7879	
A ²	25247.67	1	25247.67	15.94	0.0104	
B ²	12762.31	1	12762.31	8.06	0.0363	
C ²	3107.02	1	3107.02	1.96	0.2203	
Residual	7921.73	5	1584.35			
Lack of Fit	4441.01	3	1480.34	0.8506	0.5802	not significant
Pure Error	3480.73	2	1740.36			
Cor Total	2.014E+05	14				

Οι p-values που είναι μικρότερες από 0.05 υποδεικνύουν ότι οι όροι του μοντέλου είναι σημαντικοί. Σε αυτή την περίπτωση τα A, C, AB, A², B² είναι σημαντικοί όροι του μοντέλου.

Η F-value του μοντέλου είναι 13.57 και δηλώνει ότι το μοντέλο είναι σημαντικό. Υπάρχει μόνο 0.52 % πιθανότητα να προκύψει μια τόσο μεγάλη τιμή F λόγω θορύβου.

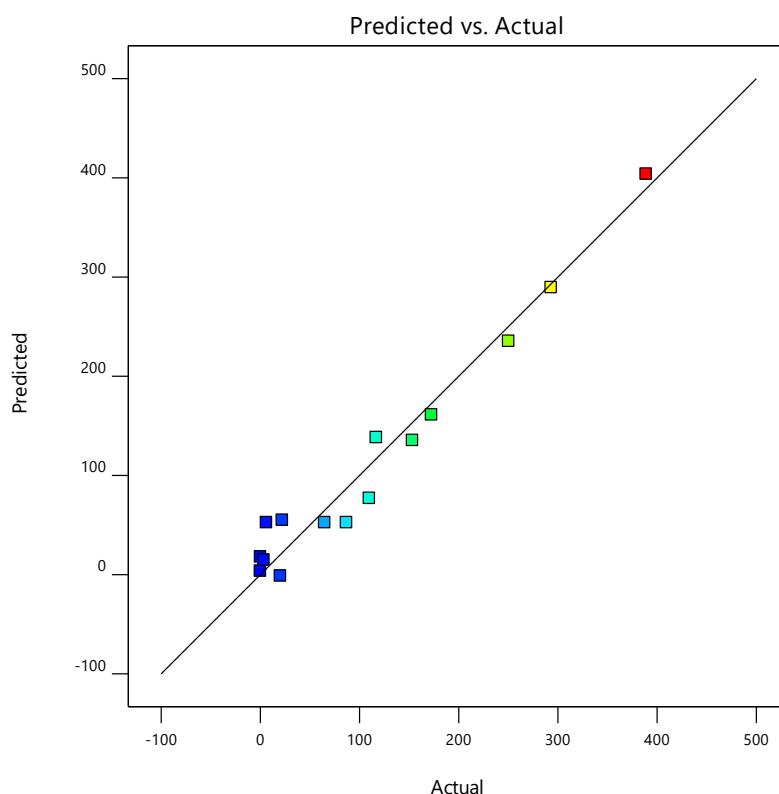
Η τιμή F-value του Lack of Fit του μοντέλου είναι 0.85 το οποίο σημαίνει ότι η κακή προσαρμογή δεν είναι σημαντική σε σχέση με το καθαρό σφάλμα. Υπάρχει 58.02 % πιθανότητα η F-value του Lack of Fit του μοντέλου να έχει αυτήν την τιμή λόγω του θορύβου.

Με βάση τον παρακάτω πίνακα, ο συντελεστής πολλαπλής συσχέτισης (R^2) έχει τιμή 0.9607, που υποδηλώνει πολύ καλή προσαρμογή του μοντέλου. Ο προβλεπόμενος συντελεστής πολλαπλής συσχέτισης (Predicted R^2) αποκλίνει από τον προσαρμοσμένο συντελεστή πολλαπλής συσχέτισης (Adjusted R^2) περισσότερες από 0.2 μονάδες, οπότε πιθανότατα χρειάζεται περαιτέρω αφαίρεση όρων από το μοντέλο. Η τιμή «Adequate Precision» είναι ικανοποιητική διότι είναι μεγαλύτερη από 4.

Πίνακας 3-10 Αποτελέσματα σχετικά με την προσαρμογή στο μοντέλο που περιγράφει την 3η απόκριση

Std. Dev.	39.80	R²	0.9607
Mean	112.55	Adjusted R²	0.8899
C.V. %	35.36	Predicted R²	0.6083
		Adeq Precision	12.4647

Ακολουθεί το διάγραμμα συσχέτισης προβλεπόμενων και πραγματικών τιμών. Όπως φαίνεται, η γραμμικότητα του μοντέλου είναι πολύ ικανοποιητική.



Γράφημα 3-28 Συσχέτιση πραγματικών και προβλεπόμενων τιμών της 3ης απόκρισης

Το μοντέλο παλινδρόμησης που συσχετίζει τις παραμέτρους του σχεδιασμού της διεργασίας A, B και C με την απορρόφηση του ελαίου R3(απόκριση):

$$R3= 52.57 - 77.0A - 7.23B - 65.95C + 125.55AB + 40.30AC + 5.65BC + 82.69A^2 + 58.79B^2 - 29.01C^2$$

Το αλγινικό, το NADES (ChCl: AA) και ο συνδυασμός του με την χιτοζάνη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική ($p < 0.005$) επίδραση στην ικανότητα απορρόφησης ελαίου των υδρογελών.

3.6.2 Βελτιστοποίηση του μοντέλου – Βελτιστοποίηση της σύστασης

Με στόχο την βελτιστοποίηση του μοντέλου, ορίζεται το εύρος των τιμών μέσα στο οποίο πρέπει να κυμαίνονται τόσο οι εξαρτημένες όσο και οι ανεξάρτητες μεταβλητές. Το εύρος αυτό ορίστηκε με βάση τις τιμές της πρώτης σειράς πειραμάτων εξαιρώντας τις τιμές που παρατηρήθηκε ότι δεν ευνόησαν τις ιδιότητες της υδρογέλης (ικανότητα διόγκωσης, συγκράτησης νερού και απορρόφησης ελαίου). Έτσι, ορίστηκαν τα παρακάτω εύρη:

Πίνακας 3-11 Όρια τιμών εξαρτημένων και ανεξάρτητων μεταβλητών για την εύρεση της βέλτιστης σύστασης της υδρογέλης

	Χαμηλή τιμή	Υψηλή τιμή	Κριτήριο
X1: NADES (% v/v)	2	5	-
X2: Χιτοζάνη (%w/v)	0.2	0.8	-
X3: Αλγινικό (%w/v)	1	5	-
Y1: Ικανότητα Διόγκωσης (%)	300	700	μεγιστοποίηση
Y2: Ικανότητα Συγκράτησης Νερού (%)	46.5812	97.9094	μεγιστοποίηση
Y3: Ικανότητα Απορρόφησης Ελαίου (%)	100	388.9	μεγιστοποίηση

Τα αποτελέσματα της βελτιστοποίησης φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 3-12 Αποτελέσματα βελτιστοποίησης της σύστασης της υδρογέλης

NADES (% v/v)	Χιτοζάνη (%w/v)	Αλγινικό (%w/v)
2	0.2	4.67

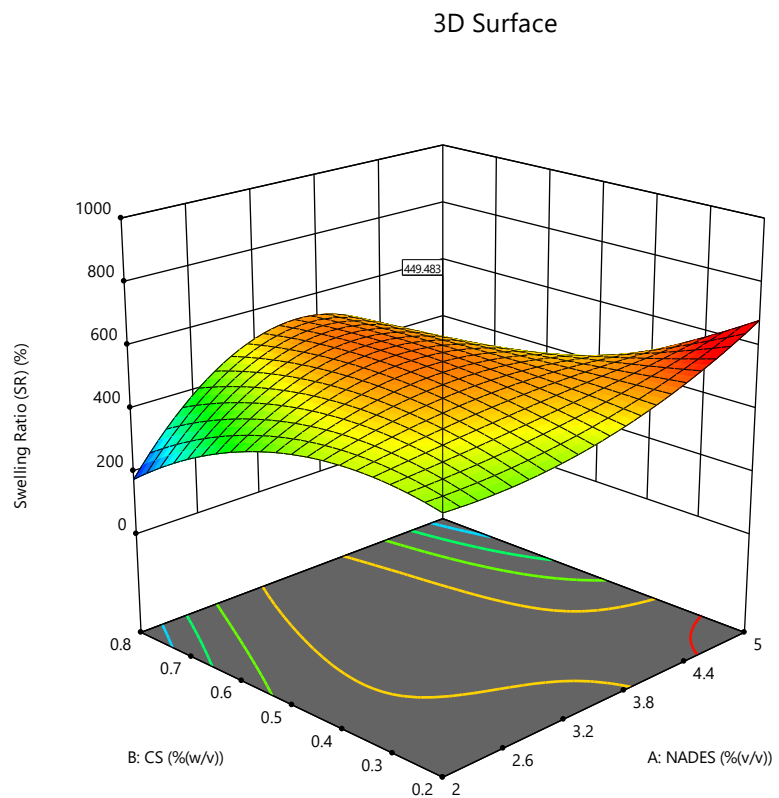
Στη συνέχεια παρατίθενται τα τρισδιάστατα γραφήματα των επιφανειών απόκρισης συναρτήσει δύο εκ των τριών ανεξάρτητων μεταβλητών κάθε φορά, όπου η τρίτη μεταβλητή λαμβάνει τη βέλτιστη τιμή της.

- **Ικανότητα Διόγκωσης (SR)**


Factor Coding: Actual
● Design Points
170.769  607.143

X1 = A: NADES
X2 = B: CS

Actual Factor
C: Alginate = 4.67127

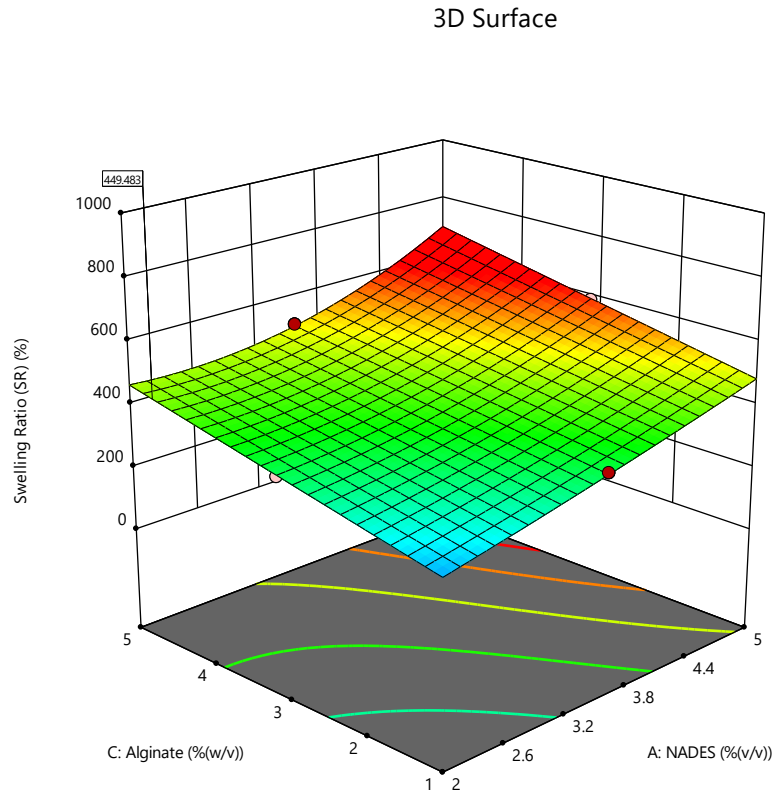


Γράφημα 3-29: 3D επιφάνεια του SR (%) συναρτήσει των μεταβλητών A και B, για βέλτιστο C.


Factor Coding: Actual
 Design Points:
 ● Above Surface
 ○ Below Surface
 170.769  607.143

X1 = A: NADES
 X2 = C: Alginate

Actual Factor
 B: CS = 0.200001

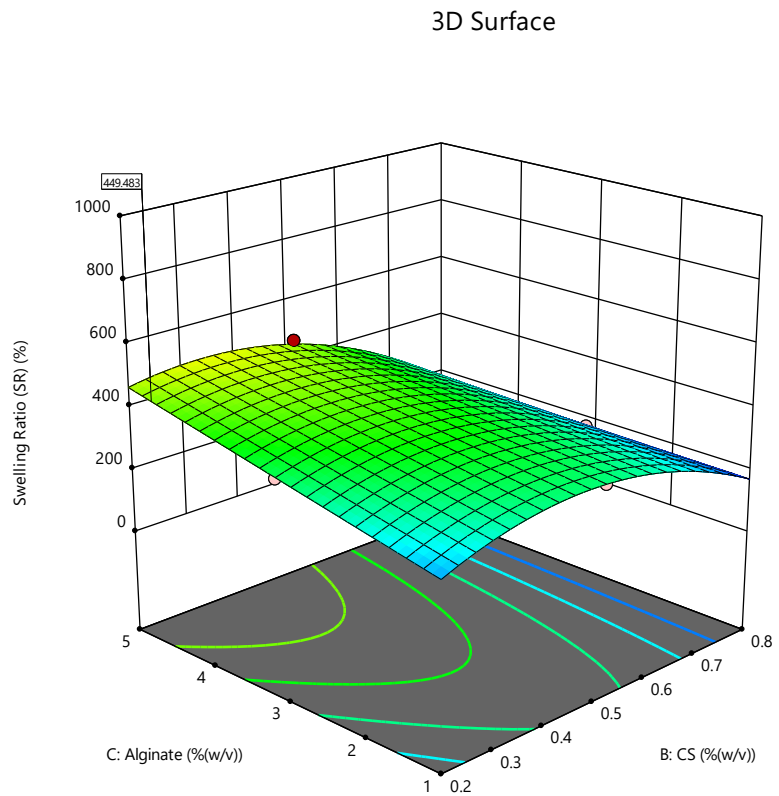


Γράφημα 3-30: 3D επιφάνεια του SR (%) συναρτήσει των μεταβλητών A και C, για βέλτιστο B

Factor Coding: Actual
 Design Points:
 ● Above Surface
 ○ Below Surface
 170.769  607.143

X1 = B: CS
 X2 = C: Alginate

Actual Factor
 A: NADES = 2



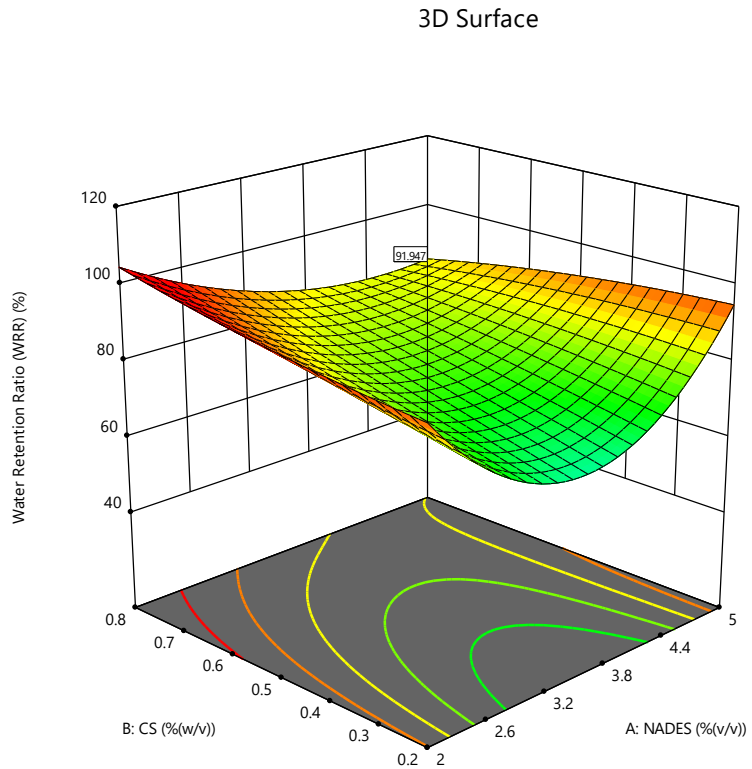
Γράφημα 3-31: 3D επιφάνεια του SR (%) συναρτήσει των μεταβλητών B και C, για βέλτιστο A

- Ικανότητα συγκράτησης νερού (WRR)

Factor Coding: Actual
 ● Design Points
 46.5812 97.9094

X1 = A: NADES
 X2 = B: CS

Actual Factor
 C: Alginate = 4.67127

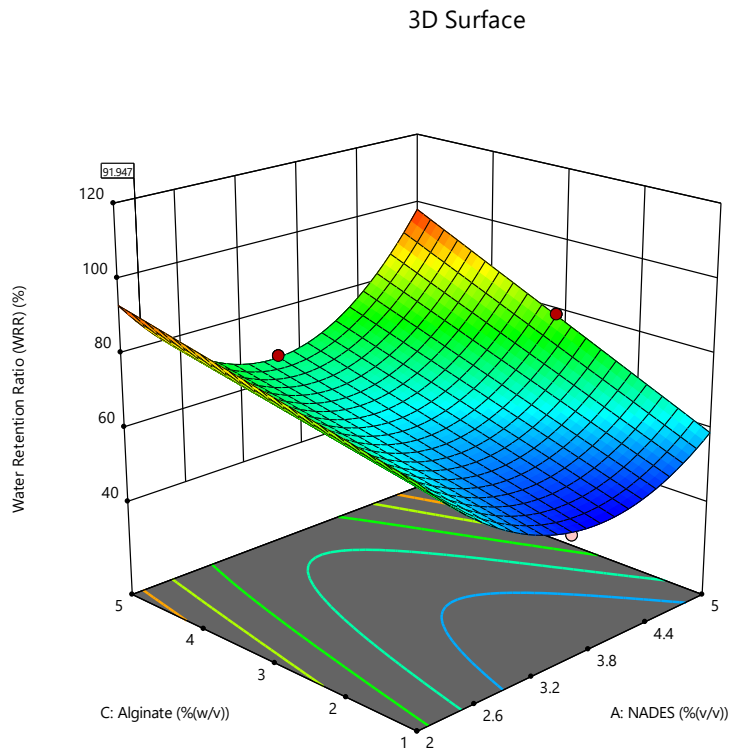


Γράφημα 3-32: 3D επιφάνεια του WRR (%) συναρτήσει των μεταβλητών A και B, για βέλτιστο C

Factor Coding: Actual
 Design Points:
 ● Above Surface
 ○ Below Surface
 46.5812 97.9094

X1 = A: NADES
 X2 = C: Alginate

Actual Factor
 B: CS = 0.200001

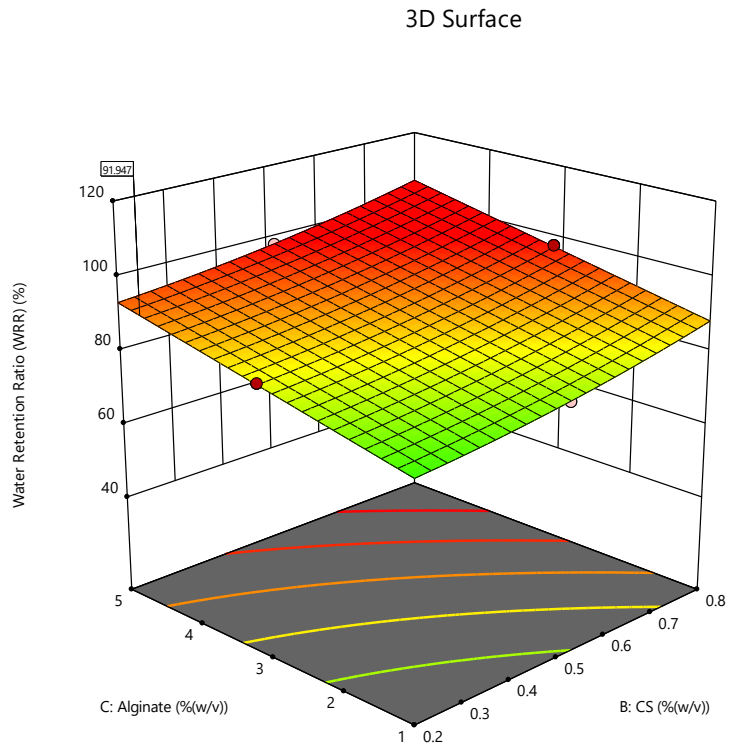


Γράφημα 3-33: 3D επιφάνεια του WRR (%) συναρτήσει των μεταβλητών A και C, για βέλτιστο B

Factor Coding: Actual
 Design Points:
 ● Above Surface
 ○ Below Surface
 46.5812 97.9094

X1 = B: CS
 X2 = C: Alginate

Actual Factor
 A: NADES = 2



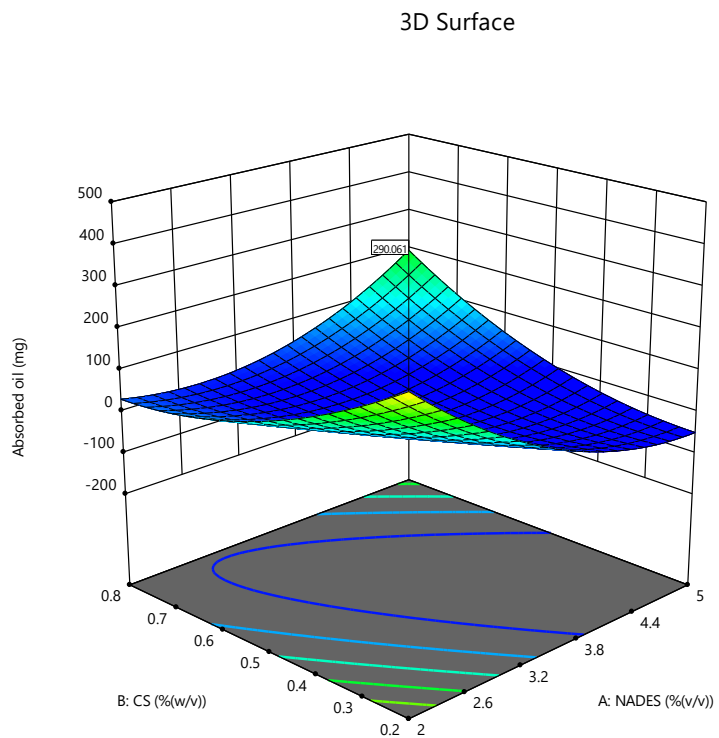
Γράφημα 3-34: 3D επιφάνεια του WRR (%) συναρτήσει των μεταβλητών B και C, για βέλτιστο A

- **Ικανότητα Απορρόφησης Ελαίου (Absorbed Oil)**

Factor Coding: Actual
 Design Points
 ● 0 388.9

X1 = A: NADES
 X2 = B: CS

Actual Factor
 C: Alginate = 4.67127



Γράφημα 3-35: 3D επιφάνεια του Absorbed Oil (mg) συναρτήσει των μεταβλητών A και B, για βέλτιστο C

Factor Coding: Actual

Design Points:

● Above Surface

○ Below Surface

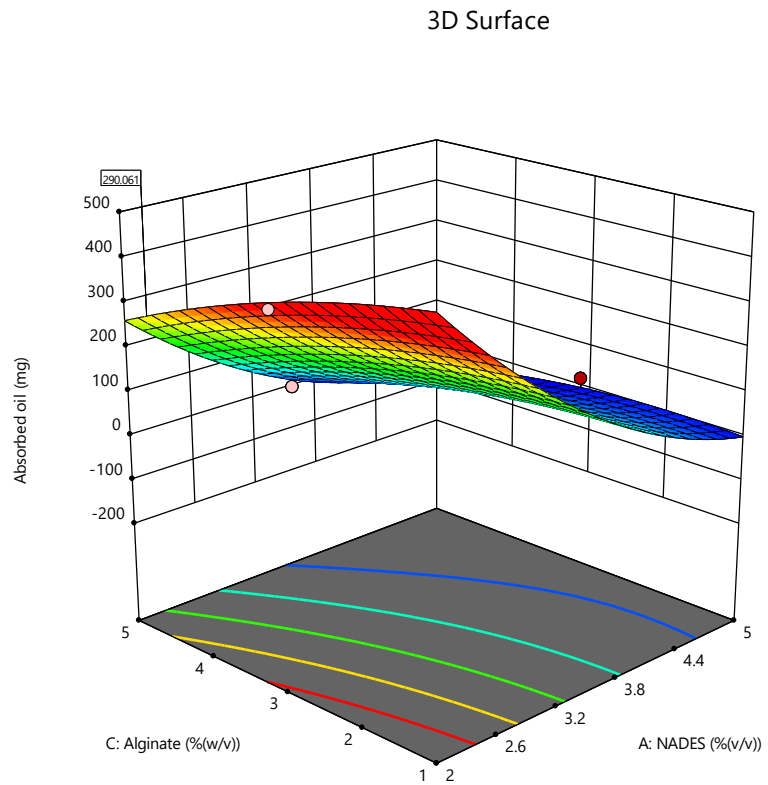
0 388.9

X1 = A: NADES

X2 = C: Alginate

Actual Factor

B: CS = 0.200001



Γράφημα 3-36: 3D επιφάνεια του Absorbed Oil (mg) συναρτήσει των μεταβλητών A και C, για βέλτιστο B

Factor Coding: Actual

Design Points:

● Above Surface

○ Below Surface

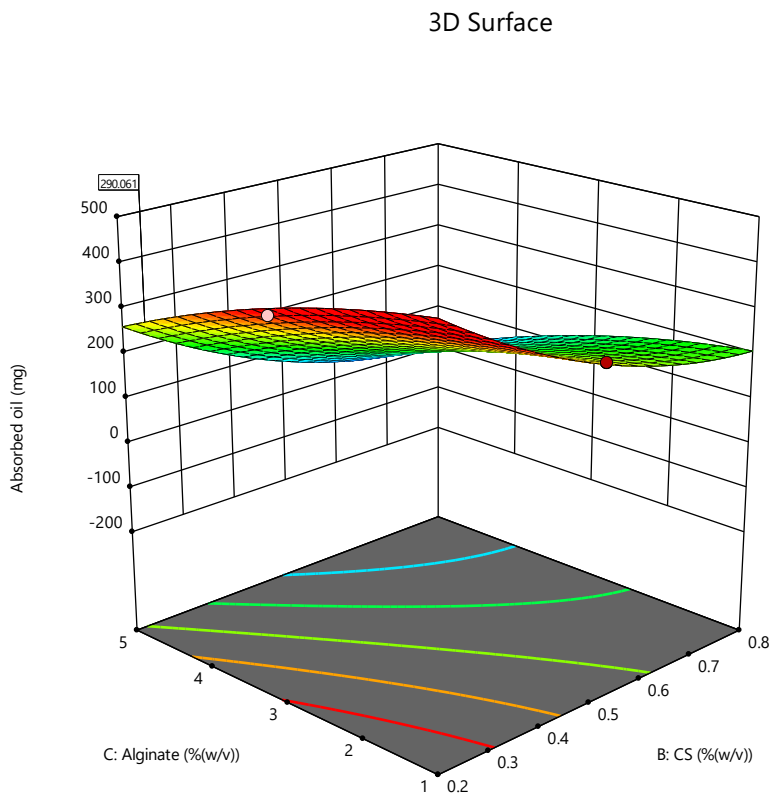
0 388.9

X1 = B: CS

X2 = C: Alginate

Actual Factor

A: NADES = 2



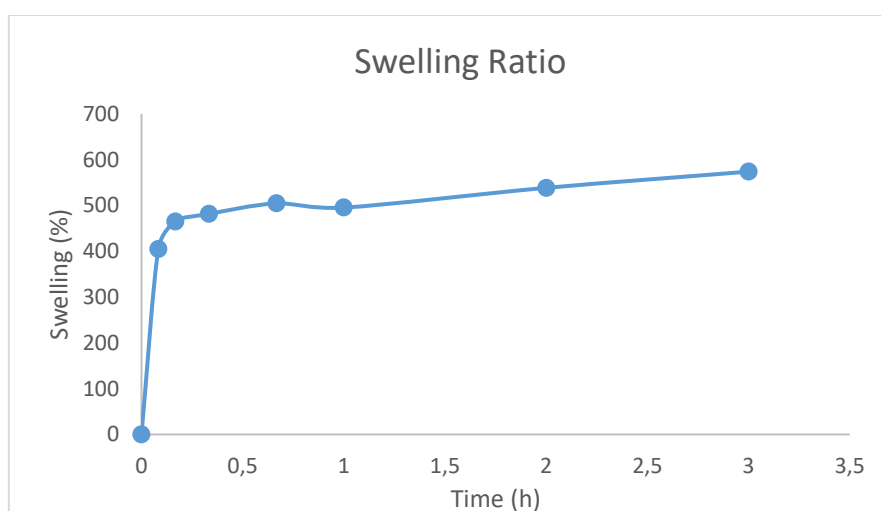
Γράφημα 3-37: 3D επιφάνεια του Absorbed Oil (mg) συναρτήσει των μεταβλητών B και C, για βέλτιστο A

3.7 Αξιολόγηση των αποκρίσεων της υδρογέλης με την βέλτιστη σύσταση

3.7.1 Αποτελέσματα της μελέτης διόγκωσης, συγκράτησης νερού των υδρογελών (swelling ratio-water retention ratio) και απορρόφησης ελαίου (oil absorption)

- **Υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο λεβάντας**

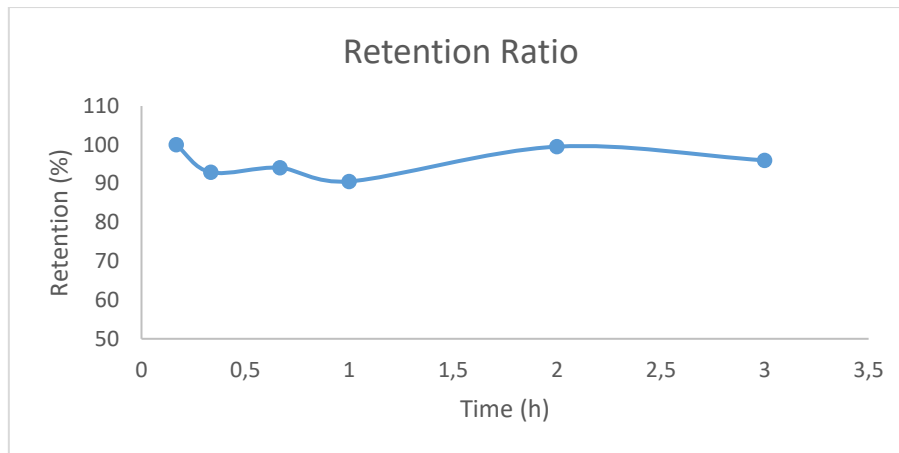
Το διάγραμμα που απεικονίζει το ποσοστό διόγκωσης σε συνάρτηση με τον χρόνο δίνεται παρακάτω:



Γράφημα 3-38 Ποσοστό διόγκωσης της υδρογέλης αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο λεβάντας σε συνάρτηση με τον χρόνο

Παρατηρείται, πως η διόγκωση της υδρογέλης είναι 405 % στα πρώτα 10 min, γεγονός που επιβεβαιώνει τις βελτιστοποιημένες μηχανικές ιδιότητες της υδρογέλης.

Παρακάτω παρατίθεται το διάγραμμα με το ποσοστό συγκράτησης νερού από την βέλτιστη υδρογέλη.



Γράφημα 3-39 Ποσοστό συγκράτησης νερού από την υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο λεβάντας σε συνάρτηση με τον χρόνο

Σύμφωνα με το διάγραμμα, η συγκράτηση νερού από την υδρογέλη διατηρείται σε υψηλά επίπεδα. Μάλιστα, στις 2 h παρατηρείται εκ νέου ξαφνική αύξηση του ποσοστού, το οποίο φτάνει το 99 % του αρχικού.

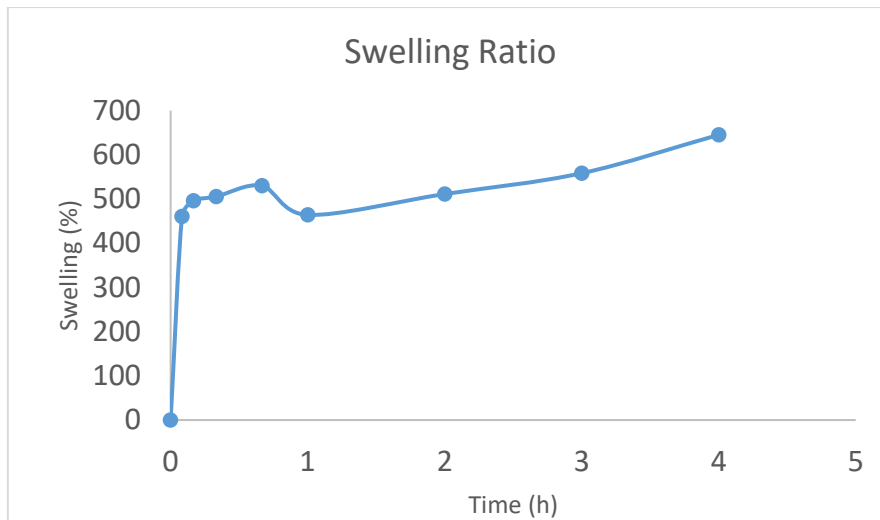
Τα αποτελέσματα που αφορούν την μελέτη απορρόφησης ελαίων φαίνονται παρακάτω:

Πίνακας 3-13 Αποτελέσματα απορρόφησης ελαίου

Μάζα υδρογέλης (mg)	Ηλιέλαιο (mg)	Αραβοσιτέλαιο (mg)	Ελαιόλαδο (mg)
200	101.9	100.2	184.4

- **Υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο μέντας**

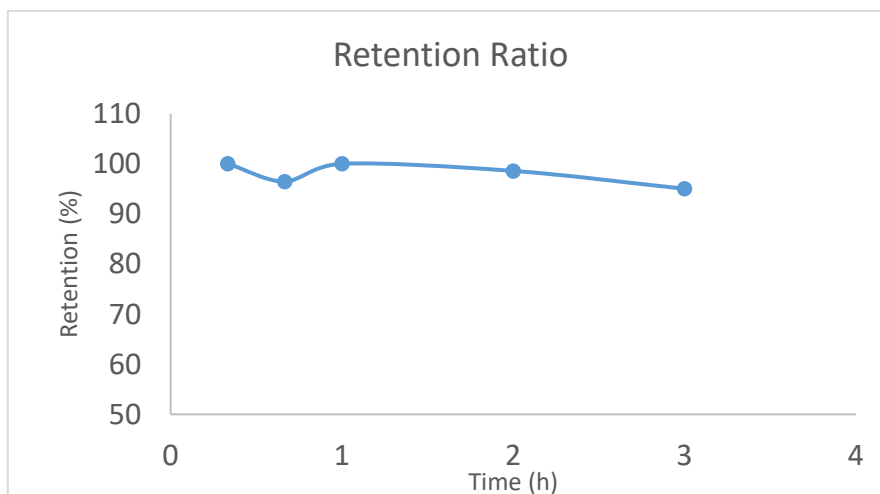
Το διάγραμμα που απεικονίζει το ποσοστό διόγκωσης σε συνάρτηση με τον χρόνο δίνεται παρακάτω:



Γράφημα 3-40 Ποσοστό διόγκωσης της υδρογέλης αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο μέντας σε συνάρτηση με τον χρόνο

Παρατηρείται, πως η διόγκωση της υδρογέλης είναι 460 % στα πρώτα 10 min. Η διόγκωση συνεχίζει να αυξάνεται, ενώ μετά το πέρας της 1 h, η διόγκωση έχει μεγάλο ρυθμό.

Παρακάτω παρατίθεται το διάγραμμα με το ποσοστό συγκράτησης νερού από την βέλτιστη υδρογέλη.



Γράφημα 3-41 Ποσοστό συγκράτησης νερού από την υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με αιθέριο έλαιο μέντας σε συνάρτηση με τον χρόνο

Σύμφωνα με το διάγραμμα, η συγκράτηση νερού από την υδρογέλη διατηρείται σε υψηλά επίπεδα. Στις 2 h παρατηρείται ότι το ποσοστό συγκράτησης νερού φτάνει το 98 % του αρχικού.

Τα αποτελέσματα που αφορούν την μελέτη απορρόφησης ελαίων φαίνονται παρακάτω:

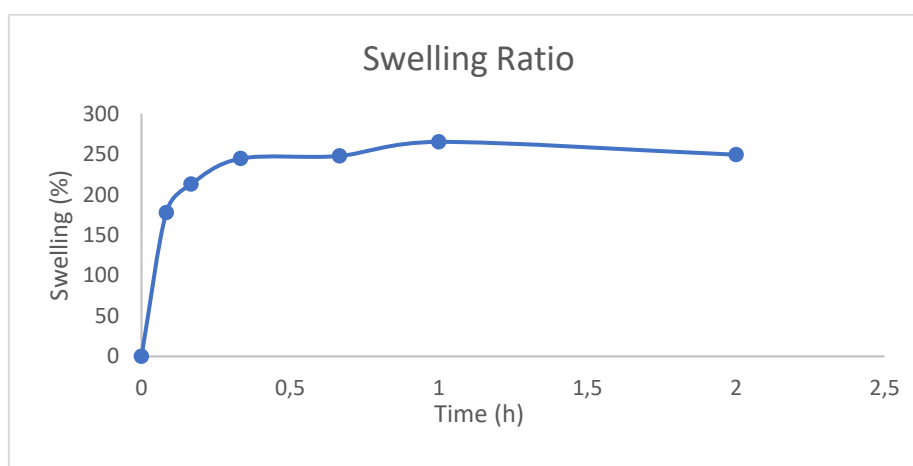
Πίνακας 3-14 Αποτελέσματα απορρόφησης ελαίου

Μάζα υδρογέλης (mg)	Ηλιέλαιο (mg)	Αραβοσιτέλαιο (mg)	Ελαιόλαδο (mg)
200	61.8	22.7	32.4

Παρατηρείται πως η ποσότητα του απορροφούμενου ελαίου είναι πολύ χαμηλότερη από αυτή στην περίπτωση της υδρογέλης με εγκλεισμένο αιθέριο έλαιο λεβάντας. Το ηλιέλαιο απορροφάται σε μεγαλύτερη ποσότητα από τα υπόλοιπα έλαια.

- **Υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών χωρίς εγκλεισμένο αιθέριο έλαιο (blank)**

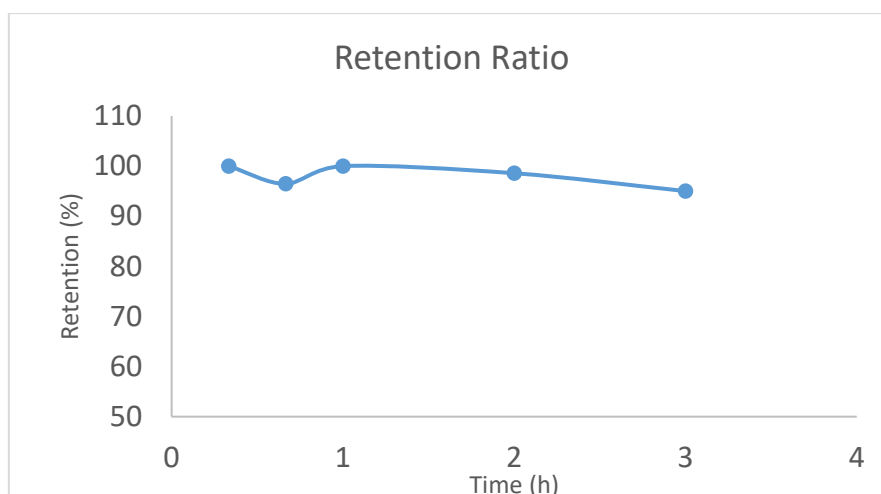
Το διάγραμμα που απεικονίζει το ποσοστό διόγκωσης σε συνάρτηση με τον χρόνο δίνεται παρακάτω:



Γράφημα 3-42 Ποσοστό διόγκωσης της υδρογέλης αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών χωρίς εγκλεισμένο έλαιο (blank) σε συνάρτηση με τον χρόνο

Παρατηρείται πως η διόγκωση στα 10 min φτάνει σε ποσοστό 213 % και στην συνέχεια διατηρείται σε πρακτικά σταθερά επίπεδα, έχει φτάσει δηλαδή στο σημείο ισορροπίας.

Παρακάτω παρατίθεται το διάγραμμα με το ποσοστό συγκράτησης νερού.



Γράφημα 3-43 Ποσοστό συγκράτησης νερού από την υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών χωρίς εγκλεισμένο έλαιο (blank) σε συνάρτηση με τον χρόνο

Με βάση το παραπάνω γράφημα, η συγκράτηση νερού διατηρείται υψηλή, με το χαμηλότερο ποσοστό να παρατηρείται στις 3 h και ίσο με 95%.

Τα αποτελέσματα που αφορούν την μελέτη απορρόφησης ελαίων φαίνονται παρακάτω:

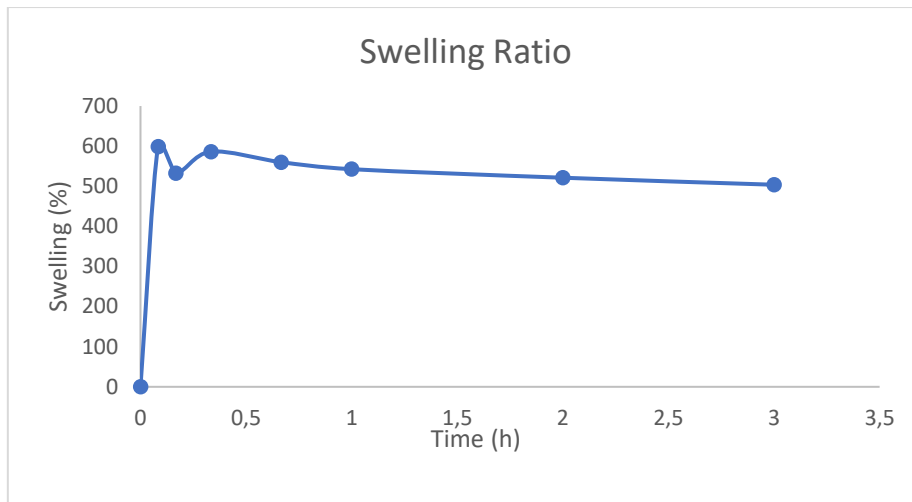
Πίνακας 3-15 Αποτελέσματα απορρόφησης ελαίου

Μάζα υδρογέλης (mg)	Ηλιέλαιο (mg)	Αραβοσιτέλαιο (mg)	Ελαιόλαδο (mg)
200	20.6	226.6	125.5

Παρατηρείται πως η ποσότητες του απορροφούμενου αραβοσιτελαίου και ελαιόλαδου είναι αρκετά μεγαλύτερες από αυτήν του ηλιέλαιου.

- **Υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη με αιθέριο έλαιο λεβάντας**

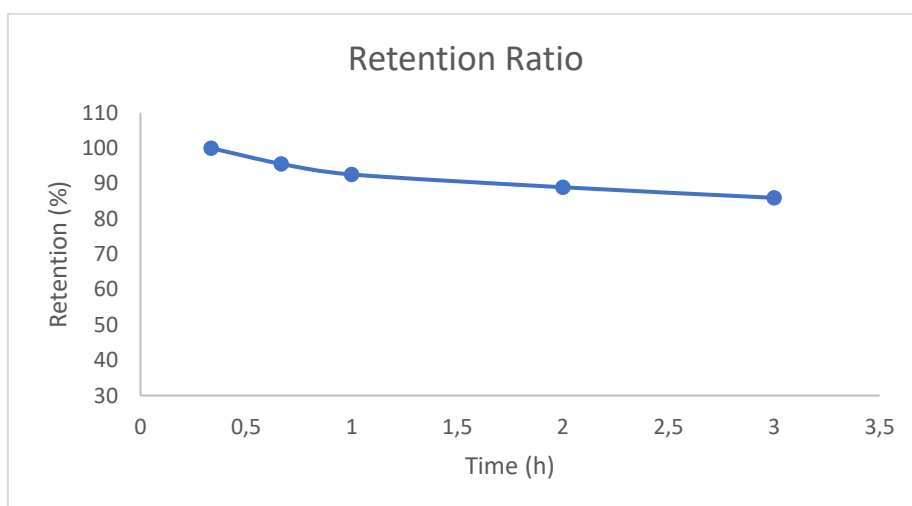
Το διάγραμμα που απεικονίζει το ποσοστό διόγκωσης σε συνάρτηση με τον χρόνο δίνεται παρακάτω:



Γράφημα 3-44 Ποσοστό διόγκωσης της υδρογέλης αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη με αιθέριο έλαιο λεβάντας σε συνάρτηση με τον χρόνο

Όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα, στα 5 min η διόγκωση είναι 599 % , ενώ το σημείο ισορροπίας είναι στα 20 min με 586 % διόγκωση. Στις 2 h παρατηρείται μικρή μείωση της διόγκωσης με ποσοστό 521 % διόγκωση σε σχέση με την αρχική μάζα.

Παρακάτω παρατίθεται το διάγραμμα με το ποσοστό συγκράτησης νερού.



Γράφημα 3-45 Ποσοστό συγκράτησης νερού από την υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη με αιθέριο έλαιο λεβάντας σε συνάρτηση με τον χρόνο

Σύμφωνα με το διάγραμμα, η συγκράτηση νερού διατηρείται σε υψηλά επίπεδα αλλά συνεχώς μειώνεται. Στις 2 h παρατηρείται ότι το ποσοστό συγκράτησης νερού φτάνει το 89% του αρχικού.

Τα αποτελέσματα που αφορούν την μελέτη απορρόφησης ελαίων φαίνονται παρακάτω:

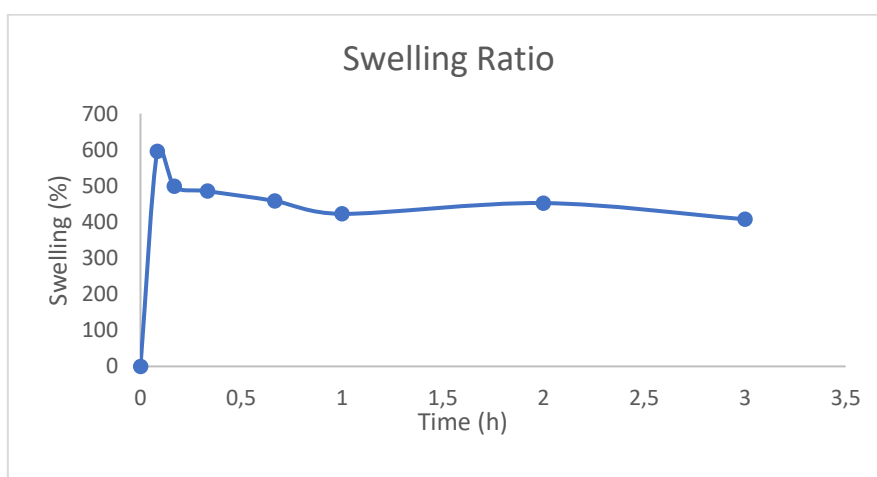
Πίνακας 3-16 Αποτελέσματα απορρόφησης ελαίου

Μάζα υδρογέλης (mg)	Ηλιέλαιο (mg)	Αραβοσιτέλαιο (mg)	Ελαιόλαδο (mg)
200	48.4	227.7	30.4

Παρατηρείται πως η ποσότητα του απορροφούμενου αραβοσιτελαίου είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτές του ηλιέλαιου και ελαιόλαδου.

- **Υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη με αιθέριο έλαιο μέντας**

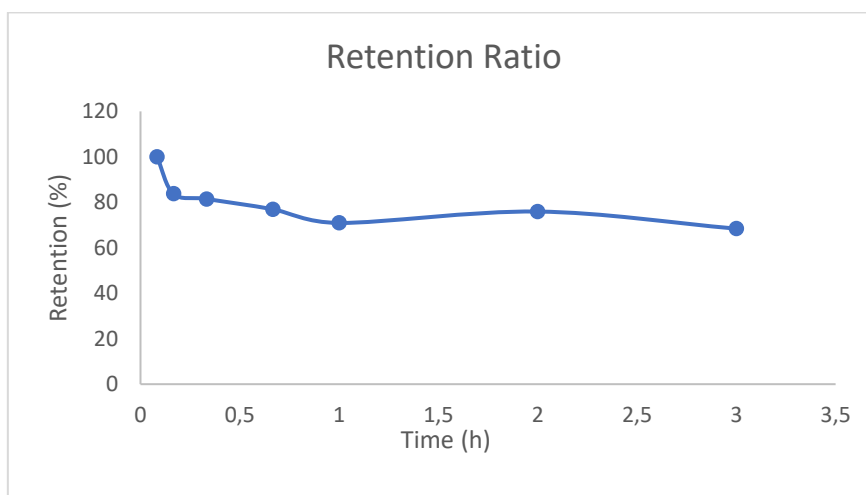
Το διάγραμμα που απεικονίζει το ποσοστό διόγκωσης σε συνάρτηση με τον χρόνο δίνεται παρακάτω:



Γράφημα 3-46 Ποσοστό διόγκωσης της υδρογέλης αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη με αιθέριο έλαιο μέντας σε συνάρτηση με τον χρόνο

Παρατηρείται πως στα 5 min η διόγκωση της υδρογέλης έφτασε 595% του αρχικού μεγέθους της. Επιπλέον, στις 2 h αυξάνεται εκ νέου το ποσοστό διόγκωσης έως 452 % του αρχικής μάζας.

Παρακάτω παρατίθεται το διάγραμμα με το ποσοστό συγκράτησης νερού.



Γράφημα 3-47 Ποσοστό συγκράτησης νερού από την υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη με αιθέριο έλαιο μέντας σε συνάρτηση με τον χρόνο

Η συγκράτηση νερού αρχικά μειώνεται σημαντικά μέχρι και κατά 25%, ενώ στη συνέχεια παραμένει πρακτικά σταθερή.

Τα αποτελέσματα που αφορούν την μελέτη απορρόφησης ελαίων φαίνονται παρακάτω:

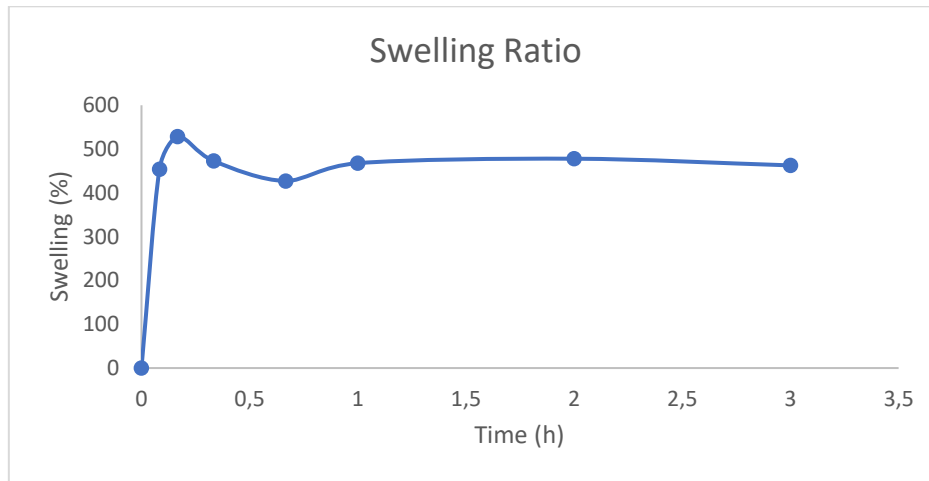
Πίνακας 3-17 Αποτελέσματα απορρόφησης ελαίου

Μάζα υδρογέλης (mg)	Ηλιέλαιο (mg)	Αραβοσιτέλαιο (mg)	Ελαιόλαδο (mg)
200	87	204.3	37.3

Παρατηρείται πως η ποσότητα του αραβοσιτελαίου που απορροφάται είναι σημαντικά μεγαλύτερη σε σχέση με τα δύο άλλα έλαια. Ωστόσο, η απορρόφηση του ηλιέλαιου είναι αρκετά ικανοποιητική.

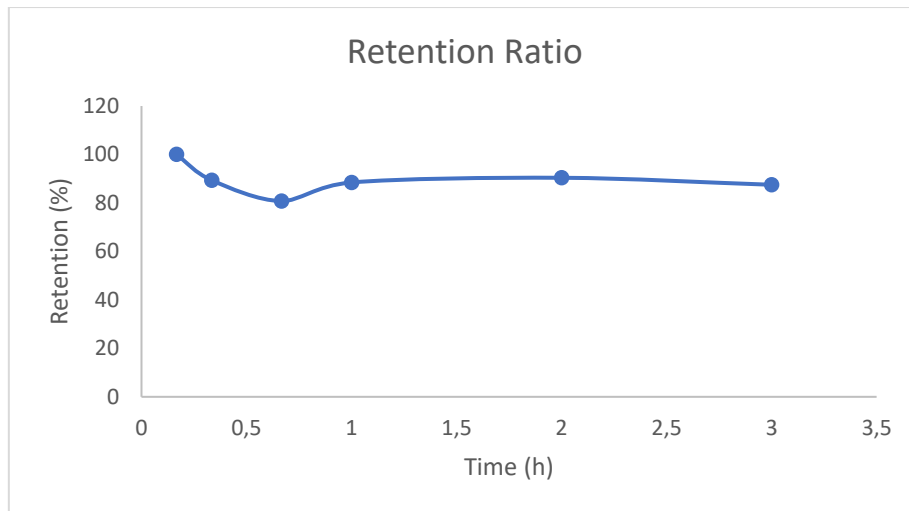
- Υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη χωρίς εγκλεισμένο αιθέριο έλαιο (blank)

Το διάγραμμα που απεικονίζει το ποσοστό διόγκωσης σε συνάρτηση με τον χρόνο δίνεται παρακάτω:



Γράφημα 3-48 Ποσοστό διόγκωσης της υδρογέλης αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη χωρίς εγκλεισμένο αιθέριο έλαιο (blank) σε συνάρτηση με τον χρόνο

Στην συγκεκριμένη περίπτωση, η διόγκωση της υδρογέλης μεγιστοποιείται στα 10 min με αύξηση 529 % σε σχέση με την αρχική της μάζα. Στα 40 min επέρχεται το σημείο ισορροπίας, μετά το οποίο η μάζα παραμένει πρακτικά σταθερή, με εξαίρεση μία αύξηση στις 2 h κατά 10 % . Από το σημείο ισορροπίας ξεκινούν οι μετρήσεις για την ικανότητα συγκράτησης του νερού, τα αποτελέσματα της οποίας φαίνονται στο παρακάτω διάγραμμα:



Γράφημα 3-49 Ποσοστό συγκράτησης νερού από την υδρογέλη αλγινικού με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το φυσικό μείγμα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη χωρίς εγκλεισμένο αιθέριο έλαιο σε συνάρτηση με τον χρόνο

Παρατηρείται πως η συγκράτηση νερού της συγκεκριμένης υδρογέλης μειώνεται αρχικά μέχρι και τα πρώτα 40 min έως το 81 % της μάζας στο σημείο ισορροπίας ενώ στην συνέχεια ανακτά ποσότητα νερού και διατηρεί την μάζα της σταθερή.

Τα αποτελέσματα που αφορούν την μελέτη απορρόφησης ελαίων φαίνονται παρακάτω:

Πίνακας 3-18 Αποτελέσματα απορρόφησης ελαίου

Μάζα υδρογέλης (mg)	Ηλιέλαιο (mg)	Αραβοσιτέλαιο (mg)	Ελαιόλαδο (mg)
200	26.5	49.4	186

Η ποσότητα του ελαιόλαδου που απορροφάται είναι σημαντική και μεγαλύτερη από αυτές των άλλων λαδιών.

3.8 Επιβεβαίωση του μοντέλου (Confirmation Runs)

Η υδρογέλη με την βέλτιστη σύσταση παρασκευάστηκε τρεις φορές με στόχο την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από τον πειραματικό σχεδιασμό. Τα αποτελέσματα της αξιολόγησης της υδρογέλης με εγκλεισμένο το αιθέριο έλαιο λεβάντας με την βέλτιστη σύσταση φαίνονται παρακάτω:

Πίνακας 3-19 Αποτελέσματα επαναληπτικών πειραμάτων

Runs	Swelling Ratio (SR) (%)	Water Retention Ratio (WRR) (%)	Oil Absorption (mg)
1	405	99	184.4
2	400	98	170.2
3	415	96	180.7

Μέσω του προγράμματος, προέκυψαν τα παρακάτω εύρη αποκρίσεων:

Two-sided Confidence = 95%

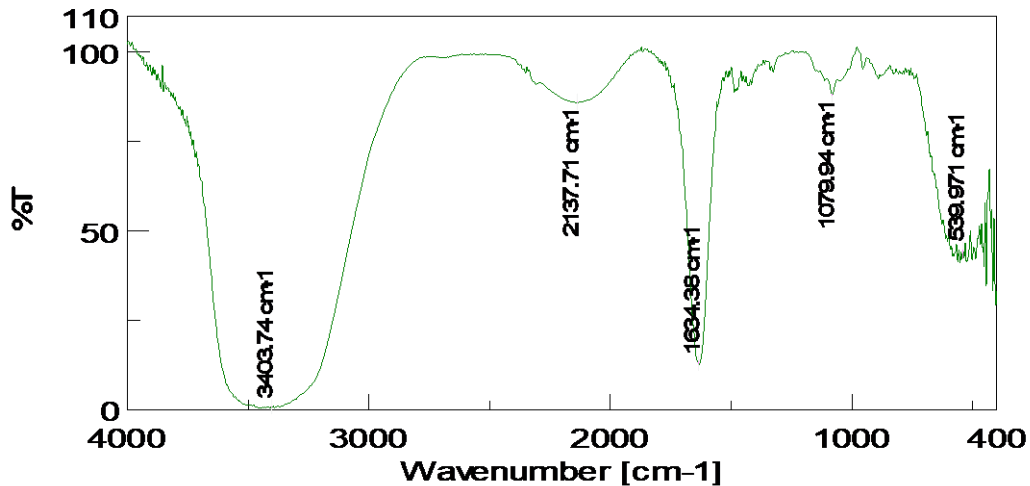
Response	Predicted Mean	Predicted Median	Observed	Std Dev	n	SE Pred	95% PI low	Data Mean	95% PI high
Swelling Ratio (SR)	451.046	451.046		55.2155	3	70.6432	254.909	406.667	647.183
Water Retention Ratio (WRR)	92.0741	92.0741		6.72819	3	8.42928	70.4059	97.6667	113.742
Absorbed oil	287.751	287.751		39.8038	3	48.6788	162.619	178.433	412.884

Όπως φαίνεται από τον πίνακα, τα αποτελέσματα των επαναληπτικών πειραμάτων είναι εντός των ορίων του πειραματικού σχεδιασμού.

3.9 Χαρακτηρισμός Υδρογελών μέσω φασματομετρίας υπερύθρου (FT-IR)

3.9.1 Υδρογέλη αλγινικού με εσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών χωρίς έλαιο (blank)

Παρακάτω φαίνεται το φάσμα FT-IR των υδρογελών με CS-ChCl: AA NPs με βάση το οποίο γίνεται ο δομικός χαρακτηρισμός τους.

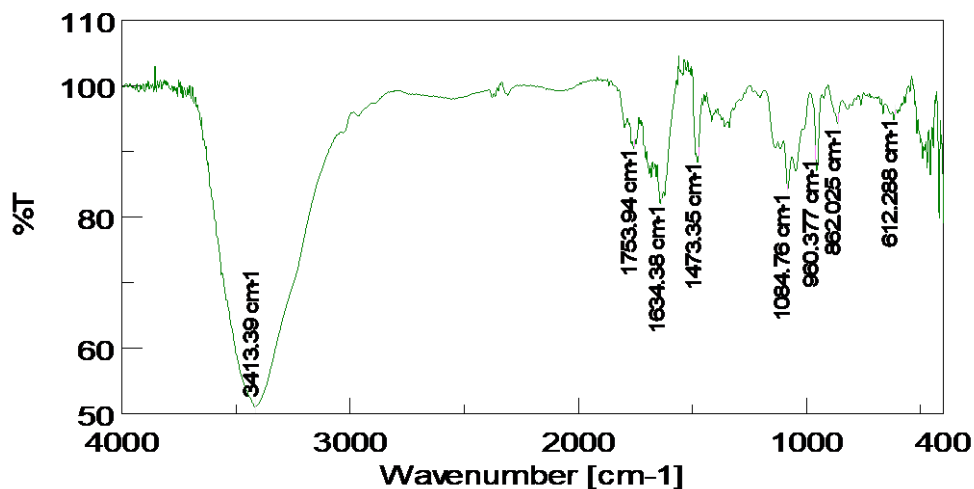


Γράφημα 3-50 Φάσμα FT-IR των υδρογελών με CS-ChCl: AA NPs

Όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα, η πλατιά κορυφή στα 3403.74 cm^{-1} έχει εύρος από 2800 cm^{-1} έως 3700 cm^{-1} και οφείλεται στις δονήσεις των δεσμών -OH και -NH, ενώ το εύρος της οφείλεται στους δεσμούς H των πολυσακχαριτών και του αλγινικού. Η κορυφή 1079.94 cm^{-1} οφείλεται στην δόνηση του δεσμού C-O-C και είναι πολύ μικρότερη από αυτήν της καθαρής χιτοζάνης. Επιπλέον, η χαρακτηριστική κορυφή στον κυματαριθμό 1634.38 cm^{-1} οφείλεται στην δόνηση του δεσμού C=C των αλκενίων.

3.9.2 Υδρογέλη αλγινικού με εσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με εγκλεισμένο αιθέριο έλαιο λεβάντας

Παρακάτω φαίνεται το φάσμα FT-IR των υδρογελών με CS-ChCl: AA-Lavender EO NPs με βάση το οποίο γίνεται ο δομικός χαρακτηρισμός τους.



Γράφημα 3-51 Φάσμα FT-IR των υδρογελών με CS-ChCl: AA-Lavender EO NPs

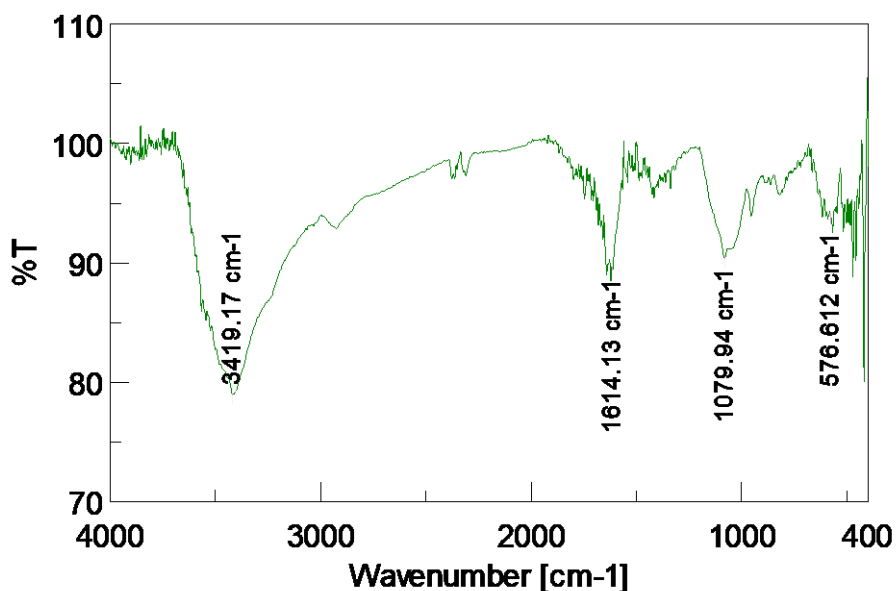
Παρατηρείται πως σε σύγκριση με το φάσμα των CS-ChCl: AA-Lavender EO NPs, οι κορυφές κυμαίνονται στα ίδια μήκη κυματαριθμών ελαφρώς μετατοπισμένες. Αυτό δηλώνει την αλληλεπίδραση των νανοσωματιδίων με το διάλυμα αλγινικού και συνεπώς επιβεβαιώνει την επιτυχία του εγκλεισμού του στην υδρογέλη.

Πιο συγκεκριμένα, η χαρακτηριστική πλατιά κορυφή στον κυματαριθμό 3413.39 cm^{-1} εμφανίζεται σε μεγαλύτερη ένταση στο φάσμα της υδρογέλης, με μεγαλύτερο εύρος και ελαφρώς μετατοπισμένη, γεγονός που υποδηλώνει πως ο αριθμός των δεσμών -OH έχουν μεταβληθεί.

Η χαρακτηριστική κορυφή στον κυματαριθμό 1634.38 cm^{-1} οφείλεται στην δόνηση του δεσμού C=C των αλκενίων ενώ η κορυφή στα 1473.35 cm^{-1} οφείλεται στην ύπαρξη της χαρακτηριστικής ομάδας -COO- .

3.9.3 Υδρογέλη αλγινικού με εσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με εγκλεισμένο αιθέριο έλαιο μέντας

Παρακάτω φαίνεται το φάσμα FT-IR των υδρογελών με CS-ChCl: AA-Mentha EO NPs με βάση το οποίο γίνεται ο δομικός χαρακτηρισμός τους.



Γράφημα 3-52 Φάσμα FT-IR των υδρογελών με CS-ChCl: AA-Mentha EO NPs

Παρατηρείται πως πολλές κορυφές έχουν επικαλυφθεί σε σχέση με το φάσμα των CS-ChCl: AA-Mentha EO NPs. Η πλατιά κορυφή στον κυματαριθμό 3419.17 cm^{-1} έχει χαμηλότερη ένταση και εύρος και οφείλεται στις δονήσεις των -OH και των N-H. Επιπλέον, η κορυφή στα 1079.94 cm^{-1} είναι κοινή με το φάσμα των CS-ChCl: AA-Mentha EO NPs αλλά με μεγαλύτερο πλάτος.

Οι κορυφές 1614.13 cm^{-1} και 576.612 cm^{-1} είναι ελαφρώς μετατοπισμένες σε σχέση με το φάσμα των ναοσωματιδίων και οφείλονται στην δόνηση των δεσμών C=C και των δεσμών C-H των αλκενίων και των αρωματικών δακτυλίων αντίστοιχα.

4 Συμπεράσματα

Με βάση τον αρχικό στόχο της εργασίας, υλοποιήθηκε παρασκευή και βελτιστοποίηση καινοτόμων υδρογελών με ενσωματωμένα νανοσωματίδια χιτοζάνης ως φορείς αιθερίων ελαίων μέντας και λεβάντας κάνοντας χρήση φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών. Ο φυσικός βαθέως ευτηκτικός διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε είναι το NADES χλωριούχου χολίνης – ασκορβικού οξέος (ChCl:AA) σε αναλογία 2:1, ο οποίος χαρακτηρίστηκε δομικά μέσω της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) και της φασματοσκοπίας υπερύθρου (FT-IR).

Οι υδρογέλες που παρασκευάστηκαν αξιολογήθηκαν ως προς τρεις παραμέτρους, την ικανότητα διόγκωσης (Swelling ratio, SR), την ικανότητα συγκράτησης νερού (Water retention ratio, WRR) και την ικανότητα απορρόφησης ελαίου (Oil absorption). Με στόχο τον τελευταίο χαρακτηρισμό χρησιμοποιήθηκαν τρία διαφορετικά είδη λαδιών, το ελαιόλαδο, το ηλιέλαιο και το αραβοσιτέλαιο. Χρησιμοποιώντας αυτές τις τρεις παραμέτρους ως αποκρίσεις, πραγματοποιήθηκε πειραματικός σχεδιασμός τύπου Box-Behnken με ανεξάρτητες μεταβλητές την περιεκτικότητα του NADES (% v/v), την περιεκτικότητα της χιτοζάνης (% w/v) και την περιεκτικότητα του αλγινικού (% w/v).

Τα μοντέλα παλινδρόμησης που χρησιμοποιήθηκαν κατά τον πειραματικό σχεδιασμό προκειμένου να συσχετίσουν τις παραμέτρους σχεδιασμού της διεργασίας με τις αποκρίσεις είναι τα εξής:

- ✓ Κυβικό (cubic model) για τον χαρακτηρισμό της ικανότητας διόγκωσης (SR): Η χιτοζάνη και ο συνδυασμός της με το NADES (ChCl: AA) παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική ($p < 0.005$) επίδραση στην ικανότητα διόγκωσης (SR) των υδρογελών, όπως προκύπτει από την εξίσωση παλινδρόμησης:

$$R1 = 540.78 - 22.11A + 68.59B + 19.56C - 51.92AB - 52.17BC - 167.65A^2 - 39.56B^2 - 212.05A^2B + 37.05A^2C + 88.64AB^2$$

- ✓ Κυβικό (cubic model) για τον χαρακτηρισμό της ικανότητας συγκράτησης του νερού (WRR): Το αλγινικό, η χιτοζάνη και ο συνδυασμός της με το NADES (ChCl: AA) παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική ($p < 0.005$) επίδραση στην ικανότητα συγκράτησης του νερού (WRR) των υδρογελών, όπως προκύπτει από την εξίσωση παλινδρόμησης:

$$R2 = 68.05 - 7.06A + 10.94B + 9.66C - 5.69AB + 5.37AC + 14.26A^2 - 10.26A^2B + 4.55A^2C - 1.56AB^2$$

- ✓ Τετραγωνικό (quadratic model) για τον χαρακτηρισμό της ικανότητας απορρόφησης ελαίου: Το αλγινικό, το NADES (ChCl: AA) και ο συνδυασμός του με την CS παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική ($p < 0.005$) επίδραση στην ικανότητα απορρόφησης ελαίου των υδρογελών, όπως προκύπτει από την εξίσωση παλινδρόμησης:

$$R3 = 52.57 - 77.0A - 7.23B - 65.95C + 125.55AB + 40.30AC + 5.65BC + 82.69A^2 + 58.79B^2 - 29.01C^2$$

Μέσα από την μελέτη πειραματικού σχεδιασμού προέκυψε η παρακάτω βέλτιστη σύσταση της υδρογέλης:

- 1) Περιεκτικότητα NADES (ChCl:AA) 2 % v/v
- 2) Περιεκτικότητα χιτοζάνης 0.2 % w/v
- 3) Περιεκτικότητα αλγινικού 4.7 % w/v

Οι βέλτιστες τιμές των αποκρίσεων φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

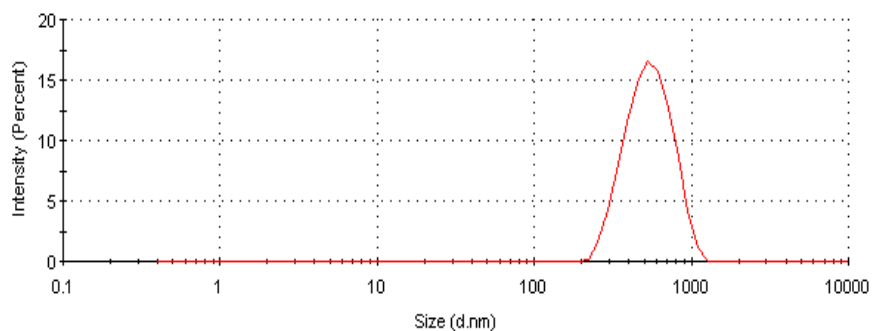
	Ικανότητα διόγκωσης (%)	Ικανότητα συγκράτησης νερού (%)	Ικανότητα απορρόφησης ελαίου (mg)
CS-ChCl: AA-Lavender EO	407	98	178 (ελαιόλαδο)
CS-ChCl: AA-Mentha EO	460	98	62 (ηλιέλαιο)

5 Προτάσεις για το μέλλον

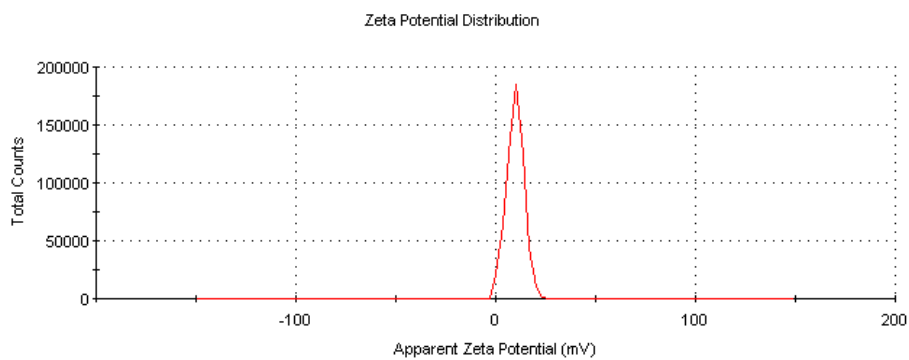
Μελλοντικές προτάσεις αποτελούν:

- Η μελέτη της κινητικής απελευθέρωσης του αιθερίου ελαίου λεβάντας από νανοσωματίδια χιτοζάνης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών με εγκλεισμένο αιθέριο έλαιο λεβάντας και επιλογή του βέλτιστου κινητικού μοντέλου για την περιγραφή του προφίλ απελευθέρωσης
- Αξιολόγηση της αντιμικροβιακής δράσης των υδρογελών καθώς και αξιολόγηση των αντιοξειδωτικής δράσης τους με την *in vitro* μελέτη για την ικανότητα δέσμευσης της σταθερής ελεύθερης ρίζα DPPH και την ικανότητά τους να αναστέλλουν την λιπιδική υπεροξειδωση που προκαλείται από τον εκκινητή ελεύθερων ριζών AAPH
- Ο δομικός χαρακτηρισμός των υδρογελών μέσω της φασματοσκοπίας RAMAN αλλά και μέσω της Ατομικής Φασματομετρίας Ακτίνων Χ (XRD)
- Μελέτη των θερμικών ιδιοτήτων των υδρογελών μέσω TGA/DSC ανάλυσης
- Παρασκευή βιοσυμβατών καινοτόμων υδρογελών με φυσικούς βαθέως ευτηκτικούς διαλύτες (NADESS) με συστατικά τη χλωριούχο χολίνη και το κιτρικό οξύ (ChCl: CA) καθώς και την βεταΐνη, ασκορβικό οξύ και νερό (Bet: AA:H₂O)
- Κλινικές δοκιμές για τον έλεγχο της δραστηριότητας των καινοτόμων υδρογελών στη ρύθμιση του σωματικού βάρους και των μεταβολικών διαταραχών

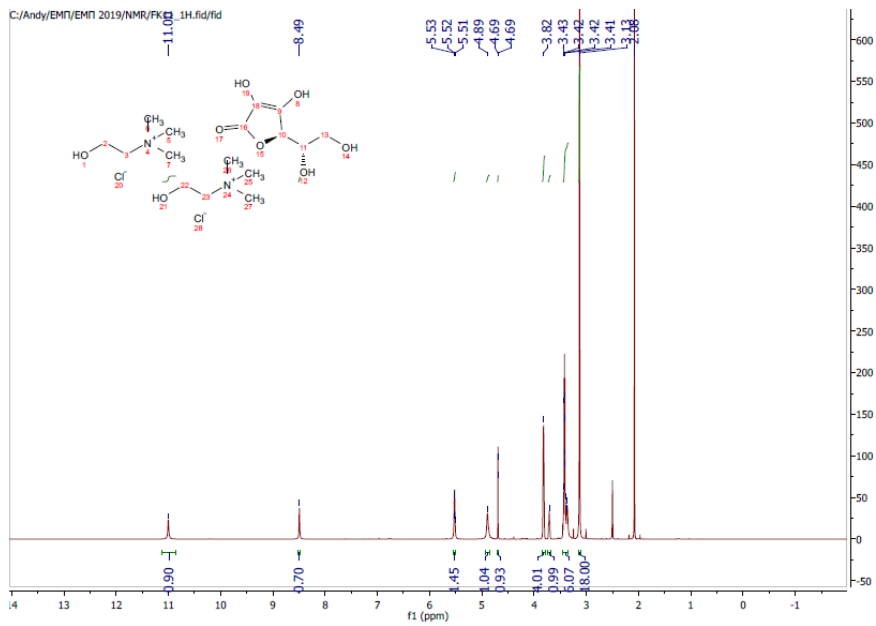
6 Παράρτημα Διαγραμμάτων



Γράφημα 6-1 Κατανομή μεγέθους CS-NADES-Lavender EO NPs



Γράφημα 6-2 ζ-δυναμικό CS-NADES-Lavender EO NPs



Γράφημα 6-3 Φάσμα ^1H NMR (600MHz, DMSO-d_6) του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη ChCl:AA

7 Συμμετοχή σε Διεθνή Συνέδρια

ΔΣ1. Ioanna Pitterou, **Flora Kalogeropoulou**, Anastasia Detsi, *Alginate-based hydrogel containing lavender and mentha essential oil – loaded chitosan nanoparticles using natural deep eutectic solvents*, European Symposium on Organic Chemistry, Virtual Symposium, July, 2021

ΔΣ2. Ioanna Pitterou, **Flora Kalogeropoulou**, Anastasia Detsi, *Alginate-based hydrogel containing lavender and mentha essential oil – loaded chitosan nanoparticles using natural deep eutectic solvents*, Athens Summer School on Organic Synthesis 2021 (ASSOS2021), August, 2021

ΔΣ3. Ioanna Pitterou, **Flora Kalogeropoulou**, Andromachi Tzani, Andriana Lazou, Anthimia Batrinou, Panagiotis Zoumpoulakis, Anastasia Detsi, *Preparation and bioactivity of alginate-based hydrogels incorporating essential oil – loaded chitosan nanoparticles*, 6th Green & Sustainable Chemistry Conference, November, 2021 (Accepted)

8 Βιβλιογραφία

- [1] Anastas, P., & Eghbali, N. (2010). Green chemistry: principles and practice. *Chemical Society Reviews*, 39(1), 301-312.
- [2] Abdussalam-Mohammed, W., Qasem Ali, A., & O Errayes, A. (2020). Green chemistry: principles, applications, and disadvantages. *Chemical Methodologies*, 4(4), 408-423.
- [3] Anastas, P. T., & Zimmerman, J. B. (Eds.). (2012). *Innovations in Green Chemistry and Green Engineering: Selected Entries from the Encyclopedia of Sustainability Science and Technology*. Springer Science & Business Media.
- [4] Smith, E. L., Abbott, A. P., & Ryder, K. S. (2014). Deep eutectic solvents (DESs) and their applications. *Chemical reviews*, 114(21), 11060-11082.
- [5] Dai, Y., van Spronsen, J., Witkamp, G. J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2013). Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica chimica acta*, 766, 61-68.
- [6] Liu, Y., Friesen, J. B., McAlpine, J. B., Lankin, D. C., Chen, S. N., & Pauli, G. F. (2018). Natural deep eutectic solvents: properties, applications, and perspectives. *Journal of natural products*, 81(3), 679-690.
- [7] Dai, Y., Witkamp, G. J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2013). Natural deep eutectic solvents as a new extraction media for phenolic metabolites in *Carthamus tinctorius* L. *Analytical chemistry*, 85(13), 6272-6278.
- [8] Zhang, Q., Vigier, K. D. O., Royer, S., & Jerome, F. (2012). Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications. *Chemical Society Reviews*, 41(21), 7108-7146.
- [9] Skarpalezos, D., & Detsi, A. (2019). Deep eutectic solvents as extraction media for valuable flavonoids from natural sources. *Applied Sciences*, 9(19), 4169.
- [10] Tzani, A., Vaitis, C., Kritsi, E., Smiljkovic, M., Sokovic, M., Zoumpoulakis, P., & Detsi, A. (2020). Green synthesis of bis-(β -dicarbonyl)-methane derivatives and biological evaluation as putative anticandidal agents. *Journal of Molecular Structure*, 1216, 128276.
- [11] Vanda, H., Dai, Y., Wilson, E. G., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2018). Green solvents from ionic liquids and deep eutectic solvents to natural deep eutectic solvents. *Comptes Rendus Chimie*, 21(6), 628-638.
- [12] Pontillo, A. R. N., Koutsoukos, S., Welton, T., & Detsi, A. (2021). Investigation of the influence of natural deep eutectic solvents (NaDES) in the properties of chitosan-stabilised films. *Materials Advances*.
- [13] Gutierrez, M. C., Ferrer, M. L., Mateo, C. R., & del Monte, F. (2009). Freeze-drying of aqueous solutions of deep eutectic solvents: a suitable approach to deep eutectic suspensions of self-assembled structures. *Langmuir*, 25(10), 5509-5515.
- [14] Fan, W., Yan, W., Xu, Z., & Ni, H. (2012). Formation mechanism of monodisperse, low molecular weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 90, 21-27.

- [15] Rodriguez, M. S., & Albertengo, L. E. (2005). Interaction between chitosan and oil under stomach and duodenal digestive chemical conditions. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 69(11), 2057-2062.
- [16] Cavanagh, H. M., & Wilkinson, J. M. (2005). Lavender essential oil: a review. *Australian infection control*, 10(1), 35-37.
- [17] Hadidi, M., Pouramin, S., Adinepour, F., Haghani, S., & Jafari, S. M. (2020). Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: characterization, antioxidant and antibacterial activities. *Carbohydrate polymers*, 236, 116075.
- [18] Dima, C., & Dima, S. (2015). Essential oils in foods: extraction, stabilization, and toxicity. *Current Opinion in Food Science*, 5, 29-35.
- [19] Costa, G., Gidaro, M. C., Vullo, D., Supuran, C. T., & Alcaro, S. (2016). Active components of essential oils as anti-obesity potential drugs investigated by in silico techniques. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(26), 5295-5300.
- [20] Cavanagh, H. M. A., & Wilkinson, J. M. (2002). Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy research*, 16(4), 301-308.
- [21] de Sousa Barros, A., de Morais, S. M., Ferreira, P. A. T., Vieira, Í. G. P., Craveiro, A. A., dos Santos Fontenelle, R. O., ... & de Sousa, H. A. (2015). Chemical composition and functional properties of essential oils from *Mentha* species. *Industrial Crops and Products*, 76, 557-564.
- [22] Rezvanian, M., Ahmad, N., Amin, M. C. I. M., & Ng, S. F. (2017). Optimization, characterization, and in vitro assessment of alginate-pectin ionic cross-linked hydrogel film for wound dressing applications. *International journal of biological macromolecules*, 97, 131-140.
- [23] Hennink, W. E., & van Nostrum, C. F. (2012). Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Advanced drug delivery reviews*, 64, 223-236.
- [24] Augst, A. D., Kong, H. J., & Mooney, D. J. (2006). Alginate hydrogels as biomaterials. *Macromolecular bioscience*, 6(8), 623-633.
- [25] Drury, J. L., Dennis, R. G., & Mooney, D. J. (2004). The tensile properties of alginate hydrogels. *Biomaterials*, 25(16), 3187-3199.
- [26] Goodarzi, A., Khanmohammadi, M., Ebrahimi-Barough, S., Azami, M., Amani, A., Baradaran-Rafii, A., ... & Ai, J. (2019). Alginate-based hydrogel containing taurine-loaded chitosan nanoparticles in biomedical application. *Archives of Neuroscience*, 6(2).
- [27] Detsi, A., Kavetsou, E., Kostopoulou, I., Pitterou, I., Pontillo, A. R. N., Tzani, A., ... & Zoumpoulakis, P. (2020). Nanosystems for the encapsulation of natural products: The case of chitosan biopolymer as a matrix. *Pharmaceutics*, 12(7), 669.
- [28] Lim, J., Yeap, S. P., Che, H. X., & Low, S. C. (2013). Characterization of magnetic nanoparticle by dynamic light scattering. *Nanoscale research letters*, 8(1), 1-14.
- [29] Kotronia, M., Kavetsou, E., Loupassaki, S., Kikionis, S., Vouyiouka, S., & Detsi, A. (2017). Encapsulation of Oregano (*Origanum onites* L.) essential oil in β -cyclodextrin

- (β -CD): Synthesis and characterization of the inclusion complexes. *Bioengineering*, 4(3), 74.
- [30] Hill, L. E., Gomes, C., & Taylor, T. M. (2013). Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications. *LWT-Food Science and Technology*, 51(1), 86-93.
- [31] Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataei, S., Hasanzadeh Davarani, F., Javanmard, R., Dokhani, A., ... & Mozafari, M. R. (2018). Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. *Pharmaceutics*, 10(2), 57.
- [32] Xu, R. (2008). Progress in nanoparticles characterization: Sizing and zeta potential measurement. *Particuology*, 6(2), 112-115.
- [33] Clogston, J. D., & Patri, A. K. (2011). Zeta potential measurement. In *Characterization of nanoparticles intended for drug delivery* (pp. 63-70). Humana press.
- [34] Silva, E. D. O., Borges, L. L., Conceição, E. C. D., & Bara, M. T. F. (2017). Box–Behnken experimental design for extraction of artemisinin from *Artemisia annua* and validation of the assay method. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27, 519-524.
- [35] Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escaleira, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965-977.
- [36] Aktaş, N. (2005). Optimization of biopolymerization rate by response surface methodology (RSM). *Enzyme and microbial technology*, 37(4), 441-447.
- [37] Yang, B., Zhang, M., Weng, H., Xu, Y., & Zeng, L. (2020). Optimization of ultrasound assisted extraction (UAE) of Kinsenoside compound from *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl by response surface methodology (RSM). *Molecules*, 25(1), 193.
- [38] Rambo, D. F., Biegelmeyer, R., Toson, N. S., Dresch, R. R., Moreno, P. R., & Henriques, A. T. (2019). Box–Behnken experimental design for extraction optimization of alkaloids from *Erythrina verna* Vell. trunk barks and LC Method Validation. *Industrial Crops and Products*, 133, 250-258.
- [39] Delan, W. K., Zakaria, M., Elsaadany, B., ElMeshad, A. N., Mamdouh, W., & Fares, A. R. (2020). Formulation of simvastatin chitosan nanoparticles for controlled delivery in bone regeneration: Optimization using Box-Behnken design, stability and in vivo study. *International journal of pharmaceutics*, 577, 119038.
- [40] Ferreira, S. C., Bruns, R. E., Ferreira, H. S., Matos, G. D., David, J. M., Brandão, G. C., ... & Dos Santos, W. N. L. (2007). Box-Behnken design: an alternative for the optimization of analytical methods. *Analytica chimica acta*, 597(2), 179-186.
- [41] Agatonovic-Kustrin, S., Ristivojevic, P., Gegechkori, V., Litvinova, T. M., & W Morton, D. (2020). Essential oil quality and purity evaluation via ft-ir spectroscopy and pattern recognition techniques. *Applied Sciences*, 10(20), 7294.

- [42] Liu, W., Zhang, K., Chen, J., & Yu, J. (2018). Ascorbic acid and choline chloride: A new natural deep eutectic solvent for extracting tert-butylhydroquinone antioxidant. *Journal of Molecular Liquids*, 260, 173-179.
- [43] Carson, L., Kelly-Brown, C., Stewart, M., Oki, A., Regisford, G., Luo, Z., & Bakhmutov, V. I. (2009). Synthesis and characterization of chitosan–carbon nanotube composites. *Materials letters*, 63(6-7), 617-620.