



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ IV: ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ

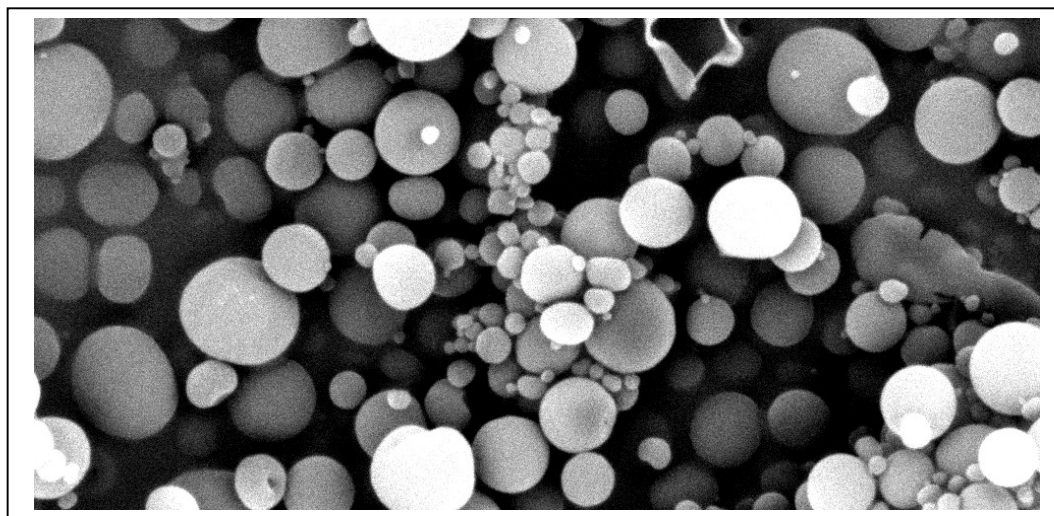
Πολυτεχνειούπολη Ζωγράφου, Αθήνα 157 80

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

***Μελέτη μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης με
στόχο την αναβάθμιση πολυμερικών συστημάτων
εγκλεισμού δραστικών ουσιών***

Λαμπρινάκου Άννα



ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ

Σταματίνα Ν. Βουγιούκα

Αναπλ. Καθηγήτρια ΕΜΠ

ΑΘΗΝΑ 2022

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Πολυμερών της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, υπό την επίβλεψη της Αναπληρώτριας Καθηγήτριας Ε.Μ.Π. Δρ. Σταματίνας Ν. Βουγιούκα, κατά το ακαδημαϊκό έτος 2021-2022. Αντικείμενο της εργασίας αποτέλεσε η παραγωγή πολυμερικών μικροκαψουλών με εγκλεισμένη δραστική ουσία και η βελτίωση των ιδιοτήτων τους μέσω του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης.

Η ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής σηματοδοτεί το τέλος της φοίτησης μου στην σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ και με την ευκαιρία αυτή θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους με στήριξαν τόσο στην διεκπεραίωση της διπλωματικής μου όσο στην και στην διάρκεια των σπουδών μου.

Πρώτα από όλα θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κ. Σταματίνα Βουγιούκα, για την συνεργασία, την καθοδήγηση και το αμείωτο ενδιαφέρον της καθώς και για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα θέμα το οποίο με εφοδίασε με πολύτιμες γνώσεις και με παρακινούσε μέχρι την ολοκλήρωσή του.

Στην συνέχεια, δεν θα μπορούσα να μην εκφράσω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην υποψήφια διδάκτορα Κωνσταντίνα Χρονάκη, με την οποία συνεργαστήκαμε σε καθημερινή βάση, τόσο κατά την εκπόνηση όσο και κατά την συγγραφή της διπλωματικής μου εργασίας και η οποία στάθηκε δίπλα μου με ενδιαφέρον και υπομονή, προσφέροντάς μου τις γνώσεις της, την στήριξη της και την ουσιαστική της βοήθεια μέχρι την τελευταία στιγμή.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να αποδώσω και στη υποψήφια διδάκτορα Αγγελική Μυταρά, της οποίας η πρόσχαρη διάθεση και η προθυμία της να μου προσφέρει την βοήθειά της όποτε αυτή ήταν απαραίτητη, διευκόλυναν σημαντικά την εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας, ενώ θα ήθελα να ευχαριστήσω και τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου Τεχνολογίας Πολυμερών, τον Δρ. Δημήτρη Κορρέ, ΕΔΙΠ, τον Δρ. Αθανάσιο Πορφύρη και τους υποψήφιους διδάκτορες Χριστίνα Γκουντέλα, Χρήστο Ζωτιάδη, Παναγιώτη Κετίκη, Χρήστο Παναγιωτόπουλο και Βασίλη Νικητάκο, για την στήριξη και την άμεση δράση τους όποτε χρειάστηκα κάποια υπόδειξη στον εργαστηριακό χώρο.

Ευχαριστίες ακόμα θα ήθελα να αποδώσω και στους συμφοιτητές μου Αναστάση Βασιλειάδη, Γεράσιμο Καπάτο, Διονυσία Κουρανού και Μπάμπη Μπότσα, οι οποίοι πραγματοποίησαν παράλληλα την διπλωματική τους εργασία στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Πολυμερών, για την άψογη συνεργασία μας και το ευχάριστο και φιλικό κλίμα που επικράτησε μεταξύ μας.

Τα πειράματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας πραγματοποιήθηκαν ως επί το πλείστον στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Πολυμερών, ωστόσο τμήμα των πειραμάτων εκπονήθηκε στα Εργαστήρια Οργανικής Χημείας, Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων και Γενικής Χημείας, Θα ήθελα επομένως να ευχαριστήσω το προσωπικό και τους υποψήφιους διδάκτορες των προαναφερθέντων εργαστηρίων για την αρμονική συνεργασία και την πολύτιμη βοήθεια τους.

Τέλος ξεχωριστές ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στις παιδικές μου φίλες, στις φίλες που δημιούργησα από την σχολή, στην αδελφή μου Ελίζα, στον φίλο μου Νικηφόρο και στους γονείς μου για την συνεχή στήριξη και συμπαράσταση τους μέχρι το τέλος των σπουδών μου.

Πρόλογος / Ευχαριστίες.....	i
Περιεχόμενα.....	iii
Κατάλογος Πινάκων	vii
Κατάλογος Σχημάτων.....	ix
Κατάλογος Εικόνων	x
Περίληψη	xiii
Abstract	xvi
Κεφάλαιο 1: Πολυ(γαλακτικό οξύ).....	1
1.1. Δομή του πολυ(γαλακτικού Οξέος).....	2
1.2. Σύνθεση του πολυ(γαλακτικού οξέος).....	5
1.2.1. Πολυμερισμός Άμεσης Συμπύκνωσης.....	5
1.2.2. Πολυμερισμός Διάνοιξης Δακτυλίου	7
1.3. Ιδιότητες του πολυ(γαλακτικού οξέος).....	8
1.3.1. Θερμικές Ιδιότητες	8
1.3.1.1 Μηχανικές ιδιότητες.....	10
1.3.2. Ιδιότητες φράγματος.....	11
1.3.3. Ηλεκτρικές ιδιότητες	12
1.3.4. Οπτικές ιδιότητες	13
1.4. Αποικοδόμηση του πολυ(γαλακτικού οξέος)	14
1.4.1. Υδρολυτική αποικοδόμηση του πολυ(γαλακτικού οξέος)	15
1.5. Εφαρμογές του πολυ(γαλακτικού οξέος).....	16
1.5.1. Συσκευασία.....	17
1.5.2. Ιατρική.....	17
Κεφάλαιο 2: Κουμαρίνες.....	21
2.1. Φαρμακευτικές ιδιότητες κουμαρινών	23

2.2.	Εφαρμογές των κουμαρινών και των παραγώγων τους.....	24
2.3.	Ουμπελλιφερόνη	24
2.4.	Κουμαρίνη-6.....	25
Κεφάλαιο 3:	Πολυμερικά Συστήματα Μικροεγκλεισμού	27
3.1.	Εισαγωγή στις τεχνικές μικροεγκλεισμού για την παρασκευή μικροκαψουλών	30
3.2.	Μέθοδος γαλακτωματοποίησης και εξάτμισης του διαλύτη.....	32
3.2.1.	Τεχνική απλού γαλακτώματος (o/w).....	32
3.2.2.	Τεχνική διπλού γαλακτώματος (w/o/w)	33
3.2.3.	Παράμετροι της διεργασίας.....	34
3.3.	Αποδέσμευση δραστικών ουσιών από πολυμερικά συστήματα μικροεγκλεισμού	38
3.3.1.	Μηχανισμοί αποδέσμευσης	38
3.3.2.	Κινητική αποδέσμευσης	39
Κεφάλαιο 4:	Μεταπολυμερισμός στερεάς κατάστασης	44
4.1.	Ορισμός πολυμερισμού στερεάς κατάστασης.....	45
4.1.1.	Άμεσος Πολυμερισμός Στερεάς Κατάστασης	46
4.1.2.	Μεταπολυμερισμός Στερεάς Κατάστασης.....	46
4.2.	Παράμετροι του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης.....	48
4.2.1.	Θερμοκρασία της διεργασίας.....	48
4.2.2.	Αρχική συγκέντρωση των ακραίων ομάδων.....	49
4.2.3.	Γεωμετρία σωματιδίων και ρυθμός ροής φέροντος αερίου.....	49
1.1.2	Κρυσταλλικότητα.....	50
4.2.4.	Καταλύτες	51
Κεφάλαιο 5:	Πειραματικό μέρος	52
5.1.	Σκοπός διπλωματικής εργασίας.....	52
5.2.	Πρώτες ύλες-Αντιδραστήρια.....	52

5.3.	Επεξεργασία και χαρακτηρισμός πρώτων υλών PLA.....	54
5.3.1.	Υδρόλυση	54
5.3.2.	Ιξωδομετρία διαλύματος.....	55
5.4.	Πειραματική διαδικασία παραγωγής μικροκαψουλών PLA.....	60
5.4.1.	Μικροκάψουλες PLA με εγκλεισμένη ουσία την ουμπελλιφερόνη....	60
5.4.2.	Μικροκάψουλες PLA με εγκλεισμένη ουσία την κουμαρίνη-6.....	62
5.5.	Διεργασία του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης.....	64
5.6.	Μελέτη της αποδέσμευσης της εγκλεισμένης ουσίας.....	66
5.7.	Μέθοδοι χαρακτηρισμού των μικροκαψουλών PLA.....	66
5.7.1.	Μορφολογία μικροκαψουλών	66
5.7.2.	Ανάλυση μεγέθους σωματιδίων με σκέδαση δέσμης laser (Master Size Micro) 68	
5.7.3.	Υπολογισμός άμεσης απόδοσης εγκλεισμού	69
5.7.4.	Θερμικές ιδιότητες μικροκαψουλών	72
Κεφάλαιο 6:	Παραγωγή μικροκαψουλών PLA-ουμπελλιφερόνης: Αποτελέσματα-Συζήτηση.....	78
6.1.	Δοκιμαστικά πειράματα εγκλεισμού ουμπελλιφερόνης.....	78
6.2.	Επίδραση του είδους του διαλύτη της οργανικής φάσης.....	80
Κεφάλαιο 7:	Παραγωγή μικροκαψουλών PLA - κουμαρίνης-6: Αποτελέσματα-Συζήτηση.....	88
7.1.	Πειράματα κουμαρίνης-6 με αναλογία EWP:PE (4:1).....	88
7.2.	Πειράματα κουμαρίνης-6 με αναλογία EWP: PE (2:1).....	94
7.2.1.	Διερεύνηση του τύπου του Γαλακτωματοποιητή.....	95
7.2.2.	Μείωση της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας	102
7.2.3.	Επίδραση PLA υψηλότερου μοριακού βάρους.....	109
7.2.4.	Μελέτη της ύπαρξης PVA στην εσωτερική υδατική φάση	115
7.2.5.	Εφαρμογή των βέλτιστων παραμέτρων	121

Κεφάλαιο 8: Μεταπολυμερισμός στερεάς κατάστασης: αποτελέσματα- συζήτηση	128
8.1. Κενές μικροκάψουλες.....	128
8.1.1. Παρασκευή κενών μικροκαψουλών	128
8.1.2. Προκρυστάλλωση κενών μικροκαψουλών.....	131
8.2. Μικροκάψουλες με εγκλεισμένη κουμαρίνη-6	136
8.2.1. Μεταπολυμερισμός στερεάς κατάστασης.....	136
8.3. Μελέτη της αποδέσμευσης της εγκλεισμένης δραστική ουσίας-Σύγκριση με μικροκάψουλες που έχουν υποβληθεί σε διεργασία μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης	140
Κεφάλαιο 9: Συμπεράσματα και μελλοντική έρευνα.....	143
9.1. Συμπεράσματα.....	143
9.2. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα.....	145
Βιβλιογραφία.....	147

Πίνακας 3.1: Τεχνικές μικροεγκλεισμού που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή μικροκαψουλών	30
Πίνακας 5.1: Ορολογία για την ιξωδομετρία διαλύματος.....	56
Πίνακας 5.2: Μαθηματικές σχέσεις για την εκτίμηση του οριακού αριθμού ιξώδους.....	58
Πίνακας 5.3: Μοριακό βάρος των ποιοτήτων PLA που χρησιμοποιήθηκαν στην για την παρασκευή των μικροκαψουλών.....	60
Πίνακας 5.4: Αναλογίες- συνθήκες της πειραματικής διαδικασίας μικροεγκλεισμού της ουμπελλιφερόνης	61
Πίνακας 5.5: Διαλύτες Οργανικής φάσης που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία μικροεγκλεισμού της ουμπελλιφερόνης	61
Πίνακας 5.6: Πειραματικές διαδικασίες εγκλεισμού κουμαρίνης-6	62
Πίνακας 5.7: Διερεύνηση των δύο πειραματικών μεθόδων εγκλεισμού της κουμαρίνης-6	63
Πίνακας 6.1: Αρχικά δοκιμαστικά πειράματα εγκλεισμού της ουμπελλιφερόνης	78
Πίνακας 6.2: Τάσεις ατμών των διαλυτών της οργανική φάσης (DCM-MeOH) των πειραμάτων ΑΛ1-ΑΛ3	80
Πίνακας 6.3: Τάσεις ατμών των διαλυτών της οργανικής φάσης των πειραμάτων ΑΛ6, ΑΛ7	81
Πίνακας 6.4: Πειράματα ΑΛ6 και ΑΛ7.....	81
Πίνακας 6.5: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ6, ΑΛ7	83
Πίνακας 6.6: Σημείο τήξης (T_m) και βαθμός κρυσταλλικότητας (x_c) των μικροκαψουλών ΑΛ8ΑΛ6 και ΑΛ7	86
Πίνακας 7.1: Πειράματα κουμαρίνης-6 με αναλογία EWP:PE (4:1)	89
Πίνακας 7.2: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ8.....	90
Πίνακας 7.3: Σημείο τήξης (T_m) και βαθμός κρυσταλλικότητας (x_c) των μικροκαψουλών ΑΛ8.....	94
Πίνακας 7.4: Πειράματα κουμαρίνης-6: διερεύνηση του τύπου του γαλακτωματοποιητή	95
Πίνακας 7.5: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ10, ΑΛ11 και ΑΛ12.....	98
Πίνακας 7.6: Σημείο τήξης (T_m) και βαθμός κρυσταλλικότητας (x_c) των μικροκαψουλών ΑΛ10, ΑΛ11 και ΑΛ12	101
Πίνακας 7.7: Μοριακό βάρος των μικροκαψουλών ΑΛ10 και ΑΛ11	102
Πίνακας 7.8: Πειράματα κουμαρίνης-6 με μείωση της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας	103
Πίνακας 7.9: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ10 και σύγκριση με του με το πείραμα ΑΛ16106	
Πίνακας 7.10: Σημείο τήξης (T_m) και βαθμός κρυσταλλικότητας (x_c) των μικροκαψουλών ΑΛ13, ΑΛ14 και ΑΛ15	108
Πίνακας 7.11: Μοριακό βάρος μικροκαψουλών ΑΛ13	109
Πίνακας 7.12: Πείραμα ΑΛ16-Αύξηση του μοριακού βάρους του πολυμερούς.....	109
Πίνακας 7.13: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ16 και σύγκριση με του με το πείραμα ΑΛ13	112
Πίνακας 7.14: Σημείο τήξης (T_m) και βαθμός κρυσταλλικότητας (x_c) των μικροκαψουλών ΑΛ16.....	114

Πίνακας 7.15: Μοριακό βάρος μικροκαψουλών ΑΛ16	114
Πίνακας 7.16: Πείραμα ΑΛ17-μελέτη της ύπαρξης σταθεροποιητή στην εσωτερική υδατική φάση	115
Πίνακας 7.17: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ17 και σύγκριση με του με το πείραμα ΑΛ13	118
Πίνακας 7.18: Σημείο τήξης και κρυσταλλικότητα των μικροκαψουλών ΑΛ17	121
Πίνακας 7.19: Πείραμα ΑΛ18-εφαρμογή των βέλτιστων παραμέτρων που παρατηρήθηκαν για την παρασκευή των μικροκαψουλών	122
Πίνακας 7.20: Σημείο τήξης και κρυσταλλικότητα μικροκαψουλών ΑΛ18	126
Πίνακας 7.21: Μοριακό βάρος μικροκαψουλών ΑΛ18	126
Πίνακας 8.1: Πειράματα ΑΛ19, ΑΛ20-κενές μικροκάψουλες πειράματος ΑΛ18	128
Πίνακας 8.2: Θερμικές ιδιότητες των κενών μικροκαψουλών ΑΛ19 και ΑΛ20.....	131
Πίνακας 8.3: Θερμικές ιδιότητες των κενών μικροκαψουλών μετά την προκρυστάλλωση	134
Πίνακας 8.4: Θερμοκρασία τήξης και κρυσταλλικότητα των μικροκαψουλών που υποβλήθηκαν στην διεργασία του SSP	138
Πίνακας 8.5: Μεταβολή του μοριακού βάρους των μικροκαψουλών μετά την διεργασία του SSP .	140
Πίνακας 8.6: Μελέτη της απελευθέρωσης της εγκλεισμένης δραστικής ουσίας από τις μικροκάψουλες ΑΛ18, πριν και μετά την εφαρμογή της διεργασίας του SSP.....	141

Σχήμα 1.1: Εξάρτηση του T_g από το μοριακό βάρος και της αναλογία L- και D-γαλακτικού οξέος	10
Σχήμα 1.2: Απεικόνιση της διαπερατότητας συναρτήσει του μήκους κύματος για φιλμ PLA (98% L-γαλακτικού οξέος), LDPE, Σελοφάν, PS και PET.	14
Σχήμα 3.1: Τριφασικό προφίλ απελευθέρωσης από πολυμερικά μικροσυστήματα εγκλεισμού.	43
Σχήμα 5.1: Α) Καμπύλη αναφοράς για τον υπολογισμό της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού των μικροκαψουλών της ουμπελλιφερόνης (αριστερά), Β) Καμπύλη αναφορά για τον υπολογισμό της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού των μικροκαψουλών της κουμαρίνης-6 (δεξιά)	72
Σχήμα 5.2: Τυπικό θερμογράφημα TGA πολυ(γαλακτικού οξέος)	74
Σχήμα 5.3: Θερμογράφημα DSC ημικρυσταλλικού πολυμερούς	76
Σχήμα 6.1: Μέγεθος μικροκαψουλών ΑΛ6, ΑΛ7 από το Mastersizer	83
Σχήμα 6.2: Συγκριτική αναπαράσταση των γραφημάτων TGA του υδρολυμένου αρχικού PLA, του φυσικού μίγματος πολυμερούς-δραστικής ουσίας και των μικροκαψουλών ΑΛ6 και ΑΛ7	84
Σχήμα 6.3: Μικροκάψουλες όπου η εγκλεισμένη ουσία εμφανίζει θερμική αποικοδόμηση νωρίτερα από το πολυμερές του κελύφους.	85
Σχήμα 7.1: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ8 από το mastersizer	91
Σχήμα 7.2: Συγκριτική αναπαράσταση των γραφημάτων TGA της δραστικής ουσίας, του υδρολυμένου αρχικού PLA, του φυσικού μίγματος και των μικροκαψουλών ΑΛ8	92
Σχήμα 7.3: TGA γράφημα μικροκαψουλών όπου η θερμική αποικοδόμηση του πολυμερούς και της ουσίας εμφανίζονται σε επικαλυπτόμενα θερμοκρασιακά εύρη [80]	93
Σχήμα 7.4: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ10, ΑΛ11 και ΑΛ12 από το mastersizer	98
Σχήμα 7.5: Συγκριτική αναπαράσταση των γραφημάτων TGA της δραστικής ουσίας, του υδρολυμένου αρχικού PLA, του φυσικού μίγματος και των μικροκαψουλών ΑΛ10, ΑΛ11 και ΑΛ12	100
Σχήμα 7.6: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ13 από το mastersizer	106
Σχήμα 7.7: Συγκριτική αναπαράσταση των γραφημάτων TGA της δραστικής ουσίας, του υδρολυμένου αρχικού PLA, του φυσικού μίγματος και των μικροκαψουλών ΑΛ10, ΑΛ13, ΑΛ14 και ΑΛ15	107
Σχήμα 7.8: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ16 από το mastersizer	112
Σχήμα 7.9: Συγκριτική αναπαράσταση των γραφημάτων TGA της δραστικής ουσίας, του υδρολυμένου αρχικού PLA, του φυσικού μίγματος και των μικροκαψουλών ΑΛ13 και ΑΛ16	113
Σχήμα 7.10: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ17 από το mastersizer	119
Σχήμα 7.11: Συγκριτική αναπαράσταση των γραφημάτων TGA της δραστικής ουσίας, του υδρολυμένου αρχικού PLA, του φυσικού μίγματος και των μικροκαψουλών ΑΛ13 και ΑΛ17	120
Σχήμα 7.12: Συγκριτική αναπαράσταση των γραφημάτων TGA της δραστικής ουσίας, του υδρολυμένου αρχικού PLA, του φυσικού μίγματος και των μικροκαψουλών ΑΛ10, ΑΛ17 και ΑΛ18	125
Σχήμα 8.1: Θερμική σταθερότητα των μικροκαψουλών ΑΛ18 που υποβλήθηκαν σε SSP	139

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1.1: Επαναλαμβανόμενη δομική μονάδα του πολυ(γαλακτικού οξέος).....	3
Εικόνα 1.2: Απεικόνιση των εναντιομερών του γαλακτικού οξέος και των πιθανών PLA παραγώγων τους	3
Εικόνα 1.3: Στερεοϊσομερείς μορφές του λακτιδίου	4
Εικόνα 1.4: Μέθοδοι πολυμερισμού του γαλακτικού οξέος. (Α) Πολυμερισμός άμεσης συμπύκνωσης και (Β) πολυμερισμός διάνοιξης δακτυλίου.	5
Εικόνα 1.5: Σύνθεση πολυ(γαλακτικού οξέος) υψηλού μοριακού βάρους με πολυμερισμό άμεσης συμπύκνωσης ακολουθούμενο από πολυμερισμό στερεάς κατάστασης.	7
Εικόνα 1.6: Σύνθεση του λακτιδίου από το πολυ(γαλακτικό οξύ).....	7
Εικόνα 1.7: Υδρολυτική διάσπαση του πολυ(γαλακτικού οξέος).....	15
Εικόνα 2.1: Δομή της απλής κουμαρίνης.....	21
Εικόνα 2.2: Χημική δομή διαδεδομένων απλών κουμαρινών.....	22
Εικόνα 2.3: Χημική δομή διαδεδομένων φουρανοκουμαρινών	22
Εικόνα 2.4: Χημική δομή διαδεδομένων πυρανοκουμαρινών.....	23
Εικόνα 2.5: Χημική δομή διαδεδομένων υποκατεστημένων κουμαρινών στον πυρανικό δακτύλιο..	23
Εικόνα 2.6: Χημική δομή ουμπελλιφερόνης.....	25
Εικόνα 2.7: Χημική δομή κουμαρίνης-6.....	26
Εικόνα 3.1: Μορφολογία συστημάτων μικροεγκλεισμού.	27
Εικόνα 3.2: Χημική δομή ευρέως χρησιμοποιούμενων πολυμερών σε σωματίδια μικροεγκλεισμού για μεταφορά και ελεγχόμενη απελευθέρωση φαρμακευτικών ουσιών	29
Εικόνα 3.3: Σχηματική αναπαράσταση Α) της συσκευής επικάλυψης σε περιστρεφόμενο κύλινδρο (αριστερά) και Β) της συσκευής ξήρανσης με εκνέφωση (δεξιά).....	31
Εικόνα 3.4: Τεχνική απλού γαλακτώματος (oil in water).....	33
Εικόνα 3.5: Τύποι μικροκαψουλών που παραλαμβάνονται με την τεχνική του διπλού γαλακτώματος (w/o/w).....	34
Εικόνα 3.6: Τεχνική του διπλού γαλακτώματος (w/o/w)	34
Εικόνα 3.7: Περιπτώσεις επιτυχημένης και μη επιτυχημένης δράσης του γαλακτωματοποιητή.	37
Εικόνα 3.8: Μηχανισμοί απελευθέρωσης: Α) Διάχυση μέσω πόρων νερού, Β) Διάχυση μέσω του πολυμερούς, Γ) Ωσμωτική άντληση, Δ) Διάβρωση.....	38
Εικόνα 3.9: Διάγραμμα που δείχνει τα όρια της θεραπευτικής δράσης της ουσίας και διάγραμμα με τα προφίλ απελευθέρωσης.....	40
Εικόνα 3.10: Τρόποι απελευθέρωσης της δραστικής ουσίας από συστήματα μικροκαψουλών τύπου δεξαμενής υπό την προϋπόθεση ότι η απελευθέρωση δεν επηρεάζεται από άλλους διαβρωτικούς ή ωσμωτικούς μηχανικούς καθώς και από το μέγεθος των σωματιδίων.	42
Εικόνα 3.11: Προφίλ απελευθέρωσης μηδενικής τάξης με και χωρίς αρχική φάση απελευθέρωσης.	43
Εικόνα 4.1: Αναπαράσταση του διφασικού μοντέλου στην περίπτωση του πολύ(γαλακτικού οξέος).....	47
Εικόνα 5.1: Α) Χημική δομή ουμπελλιφερόνης, Β) Μορφή της ουμπελλιφερόνης	53

Εικόνα 5.2: Α) Χημική δομή κουμαρίνης-6, Β) Μορφή της κουμαρίνης-6	53
Εικόνα 5.3: Υδρολυτική αποικοδόμηση του πολυ(γαλακτικού οξέος).....	54
Εικόνα 5.4: Τύποι ιξωδομέτρων τριχοειδούς ροής.....	55
Εικόνα 5.5: Α) Υπερκείμενα διαλύματα από την φυγοκέντρωση των γαλακτωμάτων της κουμαρίνης-6 (αριστερά), Β) Διπλό γαλάκτωμα κουμαρίνης-6 μετά την εξάτμιση του διαλύτη και πριν την φυγοκέντρωση (δεξιά).....	64
Εικόνα 5.6: Πειραματική διάταξη που χρησιμοποιείται για την διεργασία του πολυμερισμού στερεάς κατάστασης.....	64
Εικόνα 5.7: Σχηματική απεικόνιση της πορείας των ηλεκτρονίων κατά την πρόσπτωση τους στην επιφάνεια του εξεταζόμενου δείγματος.	67
Εικόνα 5.8: Απλοποιημένο σχήμα των βασικών τμημάτων καθώς και του τρόπου λειτουργίας ενός αναλυτή TGA	73
Εικόνα 5.9: Σχηματική αναπαράσταση διάταξης DSC	75
Εικόνα 6.1: Α) Μικροκάψουλες ΑΛ1 στο οπτικό μικροσκόπιο, Β) Μικροκάψουλες ΑΛ2 στο οπτικό μικροσκόπιο, Γ) Μικροκάψουλες ΑΛ3 στο οπτικό μικροσκόπιο	79
Εικόνα 6.2: Α) Μικροκάψουλες ΑΛ6 στο οπτικό μικροσκόπιο, Β) Μικροκάψουλες ΑΛ7 στο οπτικό μικροσκόπιο	81
Εικόνα 6.3: Α) Μικροκάψουλες ΑΛ7 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 5 μm, Β) Κρυσταλλικές δομές έξω από τις μικροκάψουλες του πειράματος ΑΛ7 στα 100 μm (δεξιά)	82
Εικόνα 7.1: πείραμα ΑΛ9-κουμαρίνη-6 χωρίς το πολυμερές, μετά την πειραματική διαδικασία παρασκευής των μικροκαψουλών στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης	89
Εικόνα 7.2: Πείραμα ΑΛ8 στο οπτικό μικροσκόπιο	90
Εικόνα 7.3: Α) Μικροκάψουλες ΑΛ10 στο οπτικό μικροσκόπιο, Β) Μικροκάψουλες ΑΛ11 στο οπτικό μικροσκόπιο, Γ) Μικροκάψουλες ΑΛ12 στο οπτικό μικροσκόπιο	96
Εικόνα 7.4: Πείραμα ΑΛ10 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM).....	97
Εικόνα 7.5: Α) Μικροκάψουλες ΑΛ10 στο οπτικό μικροσκόπιο, Β) Μικροκάψουλες ΑΛ13 στο οπτικό μικροσκόπιο, Γ) Μικροκάψουλες ΑΛ14 στο οπτικό μικροσκόπιο, Δ) Μικροκάψουλες ΑΛ15 στο οπτικό μικροσκόπιο	104
Εικόνα 7.6: Α) Πείραμα ΑΛ10 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 10 μm Β) Πείραμα ΑΛ14 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 10 μm, Γ) Πείραμα ΑΛ13 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 50 μm.....	105
Εικόνα 7.7: Α) Μικροκάψουλες ΑΛ13 στο οπτικό μικροσκόπιο, Β) Μικροκάψουλες ΑΛ16 στο οπτικό μικροσκόπιο	110
Εικόνα 7.8: Α) Πείραμα ΑΛ16 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 50 μm (SEM), Β) Πείραμα ΑΛ16 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 10 μm, Γ) Πείραμα ΑΛ13 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 50 μm.....	111
Εικόνα 7.9: Α) Μικροκάψουλες ΑΛ17 στο οπτικό μικροσκόπιο, Β) Μικροκάψουλες ΑΛ13 στο οπτικό μικροσκόπιο	116

Εικόνα 7.10: Α) Πείραμα ΑΛ17 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 50 μm (SEM), Β) Πείραμα ΑΛ17 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 10 μm, Γ) Πείραμα ΑΛ13 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 50 μm.....	117
Εικόνα 7.11: Α) Μικροκάψουλες ΑΛ17 στο οπτικό μικροσκόπιο, Β) Μικροκάψουλες ΑΛ10 στο οπτικό μικροσκόπιο, Γ) Μικροκάψουλες ΑΛ18 στο οπτικό μικροσκόπιο	123
Εικόνα 8.1: Α) Μικροκάψουλες ΑΛ19 στο οπτικό μικροσκόπιο, Β) Μικροκάψουλες ΑΛ20 στο οπτικό μικροσκόπιο, Γ) Μικροκάψουλες ΑΛ18 στο οπτικό μικροσκόπιο	129
Εικόνα 8.2: Α) Πείραμα ΑΛ19 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 5 μm (SEM), Β) Πείραμα ΑΛ19 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 10 μm, Γ) Πείραμα ΑΛ10 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 10 μm.....	130
Εικόνα 8.3 : Α) Προκρυστάλλωση ΑΛ19 στους 100 οC με ροή αζώτου 1L/min, Β) Προκρυστάλλωση ΑΛ19 στους 100 οC με ροή αζώτου 0,5 L/min	132
Εικόνα 8.4: Α) Προκρυστάλλωση ΑΛ19 στους 95 οC με ροή αζώτου 1 L/min, Β) Προκρυστάλλωση ΑΛ19 στους 95 οC με ροή αζώτου 0,5 L/min.....	133
Εικόνα 8.5: Προκρυστάλλωση ΑΛ20 στους 84 οC με ροή αζώτου 1L/min	134
Εικόνα 8.6: Εφαρμογή SSP στο ΑΛ18, 16h/130 οC, με προκρυστάλλωση στους 84 οC.....	136
Εικόνα 8.7: Εφαρμογή SSP στο ΑΛ18, 16h/130 οC, με προκρυστάλλωση στους 95 οC.....	137

Μία από τις κυριότερες εφαρμογές σήμερα των βιοδιασπώμενων πολυμερών, είναι ο εγκλεισμός δραστικών ή φαρμακευτικών ουσιών σε αντίστοιχους πολυμερικούς φορείς, με στόχο την ελεγχόμενη αποδέσμευση τους. Εξαιτίας αυτού, ερευνώνται τεχνικές με τις οποίες μπορούν να βελτιωθούν οι ιδιότητες του πολυμερικού κελύφους και να ελεγχθεί καλύτερα ο ρυθμός αποδέσμευσης της εγκλεισμένης δραστικής ουσίας. Η παρούσα διπλωματική εργασία ασχολείται αρχικά με την παρασκευή μικροκαψουλών, μέσω της γαλακτωματοποίησης εξάτμισης διαλύτη, για τον εγκλεισμό ενώσεων της οικογένειας των κουμαρινών. Στην συνέχεια, κύριο αντικείμενο της εργασίας, είναι η υποβολή των μικροκαψουλών στον μεταπολυμερισμό στερεάς κατάστασης (Solid State Polymerization), ώστε χωρίς να αλλοιωθούν τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά (συσσωμάτωση), να τροποποιηθούν οι ιδιότητές τους όπως η κρυσταλλικότητα και το μοριακό τους βάρος, οδηγώντας σε καλύτερο έλεγχο της αποδέσμευσης της εγκλεισμένης ουσίας.

Το πολυμερές που χρησιμοποιείται είναι το εμπορικό πολυ(γαλακτικό οξύ) με ονομασία Ingeo 3001D, αποτελούμενο από L-εναντιομερές σε ποσοστό D-εναντιομερούς $1,4\% \pm 0,2\%$. Κατόπιν υδρόλυσης του σε όξινο περιβάλλον παραλαμβάνονται τα μοριακά βάρη μέσου ιξώδους (M_w) 18300 ± 970 g/mol, 24600 ± 1600 g/mol και 50000 ± 472 g/mol, τα οποία και αποτελούν την πρώτη ύλη. Η παρασκευή των μικροκαψουλών πραγματοποιείται με την τεχνική του διπλού γαλακτώματος και δύο ενώσεις της οικογένειας των κουμαρινών δοκιμάζονται για εγκλεισμό, η ουμπελλιφερόνη (ή 7-υδροξικουμαρίνη) και η κουμαρίνη-6.

Ο εγκλεισμός της ουμπελλιφερόνης επιχειρείται πρώτος, και οδηγεί σε μικροκάψουλες οι οποίες παρουσιάζουν σφαιρικό σχήμα, μικρό μέγεθος σωματιδίων, μικρό δείκτη πολυδιασποράς άλλα εμφανίζουν πολύ χαμηλές τιμές απόδοσης εγκλεισμού (Encapsulation Efficiency = 14,4%). Στα πειράματα αυτά παρατηρείται η παρουσία κρυστάλλων στο εξωτερικό των μικροσωματιδίων κατά την ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης, και έτσι ο εγκλεισμός της ένωσης αυτής στις μικροκάψουλες πολυ(γαλακτικού οξέος) κρίνεται ανεπιτυχής.

Στην συνέχεια επιχειρείται ο εγκλεισμός της κουμαρίνης-6, σε μικροκάψουλες PLA με δύο διαφορετικές πειραματικές μεθόδους. Από αυτές η πρώτη χαρακτηρίζεται από αναλογία εξωτερικής υδατικής φάσης (EWP) προς το πρωταρχικό γαλάκτωμα (PE) 4:1, χρόνο ανάδευσης EWP-PE : 10 min και λόγο $M_{ουσι\acute{\alpha}\varsigma}/M_{πολυμερού\varsigma} = 10\%$ ενώ η δεύτερη από αναλογία EWP:PE=2:1, χρόνο ανάδευσης EWP-PE: 30s και λόγο $M_{ουσι\acute{\alpha}\varsigma}/M_{πολυμερού\varsigma} = 0,8\%$. Με την πρώτη παραλαμβάνονται μικροκάψουλες οι οποίες εμφανίζουν ανομοιόμορφες υδατικές διασπορές και για τον λόγο αυτό ο εγκλεισμός με την συγκεκριμένη διαδικασία, κρίνεται και πάλι ανεπιτυχής. Με την δεύτερη πειραματική μέθοδο ωστόσο,

πραγματοποιείται επιτυχής εγκλεισμός της κουμαρίνης και παράγονται μικροκάψουλες οι οποίες εμφανίζουν σφαιρικό σχήμα, μικρό μέγεθος σωματιδίων (2-3 μm), μικρό δείκτη πολυδιασποράς (1,7-2) και υψηλή τιμή απόδοσης εγκλεισμού (έως και $87,7 \pm 1,5$ %). Με την τελευταία αυτή πειραματική διαδικασία, μελετάται ακολούθως η επίδραση διάφορων πειραματικών παραμέτρων, όπως η επίδραση του είδους του σταθεροποιητή, του μοριακού βάρους και της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας, στα τελικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων μικροκαψουλών.

Οι μικροκάψουλες με την εγκλεισμένη κουμαρίνη-6 που εμφανίζουν τα καλύτερα χαρακτηριστικά, επιλέγονται για να υποβληθούν στην διεργασία του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης. Για να λυθεί το πρόβλημα της συσσωμάτωσης, παρασκευάζονται οι αντίστοιχες κενές μικροκάψουλες και διερευνάται σε αυτές ένα στάδιο προκρυστάλλωσης προκειμένου να εφαρμοστεί πριν τη διαδικασία του SSP. Από την διερεύνηση αυτή, οι προκρυσταλλώσεις στους 84 οC και στους 95 οC με ροή αζώτου 1 L/min και διάρκεια 1h, δίνουν τα καλύτερα αποτελέσματα, οδηγώντας σε αύξηση του βαθμού κρυσταλλικότητας (x_c %) σε 38,0 % και 31,3 % αντίστοιχα και σε καλή διατήρηση της μορφολογίας των μικροκαψουλών.

Στην συνέχεια οι μικροκάψουλες με την εγκλεισμένη κουμαρίνη, υποβάλλονται στην διεργασία μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης για 16 h, στους 130 οC, με ροή αζώτου 1L/min και πραγματοποιούνται δύο πειράματα με προκρυσταλλώσεις στους 84 οC και στους 95 οC. Τα δύο αυτά πειράματα οδηγούν σε σημαντική αύξηση του βαθμού κρυσταλλικότητας μετατρέποντας το υλικό από πλήρως άμορφο σε ημικρυσταλλικό ($X_c = 37,5\%$ και $30,9$ % αντίστοιχα) ενώ δεν εμφανίζεται μεταβολή στο σημείο τήξης. Όσον αφορά την θερμική σταθερότητα, το πρώτο πείραμα, οδηγεί σε μικροκάψουλες που εμφανίζουν δύο στάδια θερμικής αποικοδόμησης, υποδεικνύοντας πιθανόν την διάχυση μέρους της ουσίας στην επιφάνεια των μικροκαψουλών κατά την διεργασία του SSP, ενώ το δεύτερο πείραμα, οδηγεί σε μικροκάψουλες που δεν παρουσιάζουν μεταβολή στην θερμική σταθερότητα τους. Τέλος η εφαρμογή του SSP με βήμα προκρυστάλλωσης στους 84 οC, οδηγεί σε αύξηση του μοριακού βάρους των μικροκαψουλών κατά 34,3 %. Ωστόσο και τα δύο πειράματα του SSP, οδηγούν στον σχηματισμό συσσωματωμάτων, με το πείραμα με προκρυστάλλωση στους 84 οC να εμφανίζει την καλύτερη μορφολογία, παρουσιάζοντας μικρότερα συσσωματώματα και περισσότερες ελεύθερες σφαιρικές μικροκάψουλες.

Ακολούθως πραγματοποιείται μελέτη του συνολικού ποσοστού αποδέσμευσης της εγκλεισμένης κουμαρίνης-6 σε διάστημα δεκαπέντε ημερών από τις μικροκάψουλες PLA, πριν και μετά την υποβολή της διεργασίας του SSP. Οι μικροκάψουλες που υποβάλλονται στον μεταπολυμερισμό με προκρυστάλλωση στους 84 οC, εμφανίζουν χαμηλότερο ποσοστό αποδέσμευσης σε δεκαπέντε μέρες (44,2 %), σε σχέση με τις μικροκάψουλες που δεν υποβάλλονται σε αυτόν (63,9 %), υποδεικνύοντας ότι η αύξηση του μοριακού βάρους και της κρυσταλλικότητας των μικροκαψουλών που προκλήθηκε

από την συνολική διαδικασία του SSP, πιθανόν οδηγεί σε πιο αργή αποδέσμευση της ουσίας.

Microencapsulation of active compounds is one of the main applications of biodegradable polymeric, in order controlled their release. The release profile of the active compounds is related to the barrier properties of the polymeric shell. This means that in order to change the release profile you need to change the initial polymer which sometimes creates problems (increase in molecular weight results in extended release but high molecular weight polymers are insoluble in non-toxic solvents). Thus, post encapsulation techniques that can improve the properties of the polymeric shell and that can offer better control to the release rate of the encapsulated substance are investigated. In this diploma thesis, poly(lactic acid) (PLA) loaded microcapsules with compounds that belongs to the family of coumarins, are prepared via double emulsion-solvent evaporation technique. Then, they are subjected to solid state post-polymerization, to modify their properties (crystallinity and molecular weight), without altering their morphological characteristics (agglomeration) and resulting to better release rate.

The polymer used, is commercial poly(lactic acid) called Ingeo 3001D. It is a transparent polymeric material, with a high percentage in L-enantiomer and a percentage of 1,4 % + 0,2 % in D-enantiomer. Hydrolytic degradation is carried out in an acidic environment to reduce molecular weight and three different molecular weights are received (18300 ± 970 , 24600 ± 1600 , 50000 ± 472), which are used as the raw materials for the production of microcapsules. The microcaparticles are prepared by the double emulsion technique and two coumarin family compounds are tested for encapsulation: umbelliferone (or 7-hydroxycoumarin) and coumarin-6.

Encapsulation of umbelliferone leads to microcapsules that have good morphological characteristics (spherical shape, small particle size, small dispersion index) but show very low encapsulation efficiency. In these experiments, the presence of crystals on the outside of the microparticles, is observed during scanning electron microscopy, and thus the loading of this compound in the PLA - microcapsules is considered unsuccessful.

Coumarin-6 is encapsulated in PLA by two different experimental methods. With the first experimental method, are obtained microcapsules, with non-homogenous dispersions and for this reason the encapsulation is not determined as successful. With the second experimental method, however, coumarin is successfully encapsulated and microcapsules of small particle size (2-3 μm), low polydispersion index (1,7-2) and high value of encapsulation efficiency (up to $87,7 \pm 1,5\%$) are received. Moreover, the effect of various parameters, such as the effect of the type of stabilizer, the molecular weight and the concentration of the active substance, on the final characteristics of the produced microcapsules, are also investigated.

Coumarin-6 loaded microcapsules with the optimum characteristics, are selected to undergo the solid state post-polymerization process. In order to minimize the phenomenon of agglomeration, blank microcapsules are prepared with the same method as the loaded and a pre-crystallization step is investigated. The selected precrystallization procedures are at 84 °C and 95 °C, with a nitrogen flow of 1L / min and a duration of 1h, as these two procedures give the best results and lead to an increase of crystallinity (38,0% and 31,3 %) while maintaining the spherical morphology of the microcapsules.

Finally, coumarin-6 loaded microcapsules are subjected to the solid state polymerization process at 130 °C, for 16 h, with a nitrogen flow of 1L / min and two experiments are performed with precrystallization steps at 84 °C and 95 °C. These two experiments lead to a significant increase of crystallinity, from 0% to 37,5% and 30,9% respectively, while no change in melting point of the microcapsules is observed. In terms of thermal stability, the first experiment leads to microcapsules showing two stages of thermal degradation, possibly indicating the diffusion of part of the substance on the surface of the polymeric shell during the SSP process, while the second experiment leads to microcapsules that do not show changes in their thermal stability. Last but not least, the application of SSP with a precrystallization step at 84 °C, leads to an increase in the molecular weight of the microcapsules by 34.3%. However, during the examination of the morphology, of the microcaparticles submitted to the SSP, it is observed that the material appears to be partially agglomerated. The experiment with pre-crystallization at 84 °C shows the best morphology, showing smaller agglomerates and more spherical microcapsules.

The total released drug from the PLA microcapsules is then studied over fifteen days, before and after the SSP process. Microcapsules subjected to the solid state polymerization with precrystallization at 84 °C, shows a lower release rate in fifteen days (44.2%) than those that are not subjected to the process (63.9%), indicating that the increase in molecular weight and the crystallinity of the microcapsules caused by the complete SSP procedure, possibly leading to a slower release of the encapsulated substance.

Το πολυ(γαλακτικό οξύ) /PLA είναι ένας αλειφατικός πολυεστέρας, ανήκει στην οικογένεια των θερμοπλαστικών και κατέχει ιδιαίτερη σημασία στην κατηγορία των βιοπολυμερών. Ως βιοπολυμερές ορίζεται κάθε ουσία που σχηματίζεται από έναν μόνο τύπο βιομακρομορίων και συντίθεται μόνο από ζωντανούς οργανισμούς. Τα βιοπολυμερή μπορούν να διακριθούν σε τέσσερις κατηγορίες: α) αυτά που εξάγονται απευθείας από φυσικές πρώτες ύλες (από την βιομάζα) όπως οι πολυσακχαρίτες άμυλο, κυτταρίνη και οι πρωτεΐνες ζελατίνη, καζεΐνη, β) αυτά που παράγονται με χημική σύνθεση από βιοπαραγόμενα μονομερή όπως είναι το πολυ(γαλακτικό) οξύ (PLA) γ) αυτά που παράγονται από μικροοργανισμούς ή γενετικά τροποποιημένα βακτήρια όπως είναι το πολυδροξυβουτηρικό (PHB) και δ) αυτά που προέρχονται από αργό πετρέλαιο όπως αλειφατικοί και αρωματικοί πολυεστέρες [1,2,3].

Το μονομερές του PLA είναι το γαλακτικό οξύ το οποίο μπορεί να ληφθεί από ανανεώσιμες πηγές όπως το καλαμπόκι και το ζαχαροκάλαμο και αποτελεί ένα βιοαποικοδομήσιμο πολυμερές, δηλαδή ένα πολυμερές που είναι φιλικό προς το περιβάλλον καθώς όταν απορριφτεί, υφίσταται σημαντική αλλαγή της χημικής δομής του υπό συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες, με αποτέλεσμα την απώλεια των ιδιοτήτων του. Ως προϊόντα αποικοδόμησής το PLA, δίνει H₂O και CO₂ που δεν είναι τοξικά και καρκινογόνα για τον ανθρώπινο οργανισμό [1,4,5].

Εξαιτίας των παραπάνω γνωρισμάτων του, καθώς και ενός συνόλου ιδιαίτερων χαρακτηριστικών που παρουσιάζει όπως είναι η καλή βιοσυμβατότητα, οι καλές μηχανικές ιδιότητες και η ευκολία επεξεργασίας του, το PLA γρήγορα αναδείχθηκε ως ένα σημαντικό πολυμερές για βιοϊατρικές εφαρμογές αφού αποτελεί ένα μη τοξικό, φιλικό προς το περιβάλλον υλικό, με χαρακτηριστικά που επιτρέπουν τη χρήση του στο ανθρώπινο σώμα. Ήδη από τη δεκαετία του 1970, τα προϊόντα του λάβανε έγκριση από τον Αμερικανικό Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) για άμεση επαφή με βιολογικά υγρά. Ωστόσο η χρήση του αρχικά περιορίστηκε κυρίως στις ιατρικές εφαρμογές λόγω του υψηλού του κόστους και της χαμηλής διαθεσιμότητάς του. Τυπικές εφαρμογές του στο πεδίο της βιοϊατρικής αποτέλεσαν τα ράμματα, τα υλικά στερέωσης οστών και τα μικροσφαιρίδια μεταφοράς φαρμάκων [4,6,7].

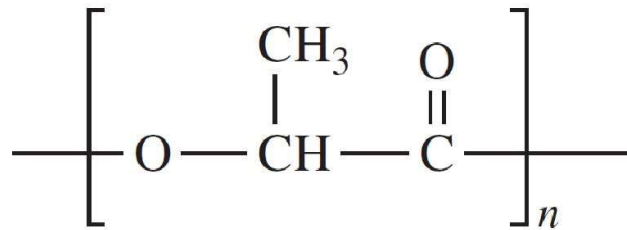
Στην σημερινή εποχή καθίσταται δυνατή η παραγωγή PLA υψηλού μοριακού βάρους με χύτευση, με έγχυση, εκβολή μεμβράνης, θερμοδιαμόρφωση κ.α., ενώ τα προϊόντα του βρίσκουν εφαρμογή και σε πολλούς άλλους τομείς όπως στην παραγωγή ινών, στα κλωστοϋφαντουργικά προϊόντα, στην βιομηχανία των πλαστικών και της συσκευασίας, όπως επίσης και στις συσκευασίες τροφίμων για προϊόντα βραχείας ζωής [6].

Πέραν των πλεονεκτημάτων που προαναφέρθηκαν το PLA διαθέτει οπτικές, μηχανικές και θερμικές ιδιότητες καθώς και ιδιότητες φράγματος συγκρίσιμες με εκείνες συνηθισμένων εμπορικά διαθέσιμων πολυμερών όπως είναι το πολυπροπυλένιο - (PP), το πολυ(τερεφθαλικό αιθυλένιο) - (PET) και το πολυστυρένιο - (PS). Ακόμα το πολυ(γαλακτικό) οξύ παρουσιάζει μεγαλύτερη ευχέρεια θερμικής επεξεργασίας σε σύγκριση με άλλα βιοπολυμερή, όπως η πολυ(αιθυλενογλυκόλη) και η πολυ(εκαπρολακτόνη) ενώ τέλος φαίνεται να εμφανίζει πλεονεκτήματα και όσον αφορά την εξοικονόμηση ενέργειας. Συγκεκριμένα σήμερα η παραγωγή του πολυ(γαλακτικού) οξέος απαιτεί 25-55% λιγότερη ενέργεια σε σύγκριση με τα πολυμερή που προέρχονται από το πετρέλαιο, ενώ εκτιμάται περαιτέρω μείωση του ποσοστού αυτού στο 10% κατά τα επόμενα έτη [1,6].

Εύκολα λοιπόν φαίνεται ότι το PLA αποτελεί ένα ελκυστικό βιοπολυμερές με πολυάριθμα πλεονεκτήματα στην χρήση του. Παρ' όλες όμως τις εξαιρετικές ιδιότητες του φαίνεται να παρουσιάζει και ορισμένους περιορισμούς. Ένα από τα σημαντικότερα μειονεκτήματα του είναι η χαμηλή του σκληρότητα. Πρόκειται για ένα ψαθυρό υλικό με λιγότερο από 10% επιμήκυνση σε θραύση. Αυτό αποτελεί εμπόδιο στις εφαρμογές όπου απαιτείται πλαστική παραμόρφωση σε ψηλότερες τάσεις όπως είναι οι βίδες και τα υλικά οστεοσυνθέσεως. Ένα άλλο εξίσου σημαντικό μειονέκτημα αποτελεί και ο χαμηλός ρυθμός αποικοδόμησής του. Το πολύ(γαλακτικό) οξύ αποικοδομείται φυσικά μέσω υδρόλυσης των εστερικών ομάδων του μοριακού του σκελετού και ο ρυθμός αποικοδόμησής του εξαρτάται από ένα σύνολο παραγόντων όπως είναι η κρυσταλλικότητα και το μοριακό του βάρος, ενώ χαμηλοί ρυθμοί αποικοδόμησης ενδέχεται να οδηγήσουν σε μεγάλο χρόνο ζωής του πολυμερούς μέσα στον ανθρώπινο οργανισμό. Η υδροφοβικότητα του PLA επίσης αποτελεί περιοριστικό παράγοντα στις εφαρμογές του. Η υδροφοβικότητά του έχει σαν αποτέλεσμα τη χαμηλή συγγένεια με τα κύτταρα και την πιθανότητα πρόκλησης φλεγμονώδους αντίδρασης στο ζωντανό οργανισμό σε περίπτωση άμεσης επαφής του υλικού με τα βιολογικά υγρά. Κλείνοντας στους προηγούμενους περιορισμούς έρχεται να προστεθεί και το ότι το PLA είναι χημικά αδρανές χωρίς δραστικές ομάδες πλευρικών αλύσεων, γεγονός που καθιστά αναγκαία την επιφανειακή του τροποποίηση [1].

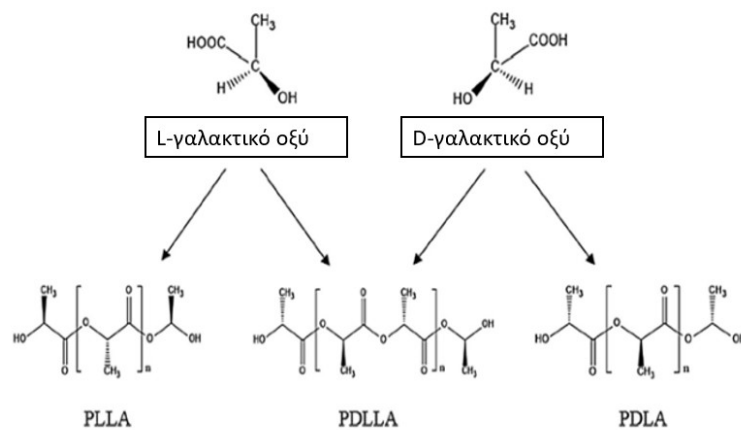
1.1. Δομή του πολυ(γαλακτικού Οξέος)

Το πολυ(γαλακτικό οξύ) όπως προαναφέρθηκε ανήκει στους αλειφατικούς πολυεστέρες και σχηματίζεται έχοντας σαν μονομερές το γαλακτικό οξύ. Στην εικόνα (1.1) παρουσιάζεται η επαναλαμβανόμενη δομική ομάδα του πολυ(γαλακτικού) οξέος:

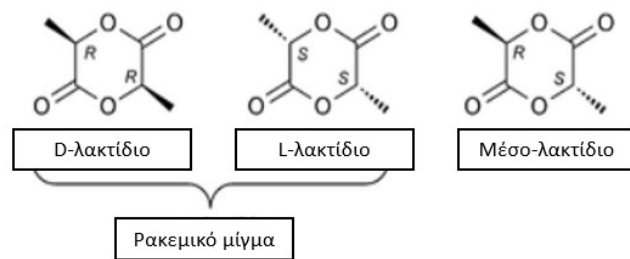


Εικόνα 1.1: Επαναλαμβανόμενη δομική μονάδα του πολυ(γαλακτικού οξέος)

Το γαλακτικό οξύ ή αλλιώς 2-υδροξυπροπανικό οξύ ($\text{CH}_3\text{-CH}(\text{OH})\text{COOH}$) είναι ένα υδατοδιαλυτό μονομερές που εμφανίζεται σε δύο οπτικά ισομερείς αντίποδες (εναντιομερή) οι οποίοι χαρακτηρίζονται με τα προθέματα L- ή (L-+)-LA και D- ή (D-)-LA). Το πολυ(γαλακτικό) οξύ παράγεται επίσης από το λακτίδιο που είναι ο κυκλικός διεστέρας του γαλακτικού οξέος.



Εικόνα 1.2: Απεικόνιση των εναντιομερών του γαλακτικού οξέος και των πιθανών PLA παραγώγων τους



Εικόνα 1.3: Στερεοϊσομερείς μορφές του λακτιδίου

Όσον αφορά το γαλακτικό οξύ, αυτό μπορεί να παραχθεί είτε μέσω χημικής σύνθεσης, είτε μέσω μικροβιακής ζύμωσης. Με την χημική σύνθεση παράγεται ρακεμικό μίγμα. Από την άλλη πλευρά η παραγωγή γαλακτικού οξέος μέσω μικροβιακής ζύμωσης, είναι η πιο συνηθισμένη μέθοδος που ακολουθείται σήμερα, καθώς η μέθοδος αυτή οδηγεί σε υψηλές αποδόσεις και ανάλογα με τον τύπο των επιλεγόμενων βακτηρίων καθίσταται δυνατή η παραλαβή οπτικά καθαρού (L-(+)-LA) ή οπτικά καθαρού (D-(-)-LA) ή και ρακεμικού μίγματος. Τα καθαρά ισομερή παρουσιάζονται πιο πολύτιμα για συγκεκριμένες βιομηχανικές εφαρμογές σε σχέση με τις ρακεμικές μορφές.

Παρόλο που και τα δύο εναντιομερή του γαλακτικού οξέος χρησιμοποιούνται σε βιομηχανικές δραστηριότητες, το (-L-(+)-LA) αποτελεί το ισομερές που ενδιαφέρει για χρήση σε βιοϊατρικές εφαρμογές, καθώς εμπλέκεται στον κυτταρικό μεταβολισμό του ανθρώπινου σώματος και μειώνει το ρίσκο για ανεπιθύμητες αντιδράσεις. Σε *in vivo* περιβάλλον το (-L-(+)-LA), είτε ενσωματώνεται στον κύκλο του K_{reb}'s, είτε μετατρέπεται σε γλυκογόνο στο συκώτι. Τελικώς εξαλείφεται σαν νερό και διοξείδιο του άνθρακα από τους πνεύμονες. [8,9].

Τα ομοπολυμερή του γαλακτικού οξέος έχουν την μορφή λευκής πούδρας σε θερμοκρασία δωματίου και χαρακτηρίζονται από θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (T_g) κοντά στους 55 οC και σημείο τήξης (T_m) κοντά στους 175 οC. Το PLA υψηλού μοριακού βάρους είναι ένα άχρωμο, γυαλιστερό, άκαμπτο θερμοπλαστικό υλικό με ιδιότητες παρόμοιες με το πολυστυρένιο. Τα δύο ισομερή του γαλακτικού οξέος μπορούν να παράγουν τέσσερα διακριτά υλικά: το Poly(D-lactic acid) (PDLA) ένα ημικρυσταλλικό υλικό με τακτική δομή αλυσίδας, το πολυ-(L-γαλακτικό οξύ) (PLLA), το οποίο είναι επίσης ημικρυσταλλικό υλικό με τακτική δομή αλυσίδας, το πολυ-(D, L-γαλακτικό οξύ) (PDLLA), που είναι ένα άμορφο υλικό και το μεσο-PLA, που λαμβάνεται από τον πολυμερισμό του μεσο-λακτιδίου. Τα PDLA, PLLA και PDLLA είναι διαλυτά σε κοινούς διαλύτες όπως είναι το βενζόλιο και το χλωροφόρμιο, και αποικοδομούνται με απλή υδρόλυση του εστερικού δεσμού [1].

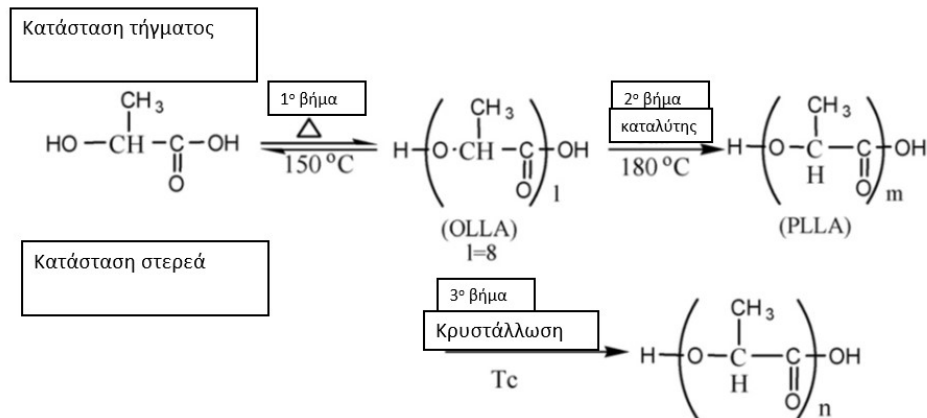
είναι δυνατόν να δημιουργηθούν παράπλευρες αντιδράσεις σε θερμοκρασία υψηλότερη των 120°C. Το τρίτο στάδιο είναι η πολυσυμπύκνωση τήγματος στην οποία η απομάκρυνση του νερού από το αντιδρών μίγμα υψηλού ιξώδους καθίσταται κρίσιμη. Στο στάδιο αυτό, είναι απαραίτητο να διασφαλιστεί η ικανοποιητική απομάκρυνση του νερού, προκειμένου να επιτευχθεί υψηλότερου μοριακού βάρους PLA. Το νερό που σχηματίζεται στην αντίδραση μπορεί να ενισχύσει τις αντιδράσεις μετεστερεοποίησης, υδρολύοντας το σχηματιζόμενο πολυμερές. Καθώς το μοριακό βάρος του πολυ(γαλακτικού οξέος) συνεχώς αυξάνεται το μίγμα καθίσταται ιδιαίτερα ιξώδες και για αυτό απαιτείται να χρησιμοποιηθεί μία μέθοδος ανάμιξης που μπορεί να διαχειριστεί υψηλά τανυστικά φορτία.

Με την μέθοδο του πολυμερισμού άμεσης συμπύκνωσης, όπως προαναφέρθηκε παράγονται κατά κύριο λόγο πολυμερή χαμηλού μοριακού βάρους που δεν παρουσιάζουν ικανοποιητικές μηχανικές ιδιότητες. Υψηλού μοριακού βάρους PLA σήμερα είναι δυνατόν να παραχθεί με την εναλλακτική μέθοδο της αζεοτροπικής αφυδατικής συμπύκνωσης [10,12].

Στην αζεοτροπική σύνθεση το πρόβλημα της απομάκρυνσης του ύδατος αντιμετωπίζεται, μέσω της ισορροπίας που αναπτύσσεται μεταξύ του μονομερούς και του πολυμερούς εντός κατάλληλου οργανικού διαλύτη (συνήθως δι-φαινυλεθέρας). Με αυτόν τον τρόπο το γαλακτικό οξύ συμπυκνώνεται απευθείας προς PLA υψηλού μοριακού βάρους. Για την μέθοδο αυτή χρησιμοποιείται ένας υψηλής δραστηριότητας καταλύτης και ένας οργανικός διαλύτης με χαμηλό σημείο ζέσεως. Το νερό που σχηματίζεται κατά την διάρκεια της σύνθεσης του PLA απομακρύνεται αζεοτροπικά ενώ ο διαλύτης αφού διέλθει από μοριακά κόσκινα ανακυκλώνεται στην αντίδραση. Η αντίδραση διεξάγεται σε θερμοκρασία σημαντικά χαμηλότερη του σημείου τήξεως του πολυμερούς έτσι ώστε να αποτρέπεται ο αποπολυμερισμός και η ρακεμοποίηση κατά τον πολυμερισμό.

Ωστόσο πάρα τα πλεονεκτήματα που προσφέρει η μέθοδος της αζεοτροπικής αφυδατικής συμπύκνωσης, η χρήση διαλυτών όπως ο δι-φαινυλεθέρας απαιτεί πολύπλοκες τεχνικές έλεγχου της συνολικής διεργασίας οδηγώντας σε ένα ακριβό PLA, ενώ επίσης καθίσταται δύσκολη και η πλήρη απομάκρυνση του διαλύτη από το τελικό προϊόν [10,11].

Μια άλλη τεχνική που χρησιμοποιείται για την παραγωγή PLA υψηλού μοριακού βάρους είναι ο πολυμερισμός στερεάς κατάστασης. Η τεχνική αυτή βρίσκει εφαρμογή μετά τον πολυμερισμό άμεσης συμπύκνωσης. Τα βασικά πλεονεκτήματα που προσφέρει η τεχνική αυτή είναι τα εξής: επιτρέπει τον έλεγχο της υποβάθμισης του πολυμερούς που οφείλεται σε θερμικά, οξειδωτικά και υδρολυτικά φαινόμενα εξαιτίας της χαμηλής θερμοκρασίας στην οποία πραγματοποιείται η διεργασία, μειώνει τον αποχρωματισμό του προϊόντος, αναβαθμίζει την ποιότητά του και δεν επιφέρει καμία περιβαλλοντική επιβάρυνση σαν διεργασία καθώς δεν χρησιμοποιούνται διαλύτες [10,12].

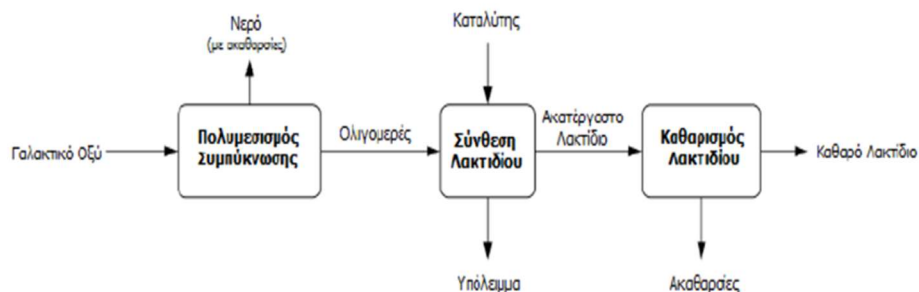


Εικόνα 1.5: Σύνθεση πολυ(γαλακτικού οξέος) υψηλού μοριακού βάρους με πολυμερισμό άμεσης συμπύκνωσης ακολουθούμενο από πολυμερισμό στερεάς κατάστασης.

1.2.2. Πολυμερισμός Διάνοιξης Δακτυλίου

1.2.2.1. Παραγωγή Λακτιδίου

Η σύνθεση του λακτιδίου από το γαλακτικό οξύ πραγματοποιείται σε δύο στάδια: το πρώτο περιλαμβάνει την δημιουργία oligομερών μέσω πολυμερισμού συμπύκνωσης. Το δεύτερο στάδιο περιλαμβάνει την διάσπαση των oligομερών σε υψηλή θερμοκρασία και χαμηλή πίεση, προς σχηματισμών κυκλικών διμερών, των λακτιδίων, με χρήση καταλύτη. Οι εναντιομερείς μορφές του λακτιδίου ενδέχεται να οδηγήσουν σε σχηματισμό ημικρυσταλλικών πολυμερών PLLA και PDLA και σε σχηματισμό άμορφου PDLLA, ενώ οι δε μικροποσότητες νερού και γαλακτικού οξέος που υπάρχουν σαν παραπροϊόντα ενδέχεται να οδηγήσουν σε σχηματισμό πολυμερών χαμηλού μοριακού βάρους. Για αυτό καθίσταται αναγκαίος ο πολύ καλός καθαρισμός του λακτιδίου πριν τον πολυμερισμό του προς PLA [10,13].



Εικόνα 1.6: Σύνθεση του λακτιδίου από το πολυ(γαλακτικό οξύ)

1.2.2.2. Τεχνική του Πολυμερισμού Διάνοιξης Δακτυλίου

Ο πολυμερισμός διάνοιξης δακτυλίου του λακτιδίου είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την παραγωγή PLA υψηλού μοριακού βάρους, καθώς η χημεία αυτού του πολυμερισμού είναι πιο ελεγχόμενη και έτσι μπορούν να παραχθούν πολυμερή με διαφορετικές ιδιότητες κάθε φορά, διευρύνοντας κατά αυτόν τον τρόπο το πεδίο εφαρμογών τους. Ωστόσο αποτελεί μια τεχνική με υψηλό κόστος κυρίως λόγω των απαραίτητων διεργασιών για τον καθαρισμό του λακτιδίου.

Με την τεχνική του πολυμερισμού διάνοιξης δακτυλίου, προβλήματα που σχετίζονται με τον πολυμερισμό συμπίκνωσης, όπως υψηλές θερμοκρασίες, απομάκρυνση των παραπροϊόντων χαμηλού μοριακού βάρους (π.χ. νερό) και ανάγκη για ακριβή στοιχειομετρία της αντίδρασης, μπορούν να αποφευχθούν.

Ένα άλλο σημαντικό στοιχείο είναι ότι ο πολυμερισμός διάνοιξης δακτυλίου μπορεί να πραγματοποιηθεί με διαφορετικούς μηχανισμούς αντίδρασης ανάλογα με το είδος του εκκινητή που χρησιμοποιείται. Οι σημαντικότεροι μηχανισμοί που έχουν μελετηθεί είναι: α) ο Ανιονικός Πολυμερισμός, β) ο Κατιονικός Πολυμερισμός και ο Πολυμερισμός Εισαγωγής-Συντονισμού. Ο Πολυμερισμός Εισαγωγής-Συντονισμού είναι ο πλέον χρησιμοποιούμενος λόγω του ότι οι αντιδράσεις τερματισμού και μετεστεροποίησης γίνονται σε μικρότερο βαθμό σε αυτόν και η όλη διαδικασία οδηγεί σε πολυμερή με πολύ υψηλό μοριακό βάρος [14,12].

1.3. Ιδιότητες του πολυ(γαλακτικού οξέος)

1.3.1. Θερμικές Ιδιότητες

Το πολυ(γαλακτικό οξύ) που χρησιμοποιείται σήμερα σε εμπορικές εφαρμογές συναντάται σε δύο μορφές: το πολυ(L-γαλακτικό οξύ) ή PLLA που χαρακτηρίζεται από υψηλό περιεχόμενο L-γαλακτικού οξέος (πάνω από 93%) και το πολυ(D-L-γαλακτικό οξύ) ή PDLA το οποίο συντίθεται τόσο από L-γαλακτικό οξύ όσο και από D-γαλακτικό οξύ σε μεγαλύτερο ποσοστό. Το PLLA είναι ένα ημικρυσταλλικό πολυμερές που μπορεί να εμφανίσει κρυσταλλικότητα έως και 40% ενώ το PDLA θεωρείται άμορφο. Η μείωση της οπτικής καθαρότητας του PLA, δηλαδή η μείωση του ποσοστού του L-γαλακτικού οξέος π.χ. από 100% σε 95%, οδηγεί σε μικρότερες τιμές θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης (T_g) και θερμοκρασίας τήξης (T_m) του πολυμερούς, καθώς και σε χαμηλότερη κρυσταλλικότητα.

Το ημικρυσταλλικό πολυ(γαλακτικό οξύ) έχει θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (T_g) που κυμαίνεται μεταξύ 50-65 °C, ενώ η θερμοκρασία τήξης του (T_m) είναι σχετικά χαμηλή και παίρνει τιμές μεταξύ 130-175 °C. Οι θερμοκρασίες αυτές (T_m και T_g) είναι χαμηλότερες από τις αντίστοιχες του πολυστυρενίου (PS) και του πολυ(τερεφθαλικού-αιθυλενίου) (PET), γεγονός που υποδεικνύει ότι η θερμική μορφοποίηση του

πολυ(γαλακτικού οξέος) είναι ευκολότερη συγκριτικά με εκείνη των άλλων δύο θερμοπλαστικών πολυμερών.

Σε θερμοκρασία μεγαλύτερη του T_g , το PLA είναι ένα εύπλαστο υλικό καθώς οι αλυσίδες του πολυμερούς εμφανίζουν αυξημένη κινητικότητα ενώ σε θερμοκρασία χαμηλότερη του T_g μεταταρέπεται σε ένα σκληρό υλικό με συμπεριφορά υάλου, το οποίο ωστόσο παρουσιάζει ακόμα ένα μικρό περιθώριο επεξεργασίας έως ότου ψυχθεί μέχρι και την δεύτερη θερμοκρασία μετάπτωσης του (στους -45 οC), όπου και αποκτά ψαθυρή μορφή. Η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης του PLA εξαρτάται τόσο από το μοριακό βάρος όσο και από την οπτική καθαρότητα του πολυμερούς. Στο σχήμα (1.1) φαίνεται η αύξηση του σημείου T_g διαφορετικών τύπων PLA με την αύξηση του μοριακού βάρους έως μία κρίσιμη τιμή. Η σχέση μεταξύ της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης (T_g) και του μοριακού βάρους περιγράφεται γενικά από την εξίσωση Fox-Flory:

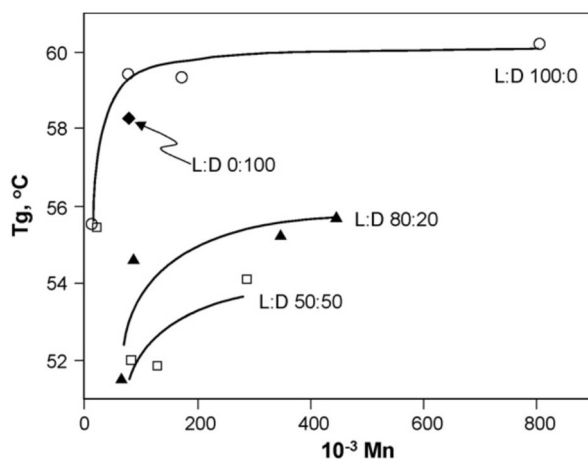
$$T_g = \frac{T_g^\infty - K}{M\bar{n}}$$

Εξίσωση 1: Fox-Flory

Όπου:

T_g^∞ : η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης για άπειρο μοριακό βάρος η οποία έχει υπολογιστεί πειραματικά στους 58 οC για το PLLA και στους 57 οC για το PDLLA.

K : η σταθερά που αντιπροσωπεύει την περίσσεια ελεύθερου όγκου των ακραίων ομάδων των αλυσίδων του πολυμερούς η οποία έχει υπολογιστεί στην τιμή $5,5 \cdot 10^{-4}$ για το PLLA και στην τιμή $7,3 \cdot 10^{-4}$ για το PDLLA.



Σχήμα 1.1: Εξάρτηση του T_g από το μοριακό βάρος και της αναλογία L- και D-γαλακτικού οξέος

Στο σχήμα (1.1) φαίνεται ακόμα ότι όσο αυξάνεται η περιεκτικότητα του PLA σε L-γαλακτικό οξύ τόσο μεγαλώνει και το σημείο T_g του πολυμερούς. Στον πίνακα (1.1) παρουσιάζονται οι θερμοκρασίες T_g και T_m διαφορετικών τύπων PLA ως προς την αναλογία L- και D- γαλακτικού οξέος.

Πίνακας 1.1: Σημεία T_g και T_m διαφορετικών τύπων PLA ως προς την αναλογία L-και D-γαλακτικού οξέος.

Τύπος PLA	Θερμοκρασία ναλώδους μετάπτωσης (T_g)	Θερμοκρασία τήξης (T_m)
100/0 (L/D,L)-PLA	63	178
95/5 (L/D,L)-PLA	59	164
90/10 (L/D,L)-PLA	56	150
85/15 (L/D,L)-PLA	56	140
80/20 (L/D,L)-PLA	56	125

Το σημείο τήξης του πολυ(γαλακτικού οξέος) εξαρτάται επίσης από την οπτική καθαρότητα του πολυμερούς, δηλαδή από την αναλογία L- και D- γαλακτικού οξέος. Για PLA με 100% L-γαλακτικό οξύ εμφανίζεται η υψηλότερη τιμή T_m στους 180 οC με αντίστοιχη ενθαλπία 40-50 J/g [15], [16].

1.1.1 Μηχανικές ιδιότητες

Οι μηχανικές ιδιότητες του πολυ(γαλακτικού οξέος) παρουσιάζουν μεγάλο εύρος και κατά αυτό το τρόπο μπορούμε να συναντήσουμε από μαλακά και ελαστικά πολυμερή μέχρι σκληρά και υψηλής αντοχής υλικά. Όπως έχει προαναφερθεί το πολυ(L-γαλακτικό οξύ) (PLLA) αποτελεί ένα ημικρυσταλλικό πολυμερές και για αυτό το λόγο η

χρήση του προτιμάται όταν απαιτούνται υψηλές μηχανικές ιδιότητες σε σύγκριση με το πολύ(D-L-γαλακτικό οξύ) (PDLA) που είναι ένα άμορφο υλικό. Εξαιτίας της κρυσταλλικότητας του, το PLLA εμφανίζει καλύτερες μηχανικές ιδιότητες σε σύγκριση με το PDLA ίδιου μοριακού βάρους. Το ημικρυσταλλικό πολυ(γαλακτικό οξύ) εμφανίζει κατά προσέγγιση μέτρο ελαστικότητας 3 GPa, αντοχή σε εφελκυσμό 50-70 MPa, μέτρο κάμψης 5 GPa, αντοχή σε κάμψη 100 MPa και επιμήκυνση κατά τη θραύση περίπου 4%.

Οι μηχανικές ιδιότητες του πολυ(γαλακτικού οξέος) εξαρτώνται άμεσα από την κρυσταλλικότητα και το μοριακό βάρος. Συγκεκριμένα με την αύξηση του μοριακού βάρους οι μηχανικές ιδιότητες αυξάνονται, για παράδειγμα έχει βρεθεί ότι το μέτρο ελαστικότητας διπλασιάζεται όταν αυξάνουμε το μοριακό βάρος από τα 50 στα 100kD και η αντοχή σε εφελκυσμό παίρνει τιμές 15, 5,80 και 150 MPa για μοριακά βάρη 50, 150 και 200kD αντίστοιχα. Αξίζει να σημειωθεί ακόμα ότι πολυμερή που έχουν παρόμοιο μοριακό βάρος αλλά έχουν παρασκευαστεί με διαφορετικές τεχνικές πολυμερισμού (όπως με πολυμερισμό άμεσης συμπύκνωσης ή με πολυμερισμό διάνοιξης δακτυλίου) εμφανίζουν παρόμοιες μηχανικές ιδιότητες. Στον πίνακα (1.2) παρουσιάζονται οι μηχανικές ιδιότητες διαφορετικών τύπων PLA [12][13],[17].

Πίνακας 1.2: Φυσικές και Μηχανικές ιδιότητες διαφορετικών τύπων PLA

Μηχανική ιδιότητα	Τύπος Πολυμερούς			
	Μονάδες	PLA*	PLLA**	PDLLA***
ρ	g/cm ³	1,21-1,25	1,24-1,30	1,25-1,27
σ	MPa	21-60	15,5-150	27,6-50
E	GPa	0,35-3,5	2,7-4,14	1-3,45
ϵ	%	2,5-6	3-10	2-10
T_g	°C	45-60	55-65	50-60
T_m	°C	150-162	170-180	άμορφο

*PLA(96:4 L:D)

**PLLA(100:0 L:D)

***PDLLA (50:50 L:D)

1.3.2. Ιδιότητες φράγματος

Το PLA έχει υδρόφοβη συμπεριφορά και παρουσιάζει στεγανότητα στο νερό και τις λιπαρές ουσίες. Ο συντελεστής διαπερατότητας του στους υδρατμούς, δεν

μεταβάλλεται σημαντικά με την σχετική υγρασία. Ακόμα η μείωση που εμφανίζει ο συντελεστής διαπερατότητας νερού του PLA με την αύξηση της θερμοκρασίας, καθιστά το πολυ(γαλακτικό οξύ) ένα ενδιαφέρον υλικό για πιθανή χρήση σε πολυστρωματικές δομές, προκειμένου να αντισταθμίσει σε ένα βαθμό, την απώλεια των ιδιοτήτων φράγματος ως προς το νερό που εμφανίζεται με την αύξηση της θερμοκρασίας στα περισσότερα πολυμερή.

Η διαπερατότητα του οξυγόνου στο PLA, είναι υψηλότερη από εκείνη στο πολύ(τερεφθαλικό αιθυλένιο) (PET) άλλα χαμηλότερη από εκείνη σε άλλα πολυμερή όπως είναι το πολυπροπυλένιο (PP) και το πολυστυρένιο (PS). Η αύξηση της κρυσταλλικότητας του PLA μπορεί να οδηγήσει σε καλύτερες ιδιότητες φράγματος ως προς την διαπερατότητα του οξυγόνου σε σύγκριση με εκείνες του άμορφου PET. Ωστόσο οι τιμές διαπερατότητας του οξυγόνου στο PLA εξακολουθούν να είναι μεγαλύτερες από εκείνες του PET, όταν και τα δύο πολυμερή εμφανίζουν παρόμοια επίπεδα κρυσταλλικότητας [18], [19].

1.3.3. Ηλεκτρικές ιδιότητες

Προκειμένου να γίνει αντιληπτό αν μπορεί να χρησιμοποιηθεί το πολυ(γαλακτικό οξύ) ως μονωτικό υλικό για ηλεκτρικές εφαρμογές (π.χ. σε ηλεκτρικά καλώδια), είναι απαραίτητο να μελετηθούν πρώτα οι ηλεκτρικές ιδιότητες που παρουσιάζει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Οι σημαντικότερες από τις ιδιότητες αυτές είναι η ειδική αντίσταση όγκου, η διηλεκτρική σταθερά, και η εφαιπτομένη διηλεκτρικής απώλειας. Οι ιδιότητες αυτές για το PLA παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (1.3):

Πίνακας 1.3: Σύγκριση των ηλεκτρικών ιδιοτήτων του PLA με τις ιδιότητες του διασταυρούμενου πολυαιθυλενίου (XLPE)

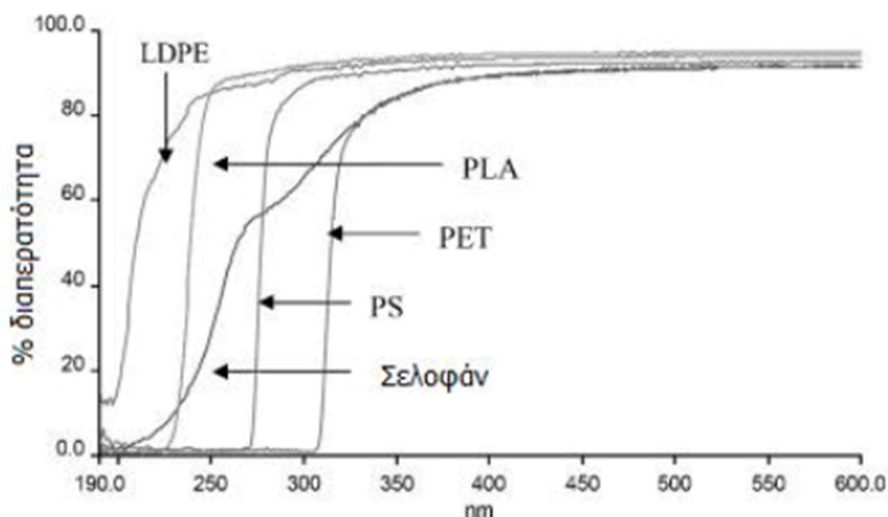
Υλικό	PLLA (Ποσοστό κρυσταλλικότητας >50%)	PLLA (Ποσοστό κρυσταλλικότητας <10%)	XLPE
Ειδική αντίσταση όγκου (Ω -cm)	$55 \cdot 10^{16}$	$49 \cdot 10^{16}$	$46 \cdot 10^{16}$
Σχετική διηλεκτρική σταθερά	3,8	3	2,4
Διηλεκτρική απώλεια	0,02	0,022	0,018

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 1.3, το πολυ(γαλακτικό οξύ) παρουσιάζει ηλεκτρικές ιδιότητες συγκρίσιμες με εκείνες του διασταυρούμενου πολυαιθυλενίου (XLPE), ενός

υλικού που χρησιμοποιείται ευρέως ως μονωτικό σε ηλεκτρικά καλώδια. Επιπλέον το PLA φαίνεται να εμφανίζει διηλεκτρική σταθερά μεγαλύτερη από εκείνη του XPLE, το οποίο αποδίδεται στην παρουσία της καρβοξυλομάδας στην αλυσίδα του πολυμερούς. Αξίζει να σημειωθεί ακόμα ότι η τιμή της σχετικής διηλεκτρικής σταθεράς του PLA (3,0) εμφανίζεται αρκετά κοντά και στην σχετική διηλεκτρική σταθερά του πολυβινυλοχλωριδίου (PVC) (3,4), υλικού που επίσης χρησιμοποιείται ως μονωτικό σε ηλεκτρικές εφαρμογές [11].

1.3.4. Οπτικές ιδιότητες

Η απορρόφηση της ορατής και της υπεριώδους ακτινοβολίας από τα πολυμερή αποτελεί σημαντική παράμετρο κατά τον σχεδιασμό της συσκευασίας των τροφίμων, προκειμένου να διασφαλιστεί ότι η ποιότητα του προϊόντος θα μείνει αναλλοίωτη μέχρι αυτό να φτάσει στον καταναλωτή. Οι οπτικές ιδιότητες φιλμ του πολυ(γαλακτικού οξέος,) σε σύγκριση με τις οπτικές ιδιότητες άλλων εμπορικά ευρέως χρησιμοποιούμενων πολυμερών όπως είναι το πολυαιθυλένιο χαμηλής πυκνότητας (LDPE), το σελοφάν, το πολυστυρένιο (PS) και ο πολύ(τερεφθαλικός αιθυλεστέρας) (PET), στο φάσμα της ορατής και της υπεριώδους ακτινοβολίας (190-800 nm), παρουσιάζονται στο σχήμα (1.2). Όπως φαίνεται από το σχήμα τα φιλμ του PLA δεν εμφανίζουν διαπερατότητα ως προς την ακτινοβολία UV-C. Ωστόσο οι ακτινοβολίες UV-A και UV-B φαίνεται να διαπερνούν τα φιλμ του PLA. Συνεπώς το πολυ(γαλακτικό οξύ) μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συσκευασίες τροφίμων, με την χρησιμοποίηση σε ορισμένα προϊόντα (π.χ. στα γαλακτοκομικά) κατάλληλων προσθέτων, ώστε να εμποδίζεται αποτελεσματικά η διαπερατότητα της υπεριώδους ακτινοβολίας [20].



Σχήμα 1.2: Απεικόνιση της διαπερατότητας συναρτήσει του μήκους κύματος για φιλμ PLA (98% L-γαλακτικού οξέος), LDPE, Σελοφάν, PS και PET.

1.4. Αποικοδόμηση του πολυ(γαλακτικού οξέος)

Το PLA μπορεί να αποικοδομηθεί φυσικά με απλή υδρόλυση των εστερικών δεσμών. Αφού εκτεθεί σε κατάλληλες συνθήκες οι οποίες περιλαμβάνουν έναν συνδυασμό υγρασίας, οξυγόνου και φυσικά υπαρκτών μικροοργανισμών, το PLA αποσυντίθεται σε νερό, διοξείδιο του άνθρακα και σε μία μικρή ποσότητα μη τοξικού περισευούμενου υπολείμματος. Η ιδιότητα αυτή αποτελεί και το κυριότερο πλεονέκτημα της χρήσης του πολυ(γαλακτικού οξέος). Ο ρυθμός αποικοδόμησης του πολυ(γαλακτικού οξέος) εξαρτάται από μία πληθώρα παραγόντων όπως είναι η αναλογία L- και D- γαλακτικού οξέος, η θερμοκρασία της υδρόλυσης, το pH, ο χρόνος ταφής στο έδαφος όταν αποικοδομείται στο περιβάλλον, η υγρασία, το οξυγόνο καθώς και το σχήμα και μέγεθος του υλικού. Μία ποικιλία διαφορετικών μηχανισμών οδηγούν στην αποικοδόμηση του PLA, οι οποίοι είναι υδρολυτικοί, θερμικοί, οξειδωτικοί, μικροβιακοί και ενζυματικοί μηχανισμοί καθώς και μηχανισμοί αποικοδόμησης μέσω ακτινοβολίας. Οι μηχανισμοί αυτοί προκαλούν αρχικά σχάσεις της κύριας αλυσίδας και των πλευρικών αλυσίδων. Γενικά το PLA διασπάται τόσο στο περιβάλλον όσο και στον ανθρώπινο οργανισμό (in vivo) [21].

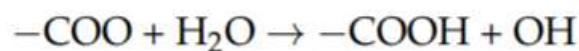
Στον ανθρώπινο οργανισμό ερχόμενο σε επαφή με τα βιολογικά υγρά το πολυμερές διασπάται μέσω υδρόλυσης δίνοντας σαν προϊόντα ολιγομερή, διοξείδιο του άνθρακα και νερό. Στην συνέχεια τα προϊόντα αυτά είτε μεταβολίζονται ενδοκυτταρικά, είτε αποβάλλονται από τον οργανισμό με τα ούρα και την αναπνοή. Η βακτηριακή μόλυνση και η φλεγμονώδης αντίδραση στην ύπαρξη ξένου σώματος ενισχύουν την διάσπαση του PLA μέσω της έκκρισης ενζύμων που αποικοδομούν την πολυμερική μήτρα. Η

αποικοδόμηση πραγματοποιείται τόσο στην επιφάνεια του πολυμερικού υλικού όσο και στο εσωτερικό του μέσω της διάχυσης του νερού μεταξύ των αλυσίδων του πολυμερούς. Ο μέσος χρόνος ημιζωής του PLA στον ανθρώπινο οργανισμό έχει υπολογιστεί στις 30 εβδομάδες. Ωστόσο ο χρόνος αυτός μπορεί είτε να αυξηθεί είτε να ελαττωθεί ανάλογα με τις προδιαγραφές που χρειάζεται να πληρεί το υλικό σε διαφορετικές ιατρικές εφαρμογές [22].

Στο περιβάλλον το πολυ(γαλακτικό οξύ) αποικοδομείται σε δύο στάδια. Κατά το πρώτο στάδιο, το οποίο ονομάζεται πρωταρχική αποικοδόμηση, πραγματοποιείται το σπάσιμο των αλυσίδων του πολυμερούς σε μικρότερου μοριακού βάρους τμήματα, κυρίως μέσω του μηχανισμού της υδρόλυσης. Αυτό το στάδιο είναι πολύ σημαντικό καθώς τα μακρομόρια δεν μπορούν διαφορετικά να εισέλθουν στο εσωτερικό των κυττάρων, των βακτηρίων ή των μικροβίων διαπερνώντας την εξωτερική τους μεμβράνη. Κατά το δεύτερο στάδιο, το οποίο είναι πολύ αργό και ονομάζεται ολική βιοαποικοδόμηση, τα τμήματα μικρότερου πλέον μοριακού βάρους, αφού έχουν εισέλθει στο εσωτερικό των κυττάρων των μικροβίων, μπορούν πλέον να μετατραπούν μέσω βιολογικών διαδικασιών σε βιομάζα, ανόργανη ύλη, νερό, και διοξείδιο του άνθρακα ή μεθάνιο. Με άλλα λόγια το πολυμερές χρησιμοποιείται ως πηγή τροφής για τους μικροοργανισμούς και κάτω από αερόβιες συνθήκες μετατρέπεται σε βιομάζα νερό και διοξείδιο του άνθρακα ενώ κάτω από αναερόβιες συνθήκες μετατρέπεται σε βιομάζα, νερό, διοξείδιο του άνθρακα και μεθάνιο [23].

1.4.1. Υδρολυτική αποικοδόμηση του πολυ(γαλακτικού οξέος)

Όταν εκτεθεί σε υγρασία το PLA, το νερό διεισδύει στη μάζα του πολυμερούς και λαμβάνει χώρα η υδρόλυση των εστερικών ομάδων της άμορφης φάσης του. Κατά την υδρόλυση οι εστερικές ομάδες της κύριας πολυμερικής αλυσίδας διασπώνται έως ότου το πολυμερές μετατραπεί εξολοκλήρου σε ολιγομερή και μονομερή τα οποία είναι διαλυτά. Οι εστερικοί δεσμοί του PLA σπάνε προς σχηματισμό αλκοολών και καρβοξυλικών οξέων όπως φαίνεται στην εικόνα (1.7). Ωστόσο απουσία οποιουδήποτε καταλύτη η υδρόλυση του PLA απαιτεί πολύ ενέργεια και αρκετό χρόνο.



Εικόνα 1.7: Υδρολυτική διάσπαση του πολυ(γαλακτικού οξέος)

Η υδρολυτική αποικοδόμηση του πολυ(γαλακτικού οξέος) στο νερό αποτελεί μία μη ενζυματική διεργασία κατά την οποία δρουν δύο κύριοι μηχανισμοί: αρχικά η τυχαία σχάση της μακροαλυσίδας (random scission reaction) και στην συνέχεια η απόσπαση άκρων της μακροαλυσίδας (chain-end scission). Οι μηχανισμοί αυτοί οδηγούν στην

μείωση του μοριακού βάρους του πολυμερούς. Η υδρόλυση του πολυ(γαλακτικού οξέος) μπορεί να πραγματοποιηθεί όχι μόνο στο νερό, άλλα και σε αλκοόλες και αλκοολικά διαλύματα όπως π.χ. σε μίγματα νερού-αιθανόλης ή σε διαλύματα ακετονιτριλίου.

Η υδρολυτική διάσπαση του PLA είναι μία αυτοκαταλύομενη αντίδραση, καθώς κατά την διάρκεια της αυξάνεται ο αριθμός των αλυσίδων με καρβοξυλική ομάδα στο άκρο τους, οι οποίες αυτοκαταλύουν την εστερική υδρόλυση.

Όπως είναι αναμενόμενο, η υδρόλυση των άμορφων περιοχών του πολυ(γαλακτικού οξέος) πραγματοποιείται ευκολότερα σε σχέση με τις κρυσταλλικές περιοχές και αυτό συμβαίνει διότι το νερό διαχέεται ευκολότερα στα λιγότερο οργανωμένα και άμορφα τμήματα. Για αυτό και η υδρόλυση τείνει να ξεκινάει από τις άμορφες περιοχές και στην συνέχεια προχωράει με μειωμένο ρυθμό στις κρυσταλλικές περιοχές. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα η υδρολυτική αποικοδόμηση του PLA να προκαλεί αύξηση της κρυσταλλικότητας του δείγματος με παράλληλη υποβάθμιση των φυσικών και των μηχανικών ιδιοτήτων του.

Τέσσερις βασικές παράμετροι ελέγχουν την υδρολυτική αποικοδόμηση σωματιδίων PLA σε υδατικά διαλύματα: η ποσότητα του νερού που έχει απορροφηθεί, ο ρυθμός διάχυσης του νερού στο πολυμερές, ο συντελεστής των θραυσμάτων της μακροαλυσίδας μέσα στο πολυμερές και η διαλυτότητα των προϊόντων της αποικοδόμησης.

Θα πρέπει ακόμα να αναφερθεί ότι η υδρόλυση αποτελεί μόνο το αρχικό βήμα μιας διαδικασίας πολλών σταδίων που επιφέρει τελικά την αποικοδόμηση του πολυμερούς. Η συνολική διαδικασία από την υδρόλυση μέχρι την ολοκληρωτική εξαφάνιση του πολυμερούς μέσα στο υδατικό περιβάλλον αναφέρεται ως διάβρωση και διακρίνονται δύο τύποι: η επιφανειακή ή ετερογενής διάβρωση και η ομογενής ή κυρίως διάβρωση [21],[24].

1.5. Εφαρμογές του πολυ(γαλακτικού οξέος)

Σήμερα το PLA αποτελεί ένα από τα πιο υποσχόμενα υλικά για την αντικατάσταση μη βιοαποικοδομήσιμων, εμπορικά ευρέως χρησιμοποιούμενων πολυμερών όπως είναι το πολυ(τερεφθαλικό αιθυλένιο) (PET) και το πολυστυρένιο (PS). Όπως έχει προαναφερθεί το πολυ(γαλακτικό οξύ) είναι ένα ανακυκλώσιμο, βιοαποικοδομήσιμο πολυμερές το οποίο μπορεί να υποβληθεί σε κομποστοποίηση. Όσον αφορά την παραγωγή του, τα κύρια πλεονεκτήματά του σε σχέση με τα συμβατικά πλαστικά είναι ότι μπορεί να παραχθεί από ανανεώσιμες πρώτες ύλες, όπως είναι το καλαμπόκι ή άλλες πηγές υδατάνθρακα, ενώ κατά την παραγωγή του από τις ανανεώσιμες αυτές πρώτες ύλες, καταναλώνεται διοξείδιο του άνθρακα. Το γεγονός αυτό συμβάλει στην επίτευξη

ισορροπίας ανάμεσα στην ποσότητα CO₂ που δεσμεύεται και που αποβάλλεται κατά την παραγωγή και διάσπασή του αντίστοιχα.

Το PLA χρησιμοποιείται σε ένα μεγάλο εύρος εφαρμογών όπως είναι η συσκευασία, η αυτοκινητοβιομηχανία, τα αγροτικά προϊόντα, η ιατρική, η κλωστοϋφαντουργία καθώς και τα προϊόντα ηλεκτρονικής. Η συσκευασία και ιδιαίτερα η συσκευασία τροφίμων καθώς και η ιατρική αποτελούν τις σημαντικότερες και περισσότερο μελετημένες περιοχές εφαρμογών του PLA [21].

1.5.1. Συσκευασία

Ο τομέας της συσκευασίας αποτελεί στην σύγχρονη εποχή τον σημαντικότερο τομέα εφαρμογών του πολυ(γαλακτικού οξέος) εξαιτίας της συνεχούς αυξανόμενης περιβαλλοντικής επιβάρυνσης που επιφέρει η χρήση μη βιοαποικοδομήσιμων πλαστικών ως υλικών συσκευασίας όπως είναι το πολυαιθυλένιο, το πολυπροπυλένιο, το συμπολυμερές αιθυλενίου-οξικού βινυλίου (EVA), το πολυ(τερεφθαλικό αιθυλένιο) (PET) και το πολυστυρένιο (PS) [21]. Το PLA διαθέτει υψηλή διαφάνεια και αποτελεί εξαιρετικό υλικό για συσκευασίες. Σαν υλικό διαθέτει έναν εγγενή πολικό χαρακτήρα εξαιτίας της βασικής επαναλαμβανόμενης ομάδας του, του γαλακτικού οξέος. Αυτή η υψηλή πολικότητα οδηγεί σε έναν αριθμό μοναδικών χαρακτηριστικών όπως είναι η υψηλή επιφανειακή ενέργεια που αποδίδει στο υλικό πολύ καλή δυνατότητα εκτύπωσης. Ακόμα ένα άλλο πλεονέκτημα του πολυμερούς αυτού είναι η αντίσταση που παρουσιάζει σε αλειφατικά μόρια όπως στα έλαια και στα τερπένια. Τα πλεονεκτήματα του ωστόσο δεν περιορίζονται στα παραπάνω καθώς το PLA σαν υλικό συσκευασίας παρουσιάζει ακαμψία, διαύγεια, ικανότητα διατήρησης της συστροφής και χαμηλή θερμοκρασίας θερμικής σφράγισης ενώ παρουσιάζει και έναν ενδιαφέρον συνδυασμό ιδιοτήτων φραγμού ως προς την γεύση και το άρωμα των συσκευασμένων προϊόντων[14]. Στον τομέα της συσκευασίας τροφίμων είναι ιδανικό για συσκευασίες φρέσκων προϊόντων καθώς και για συσκευασίες προϊόντων των οποίων η ποιότητα δεν κινδυνεύει να αλλοιωθεί από την διαπερατότητα οξυγόνου που χαρακτηρίζει το συγκεκριμένο πολυμερές. Θερμοδιαμορφωμένα δοχεία PLA χρησιμοποιούνται σήμερα στο λιανικό εμπόριο για την συσκευασία φρούτων, λαχανικών καθώς και για συσκευασμένες σαλάτες [2]. Από PLA της εταιρίας Nature Works LLC είναι κατασκευασμένο και το πρώτο εμπορικά διαθέσιμο μπουκάλι που χρησιμοποιείται για την εμφιάλωση νερού και είναι φτιαγμένο από πλήρως βιοδιασπώμενο πολυμερές. Το μπουκάλι έχει την ονομασία BIOTA Spring water, έχει εγκριθεί από το BPI (Biodegradable Products Institute) και διασπάται με κομποστοποίηση, σε κατάλληλες συνθήκες μέσα σε 12 εβδομάδες [23].

1.5.2. Ιατρική

Οι κυριότερες βιοϊατρικές εφαρμογές στις οποίες συναντάται το πολυ(γαλακτικό οξύ) είναι τα συστήματα μεταφοράς φαρμάκων, η μηχανική αποκατάστασης των ιστών τα

ράμματα καθώς πολλά από τα εμφυτεύματα που χρησιμοποιούνται στην ορθοπεδική (π.χ. βίδες οστών) [21],[23].

1.5.2.1. Μηχανική αποκατάστασης των ιστών

Ως μηχανική αποκατάστασης ιστών ορίζεται η χρήση φυσικών ή συνθετικών υλικών παράλληλα με τα κύτταρα του οργανισμού έτσι ώστε να δημιουργηθεί βιολογικό υπόστρωμα που θα λειτουργήσει ως υποκατάστατο του χαμένου ιστού. Το πεδίο αυτό καλείται να δώσει λύσεις σε κρίσιμα ιατρικά προβλήματα όπως είναι η απώλεια ιστού και η ανεπάρκεια οργάνων. Αν και συγκεκριμένα μέταλλα έχουν αποδειχτεί κατάλληλα ως ιατρικά εμφυτεύματα εξαιτίας των καλών μηχανικών ιδιοτήτων τους, η έλλειψη ικανότητας αποικοδόμησης τους στο βιολογικό περιβάλλον περιορίζει την χρήση τους σε εφαρμογές ικριωμάτων. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται σήμερα βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή και συγκεκριμένα γραμμικοί αλειφατικοί πολυεστέρες όπως είναι το πολυ(γλυκολικό οξύ) (PGA), το πολυ(γαλακτικό οξύ) (PLA) καθώς και συμπολυμερή τους (PGLA). Τα υλικά αυτά είναι από τα λίγα συνθετικά πολυμερή που έχουν αναγνωριστεί επίσημα από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Τροφίμων (FDA) για κλινικές εφαρμογές στον ανθρώπινο οργανισμό [4],[23].

Η υδροφοβική φύση του PLA περιορίζει την ικανότητα προσκόλλησης των κυττάρων σε αυτό. Ωστόσο εξαιτίας της καλής βιοσυμβατότητας που παρουσιάζει και των εξαιρετικών μηχανικών ιδιοτήτων του ως υλικό, το συγκεκριμένο πολυμερές, καθώς και μίγματά του με άλλα πολυμερή έχουν μελετηθεί για την κατασκευή πορώδων ικριωμάτων μέσω τεχνικών όπως είναι η ηλεκτροστατική ινοποίηση, η έκπλυση σωματιδίων και ο αφρισμός [4].

Τρισδιάστατα πορώδη ικριώματα PLA που έχουν δημιουργηθεί για την ανάπτυξη διαφορετικών τύπων κυττάρων, χρησιμοποιούνται σήμερα σε γονιδιακές θεραπείες για καρδιαγγειακές παθήσεις καθώς και για την αναγέννηση μυϊκών ιστών, οστών καθώς και χόνδρων. Το PLA μπορεί να παραμείνει στον ανθρώπινο οργανισμό από δέκα μήνες έως τέσσερα χρόνια μέχρι να αποικοδομηθεί, γεγονός που εξαρτάται από παράγοντες της μικροδομής του όπως είναι η χημική σύνθεση του, το πορώδες και η κρυσταλλικότητά του. Οι παράγοντες αυτοί μπορεί να επηρεάσουν και την αντοχή του υλικού σε εφελκυσμό για συγκεκριμένες εφαρμογές. Αξίζει να σημειωθεί ότι το πολυ(γαλακτικό οξύ) έχει ήδη δείξει πολύ θετικά αποτελέσματα κατά την χρήση του σε κατάγματα και οστεοτομές [25].

1.5.2.2. Μεταφορά φαρμάκων

Τα τελευταία χρόνια οι ερευνητές επικεντρώνονται ολοένα και περισσότερο στην διερεύνηση τεχνικών μεταφοράς των φαρμάκων στους ιστούς-στόχους, με τις οποίες θα μπορούσαν να αυξήσουν την αποτελεσματικότητα της δράσης των φαρμακευτικών ουσιών. Η απόδοση ενός φαρμάκου καθορίζεται κυρίως από τις φυσιολογικές αποκρίσεις του οργανισμού μετά την χορήγησή του. Μόλις εισέλθει στο σώμα το φάρμακο θα πρέπει να υπερνικήσει μια σειρά από μεταβολικές και ανοσολογικές

διεργασίες του οργανισμού. Οι προκλήσεις αυτές οδήγησαν στον σχεδιασμό και στην χρησιμοποίηση σήμερα κατάλληλων συστημάτων μεταφοράς των φαρμάκων, με σκοπό οι φορείς αυτοί να μεταφέρουν τα φαρμακευτικά προϊόντα στους ιστούς στόχους δια μέσου των βιολογικών φραγμών. Τα συστήματα αυτά μεταφοράς φαρμάκων συνήθως αποτελούνται από ένα βιοαποικοδομήσιμο πολυμερές φορτωμένο με τον θεραπευτικό παράγοντα. Το PLA είναι ένα από τα πολυμερή που χρησιμοποιείται για τον σκοπό αυτό ενώ η χρήση του στον συγκεκριμένο τομέα επιφέρει πολυάριθμα πλεονεκτήματα.

Ένα από τα κύρια πλεονεκτήματα που καθιστούν το PLA ιδανικό σαν υλικό σε συστήματα μεταφοράς δραστικών ουσιών είναι η ικανότητά βιοαποικοδόμησής του. Το PLA μπορεί να διαλυθεί εύκολα σε εξωκυτταρικό περιβάλλον. Επίσης ο ρυθμός αποικοδόμησής του μπορεί να διαμορφωθεί ώστε να δώσει ένα επιθυμητό αποτέλεσμα και η κινητική της διάσπασης μπορεί να παραταθεί προκειμένου να διατηρηθεί για κάποιο χρονικό διάστημα μία συνεχή αποδέσμευση των θεραπευτικών παραγόντων. Το PLA έχει αποδειχτεί ως ένα εξαιρετικό υλικό σταδιακής αποδέσμευσης φαρμάκων, καθώς μπορεί να παραμείνει αδιάλυτο για μεγάλο χρονικό διάστημα και για τον λόγο αυτό φορείς του χρησιμοποιούνται και σε αντικαρκινικές θεραπείες. Ακόμα τέτοιοι φορείς χρησιμοποιούνται και σε διαδικασίες τοποθέτησης εμφυτευμάτων για την μεταφορά και την ελεγχόμενη αποδέσμευση αντιβιοτικών, μειώνοντας κατά αυτό τον τρόπο το ρίσκο μόλυνσεων μετά την επέμβαση ή την πιθανότητα αποτυχίας του εμφυτεύματος.

Ένα άλλο πλεονέκτημα του PLA, είναι ότι αποτελεί ένα υλικό με δυνατότητα τροποποίησης των ιδιοτήτων του. Όσο αφορά την χρήση του στην μεταφορά θεραπευτικών παραγόντων τα μόρια του PLA μπορούν να τροποποιηθούν χημικά μέσω αλληλεπιδράσεων με κατάλληλες πρωτεΐνες. Η προσρόφηση ορισμένων πρωτεϊνών στο πολυμερές καθορίζει τα κύτταρα και τους ιστούς με τα οποία αυτό θα έρθει σε επαφή αφού εισέλθει στον οργανισμό. Με τον τρόπο αυτό οι φορείς του PLA μπορούν να στοχεύουν σε συγκεκριμένα κύτταρα και να αποφεύγουν βιολογικά εμπόδια.

Τέλος, συστήματα μεταφοράς φαρμάκων από το πολυμερές αυτό βοηθάνε και στην εξειδίκευση της μεταφερόμενης θεραπευτικής ουσίας. Αν και τα σωματίδια του κάθε φαρμάκου έχουν έναν συγκεκριμένο ιατρικό σκοπό συχνά μπορούν να εμφανίσουν απρόβλεπτες παρενέργειες ως συνέπεια της αλληλεπίδρασης τους με μη στοχευμένα κύτταρα. Το PLA χρησιμοποιείται για την ενσωμάτωση και την μεταφορά σωματιδίων φαρμάκων, μειώνοντας κατά αυτό τον τρόπο την συχνότητα των ανεπιθύμητων παρενεργειών τους και βελτιώνοντας την αποτελεσματικότητα των θεραπευτικών παραγόντων μέσω της αποδέσμευσής τους σε μικρότερες δόσεις [26].

1.5.2.3. *Εμφυτεύματα στην ορθοπεδική*

Ιστορικά τα μέταλλα θεωρούνται ως τα πιο ιδανικά υλικά για την αποκατάσταση οστών μετά από κάταγμα σε ορθοπεδικές εφαρμογές. Ωστόσο παρά τις καλές μηχανικές τους ιδιότητες και τα θετικά αποτελέσματα που έχει η χρήση τους, εμφανίζουν ορισμένα προβλήματα.

Το σημαντικότερο πρόβλημα είναι ότι το φορτίο μεταφέρεται εξ ολοκλήρου από τα οστά στο εμφύτευμα με αποτέλεσμα τα οστά να γίνονται αδύναμα και να ατροφούν. Επιπλέον, τα μεταλλικά εμφυτεύματα συχνά προκαλούν συσσώρευση μετάλλων στους ιστούς, περιορίζουν την ανάπτυξη του οστού, το οποίο τελικά γίνεται πορώδες και εύθραυστο, προκαλούν πόνο, οξείδωση και άλλα παρόμοια προβλήματα. Τέλος η χρήση τους απαιτεί και την πραγματοποίηση μιας δεύτερης επέμβασης για την αφαίρεση τους μετά το πέρας της λειτουργικότητάς τους, καθώς η παραμονή τους στον οργανισμό προκαλεί ερεθισμούς και στους κοντινούς στην περιοχή ιστούς.

Τα βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή δίνουν λύση στα προβλήματα που παρουσιάζουν τα μεταλλικά εμφυτεύματα. Το κύριο πλεονέκτημα της εφαρμογής τους στον τομέα αυτό είναι ότι παρουσιάζουν κατάλληλη αντοχή και διασπώνται μετά το τέλος της λειτουργίας τους χωρίς να προκαλούν προβλήματα στον οργανισμό, ενώ το βάρος σταδιακά μεταφέρεται εξ ολοκλήρου στο θεραπευμένο οστό χωρίς να χρειάζεται δεύτερη επέμβαση για την αφαίρεσή τους [14],[27].

Βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή, όπως το πολυ(γαλακτικό οξύ) (PLA), το πολυγλυκολικό οξύ (PGA), και τα συμπολυμερή τους, όπως το PLGA, χρησιμοποιούνται σήμερα σε ορθοπεδικές εφαρμογές για το σχεδιασμό και την παραγωγή εμφυτευμάτων όπως βίδες, λάμες και δισκία. Τα πολυμερικά αυτά υλικά εμφανίζουν κατάλληλες μηχανικές ιδιότητες για την ορθοπεδική ενώ μετά το πέρας του σκοπού τους διασπώνται σταδιακά και απορροφούνται από τον οργανισμό [4].

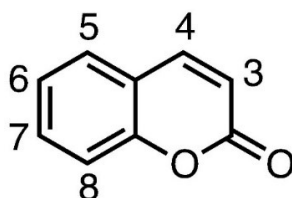
1.5.2.4. *Ράμματα*

Μία από τις κυριότερες εφαρμογές των βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών και συγκεκριμένα των συνθετικών αλειφατικών πολυεστέρων στον τομέα της ιατρικής εδώ και 50 χρόνια είναι τα βιοδιασπώμενα ράμματα. Το πλεονέκτημά τους είναι ότι μετά την εφαρμογή τους, αφομοιώνονται από τον οργανισμό χωρίς να απαιτείται επιπλέον διαδικασία για την αφαίρεσή τους, ενώ είναι απόλυτα συμβατά με τον οργανισμό.

Η επιλογή του κατάλληλου τύπου ράμματος βασίζεται σε κριτήρια όπως η αντοχή στον εφελκυσμό, η πιθανότητα μόλυνσης, η ευκολία στη χρήση και η αντοχή. Τα πρώτα και πιο γνωστά εμπορικά βιοαπορροφήσιμα ράμματα ήταν από πολυ(γλυκολικό οξύ) (PGA), ενώ αργότερα άρχισαν να χρησιμοποιούνται και ράμματα από πολυ(γαλακτικό οξύ) (PLA) [28].

Οι κουμαρίνες είναι ετεροκυκλικές οργανικές ενώσεις που ανήκουν στις βενζο-α-πυρόνες και συναντώνται στο φυσικό βασίλειο ως δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών. Έλαβαν την ονομασία τους από το "Cou-marou", το τοπικό όνομα του φυτού *Dipteryx odorata* Willd της οικογένειας Fabaceae, από το οποίο απομονώθηκε για πρώτη φορά η απλούστερη κουμαρίνη το 1820.

Ο κύριος δομικός σκελετός της απλής κουμαρίνης, η οποία συναντάται και με τις ονομασίες 1,2-βενζοπυρόνη ή 2H-1-βενζοπυραν-2-όνη, αποτελείται από έναν βενζολικό και έναν πυρανικό δακτύλιο και παρουσιάζεται στην εικόνα (2.1) [29],[30].

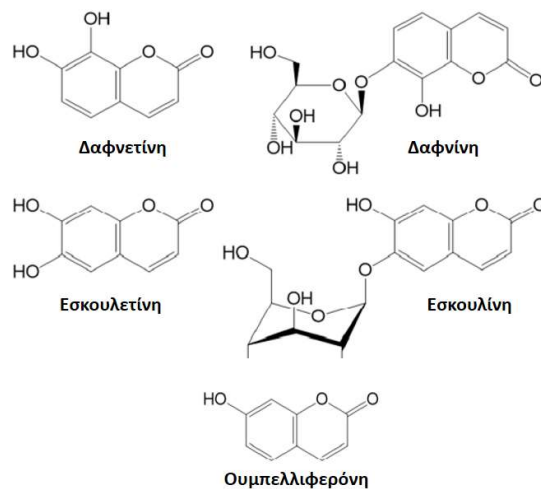


Εικόνα 2.1: Δομή της απλής κουμαρίνης.

Οι κουμαρίνες στη φύση απαντώνται τόσο σε ελεύθερη κατάσταση όσο και υπό μορφή παραγώγων τους με ζάχαρα. Από την πρώτη απομόνωση της απλούστερης κουμαρίνης μέχρι και σήμερα, ένα σύνολο περίπου 800 παραγώγων της οικογένειας των κουμαρινών, τα οποία έχουν βρεθεί φυσικά, έχουν απομονωθεί από περίπου 600 διαφορετικά γένη φυτών. Οι κουμαρίνες και τα παράγωγά τους συναντώνται συχνά στους σπόρους, στις ρίζες και στα φύλλα πολλών διαφορετικών ειδών φυτών που ανήκουν στις οικογένειες Rutaceae και Apiaceae καθώς και σε άλλες οικογένειες της κλάσης των Δικοτυλήδων. Παρά το γεγονός ότι το μεγαλύτερο μέρος των κουμαρινών που συναντώνται φυσικά απομονώνονται από Σπερματοφύτα, υπάρχουν και ορισμένες κουμαρίνες όπως η νοβοβιοκίνη, η κουμερμυκίνη και η αφλατοξίνη οι οποίες απομονώνονται από μικροβιακές πηγές.

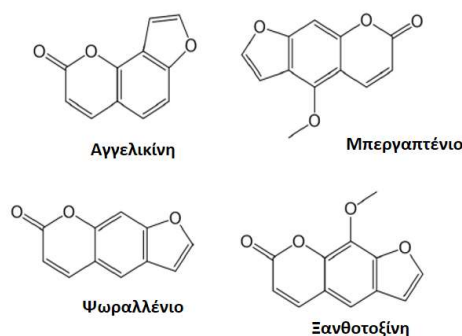
Οι κουμαρίνες μπορούν να ταξινομηθούν σε τέσσερις κύριες κατηγορίες: τις απλές κουμαρίνες, τις φουρανοκουμαρίνες, τις πυρανοκουμαρίνες και τις υποκατεστημένες κουμαρίνες στον πυρανικό δακτύλιο.

Οι απλές κουμαρίνες προέρχονται από την βασική δομή της κουμαρίνης με την διαφορά ότι έχουν αλκοξυλιωθεί, υδροξυλιωθεί ή αλκυλιωθεί ή έχουν υποστεί γλυκοζυλίωση. Στην εικόνα (2.2) παρουσιάζονται ορισμένες από τις πιο γνωστές απλές κουμαρίνες.



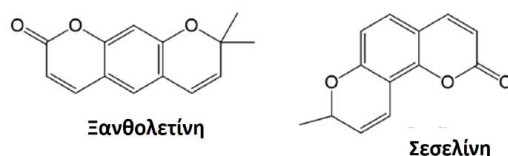
Εικόνα 2.2: Χημική δομή διαδεδομένων απλών κουμαρινών

Οι φουρανοκουμαρίνες (εικόνα (2.3)) είναι ο συνδυασμός της κεντρικής δομής της κουμαρίνης με ένα πενταμελή δακτύλιο. Χωρίζονται σε δύο τύπους, στα παράγωγα της κουμαρίνης γραμμικού τύπου (ψωραλλένιο) και στα παράγωγα της πιο σταθερής ισομερούς ένωσης της κουμαρίνης, γωνιακού τύπου (αγγελικίνη).



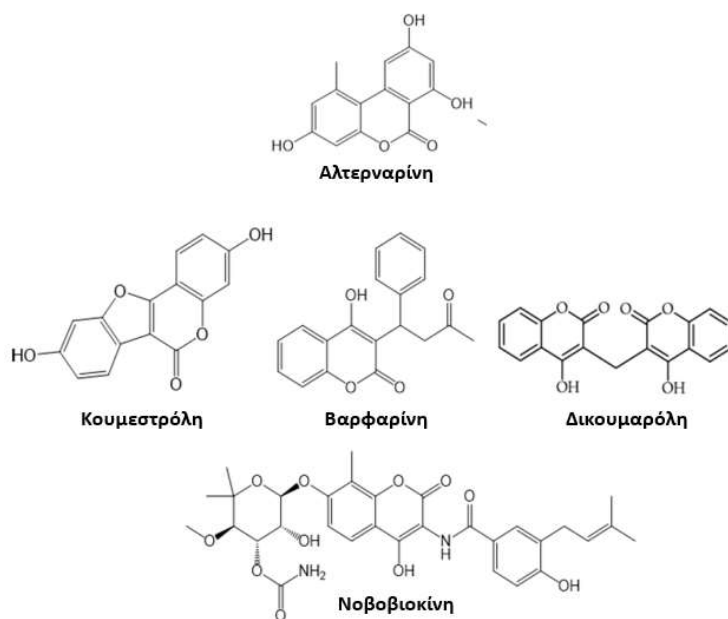
Εικόνα 2.3: Χημική δομή διαδεδομένων φουρανοκουμαρινών

Οι πυρανοκουμαρίνες (εικόνα (2.4)) αποτελούν ενώσεις ανάλογες των φουρανοκουμαρινών, που περιέχουν όμως εξαμελή δακτύλιο (πυρανικό) συμπυκνωμένο στην δομή της απλής κουμαρίνης. Χωρίζονται και αυτές σε δύο τύπους, στα παράγωγα κουμαρινών γραμμικού τύπου, όπως η ξανθολετίνη και στα παράγωγα κουμαρινών γωνιακού τύπου, όπως η σεσελίνη.



Εικόνα 2.4: Χημική δομή διαδεδομένων πυρανοκουμαρινών

Οι υποκατεστημένες κουμαρίνες στον πυρανικό δακτύλιο (εικόνα (2.5)) χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: στις 4-υδροξυκουμαρίνες όπως είναι η νοβοβιοκίνη και η δικουμαρόλη, στις 3-φαινυλοκουμαρίνες όπως είναι η κουμεστρόλη και στις 3,4-βενζοκουμαρίνες όπως είναι η αλτερναρίνη. Οι 4-υδροξυκουμαρίνες δεν συναντώνται στα φυτά σε ελεύθερη κατάσταση. Η βαρφαρίνη είναι μία συνθετική κουμαρίνη που ανήκει στην ομάδα αυτή [31].



Εικόνα 2.5: Χημική δομή διαδεδομένων υποκατεστημένων κουμαρινών στον πυρανικό δακτύλιο

2.1. Φαρμακευτικές ιδιότητες κουμαρινών

Οι κουμαρίνες έχουν αναδειχθεί σε ενώσεις ιδιαίτερης φαρμακευτικής σημασίας τα τελευταία χρόνια, εξαιτίας ενός ευρέους φάσματος βιολογικών δράσεων που παρουσιάζουν. Έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί πάνω σε αυτό το κομμάτι τόσο στις κουμαρίνες όσο και στα παράγωγά τους έχουν δείξει πως οι ενώσεις αυτές εμφανίζουν θεραπευτικές ιδιότητες σε αντικαρκινικές θεραπείες, σε φωτοχημειοθεραπείες καθώς και σε θεραπείες ενάντια του HIV. Επιπλέον οι ενώσεις

αυτές παρουσιάζουν αντιβακτηριακές, αντιμυκητιακές, αντιφλεγμονώδεις και αντιπηκτικές ιδιότητες.

Οι αντιπηκτικές ιδιότητες των κουμαρινών οφείλονται στην ικανότητά τους να δρουν ως ανταγωνιστές της βιταμίνης Κ, παράγοντας έτσι αντιπηκτικό αποτέλεσμα καθώς παρεμβαίνουν στον κύκλο μετατροπής της βιταμίνης Κ και της 2,3 εποξειδικής βιταμίνης Κ. Προκαλούν με αυτόν τον τρόπο την ηπατική παραγωγή μερικών καρβοξυλιωμένων και αποκαρβοξυλιωμένων πρωτεϊνών με μειωμένη προπηπτική δράση. Η δικουμαρόλη και η βαρφαρίνη είναι από τα πιο γνωστά κουμαρινικά παράγωγα με τέτοια δράση.

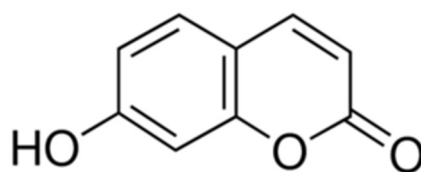
Πέραν όμως των παραπάνω ιδιοτήτων οι κουμαρίνες έχουν συνδεθεί και με την μείωση των τριγλυκεριδίων καθώς και με την εμφάνιση διεγερτικής δράσης ως προς το κεντρικό νευρικό σύστημα. Ακόμα οι υδροξυκουμαρίνες έχει αναφερθεί ότι παρουσιάζουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και ότι συμβάλλουν ενεργά στη ρύθμιση του οξειδωτικού στρες. Τέλος η ανακάλυψη κουμαρινών με χαμηλή οιστρογονική δραστηριότητα επέτρεψε την χρησιμοποίηση αυτών και σε θεραπείες για την πρόληψη και την μείωση της δυσφορίας των συμπτωμάτων της εμμηνόπαυσης [31].

2.2. Εφαρμογές των κουμαρινών και των παραγώγων τους

Οι κουμαρίνες σήμερα εκτός από την αξιοποίηση τους σε φάρμακα ως θεραπευτικοί παράγοντες βρίσκουν εφαρμογή και σε άλλους τομείς. Κουμαρινικά παράγωγα έχουν χρησιμοποιηθεί για τη ενίσχυση του αρώματος προϊόντων καπνού. Η χρήση τους ωστόσο στον τομέα αυτό έχει ρυθμιστεί από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Τροφίμων (FDA) εξαιτίας της εμφάνισης ανεπιθύμητων παρενεργειών όπως είναι η ήπια ναυτία, η διάρροια και η υπατοτοξικότητα. Οι κουμαρίνες χρησιμοποιούνται επίσης στην βιομηχανία των καλλυντικών, στην βιομηχανία των γεωργικών προϊόντων ενώ βρίσκουν εφαρμογή και σαν ενισχυτές λάμπης [31].

2.3. Ουμπελλιφερόνη

Η ουμπελλιφερόνη (umbelliferone) (εικόνα (2.6)) αποτελεί την πιο απλή 7-υδροξυ-κουμαρίνη και συναντάται σε φυτά των οικογενειών Umbelliferae, Fabaceae, Rutaceae και Apiaceae. Το όνομα umbelliferone προέρχεται από το όνομα της οικογένειας φυτών Umbelliferae, στην οποία περιλαμβάνονται βότανα γνωστά στο εμπόριο, όπως το σέλινο, το αγριοςέλινο, το κύμινο, το πολυετές φυτό, ο μάραθος, ο μαϊντανός, η αγγελική, η ασαφέτιδα και το ηράκλειο. Η ουμπελλιφερόνη παραλαμβάνεται από τις προαναφερθείσες οικογένειες φυτών με εκχύλιση με χρήση συνήθως μεθανόλης ως διαλύτη [30],[32].



Εικόνα 2.6: Χημική δομή ουμπελλιφερόνης

Ο χημικός της τύπος είναι $C_9H_6O_3$ και αποτελείται από κρυστάλλους σε σχήμα βελόνας των οποίων το χρώμα κυμαίνεται από λευκό έως κίτρινο. Εμφανίζει εξαιρετικά χαμηλή διαλυτότητα στο νερό αλλά υψηλή διαλυτότητα στην αιθανόλη και στο διοξάνιο. Παρουσιάζει μοριακό βάρος περίπου 162.144 g/mol και σημείο τήξης στους 230-233 οC, ενώ σαν ουσία απορροφά έντονα το υπεριώδες φως σε πολλά μήκη κύματος [32].

Η ουμπελλιφερόνη παρουσιάζει δράσεις όπως αντιπαρασιτική, αντικαρκινική, αντιοξειδωτική και αντιμυκητιασική. Σε μελέτες του 2018 οι φυσικές υδροξυκουμαρίνες ουμπελλιφερόνη, εσκουλετίνη και δαφνετίνη αποδείχθηκε ότι μειώνουν σημαντικά τον πολλαπλασιασμό του βακτηρίου *Ralstonia solanacearum*, ενός από τα πιο σημαντικά φυτικά παθογόνα στον κόσμο που είναι υπεύθυνο για τη θανατηφόρο συστηματική αγγειακή νόσο Bacterial wilt. Επιπλέον η ουμπελλιφερόνη έχει αναφερθεί ότι αποτελεί αντηλιακό παράγοντα ενώ συσχετίζεται και με την μείωση της παχυσαρκίας. Ακόμα έχει βρεθεί ότι παρουσιάζει νευροπροστατευτική δράση και για αυτό το λόγο δρα θεραπευτικά στην νόσο του Parkinson.

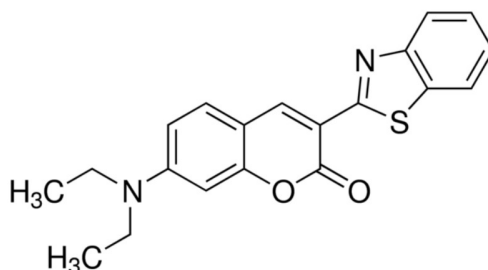
Ένα ανάλογο της ουμπελλιφερόνης, η UMB β-D γαλακτοπυρανοσίδη, η οποία απομονώνεται από το φυτό με την ονομασία *Aegle marmelos* Correa, έχει αποδειχτεί ότι βοηθάει στην θεραπεία του διαβήτη μειώνοντας τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα. Ένα άλλο δομικό ανάλογο της ουμπελλιφερόνης, η 4-μεθυλο-ουμπελλιφερόνη ή υμεχρωμόνη, που συναντάται σε φυτά όπως ο γλυκάνισος, το κύμινο, ο μαϊντανός και ο άνηθος, παρουσιάζει αντιοξειδωτική, αντικαρκινική και αντιβακτηριακή δράση ενώ φαίνεται να αποτελεί και έναν αξιόλογο αντιαγγειογόνο παράγοντα.

Αξίζει τέλος να σημειωθεί ότι παρά την απλότητα της δομής της, η ουμπελλιφερόνη έχει αποτελέσει μόριο οδηγό για την ανάπτυξη νέων συνθετικών κουμαρινών [32],[33].

2.4. Κουμαρίνη-6

Η 3-(2-βενζοθειαζολη)-7-(διαιθυλαμινο)κουμαρίνη ή αλλιώς κουμαρίνη-6 (εικόνα 2.7) αποτελεί ένα μικρό οργανικό μόριο που ανήκει στις 7-αμινοκουμαρίνες και έχει χημικό τύπο $C_{20}H_{18}N_2O_2S$. Πρόκειται για παράγωγο της απλής κουμαρίνης με μία ομάδα βενζοθειαζόλιου στην θέση 3 και είναι μία υδρόφοβη ένωση με μικρό μοριακό βάρος και πολύ χαμηλή διαλυτότητα στο νερό. Όπως κρυσταλλώνεται από υπερκορεσμένα διαλύματα, η μικροσκοπική κρυσταλλική μονάδα της κουμαρίνης-6 έχει τρικλινική

δομή με παραμέτρους του κρυσταλλικού πλέγματος: $a = 8.962 \text{ \AA}$, $b = 11.136 \text{ \AA}$, $c = 8.922 \text{ \AA}$, $\alpha = 95.14^\circ$, $\beta = 104.50^\circ$ και $\gamma = 86.74^\circ$. Ο μοριακός κρύσταλλος της εμφανίζει σχετικά υψηλό σημείο τήξης γύρω στους 220 οC, υψηλή σταθερότητα όσον αφορά την μορφολογία της επιφανείας και αποτελεσματική εκπομπή φωτός.

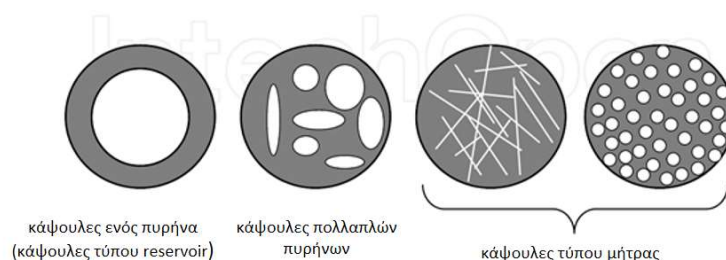


Εικόνα 2.7: Χημική δομή κουμαρίνης-6

Η κουμαρίνη-6 εκπέμπει φθορισμό είτε σε στερεή κατάσταση είτε σε κατάσταση διαλύματος και χρησιμοποιείται ως φθορίζουσα χρωστική για την χρώση οργανιδίων και υλικών που χρησιμοποιούνται στην ιατρική, με σκοπό την *in vivo* και *in vitro* παρακολούθηση. Μπορεί να ενσωματωθεί σε μικροσυστήματα μεταφοράς φαρμάκων και να χρησιμοποιηθεί σε φάρμακα ρινικής χορήγησης για την παρακολούθηση της έντασης του φθορισμού σε διάφορα μέρη του εγκεφάλου. Ακόμα χρησιμοποιείται συχνά και ως πρότυπη ένωση για την φόρτωση μικροσυστημάτων εγκλεισμού, προκειμένου αυτά να μελετηθούν ως μεταφορείς δραστικών ουσιών. Εκτός από τις παραπάνω εφαρμογές της, η κουμαρίνη-6 χρησιμοποιείται ευρέως και ως βαφή laser με εκπομπή στο φάσμα του μπλε-πράσινου χρώματος. Οι φωτοφυσικές ιδιότητες της εμφανίζονται διαφορετικές σε μη πολικούς και σε άλλους διαλύτες. Τα τελευταία χρόνια η κουμαρίνη-6 έχει προσελκύσει μεγάλο ενδιαφέρον και στις οπτοηλεκτρονικές εφαρμογές, καθώς έχει αναδειχθεί σε αποτελεσματικό πρόσθετο για οργανικές διόδους εκπομπής φωτός (συστήματα OLEDs) [34],[35].

Ως μικροεγκλεισμός καλείται η διαδικασία κατά την οποία σωματίδια στερεών ή σταγονίδια υγρών ή και αερίων της τάξης των μικρόμετρων εγκλείονται στο εσωτερικό ενός περιβλήματος/κελύφους το οποίο έχει σαν ρόλο να τα απομονώνει και να τα προστατεύει από το εξωτερικό περιβάλλον. Τα σωματίδια που παραλαμβάνονται από την διαδικασία αυτή μπορούν να ταξινομηθούν με βάση το μέγεθος και την μορφολογία τους.

Με βάση το μέγεθος, τα συστήματα μικροεγκλεισμού με διάμετρο μικρότερη από 200 nm είναι γνωστά ως νανοσωματίδια, νανοκάψουλες ή νανοσφαιρίδια ενώ εκείνα με διάμετρο που κυμαίνεται από 1 έως 800 μm είναι γνωστά ως μικροσωματίδια, μικροκάψουλες ή μικροσφαιρίδια. Με βάση την μορφολογία τους τα σωματίδια μικροεγκλεισμού ταξινομούνται σε τρεις κύριες κατηγορίες: στις κάψουλες ενός πυρήνα γνωστές και ως κάψουλες τύπου δεξαμενής, στις κάψουλες πολλών ή πολλαπλών πυρήνων, καθώς και στα συστήματα τύπου μήτρας που περιλαμβάνουν τα μικροσφαιρίδια ή νανοσφαιρίδια (εικόνα 3.1) [36].



Εικόνα 3.1: Μορφολογία συστημάτων μικροεγκλεισμού.

Η τεχνική του μικροεγκλεισμού συναντάται σήμερα σε ένα ευρύ φάσμα πεδίων εφαρμογών όπως στην βιομηχανία των γεωργικών προϊόντων, των χημικών, των καλλυντικών, των φαρμακευτικών, των τροφίμων και των προϊόντων εκτύπωσης. Οι λόγοι για τους οποίους ουσίες εγκλείονται σε μικροκάψουλες και μικροσφαιρίδια είναι πολλοί και διάφοροι ενώ οι σημαντικότεροι από αυτούς παρουσιάζονται παρακάτω:

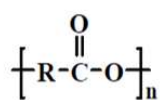
- Ο έλεγχος και συχνά η αύξηση του ρυθμού αποδέσμευσης και απόδοσης των δραστικών ουσιών στο περιβάλλον.
- Η κάλυψη ανεπιθύμητων χημικών ή φυσικών ιδιοτήτων του ενεργού συστατικού (π.χ. υγροσκοπικές ιδιότητες, δυσάρεστη οσμή ή γεύση φαρμακευτικών ουσιών).

- Η δυνατότητα διαχείρισης των υγρών ως ψευδοστερεά, πράγμα που επιτυγχάνεται με την μετατροπή ενός υγρού ενεργού συστατικού σε στερεό σύστημα κατά τον εγκλεισμό.
- Η προστασία ευαίσθητων ενεργών ουσιών από τις συνθήκες του περιβάλλοντος (π.χ. υγρασία, οξυγόνο, θερμότητα) και την εξωτερική αλλοίωση και επομένως η βελτίωση της διάρκειας αποθήκευσης.
- Η αντιμετώπιση προβλημάτων συμβατότητας μεταξύ διάφορων ενεργών συστατικών και ο διαχωρισμός ασύμβατων συστατικών.
- Η μείωση και η καλύτερη διαχείριση της πτητικότητας πολλών συστατικών.
- Η ασφαλής και εύκολη διαχείριση τοξικών ουσιών.
- Η προστασία χημικά ενεργού πυρήνα από χημική προσβολή.

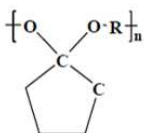
Οι μικροκάψουλες και τα μικροσφαιρίδια αποτελούνται κατά κύριο λόγο από δύο συστατικά: το υλικό του πυρήνα, που αποτελεί το ενεργό συστατικό και το υλικό του κελύφους, που δημιουργεί ένα προστατευτικό τοίχωμα γύρω από το υλικό του πυρήνα. Το ενεργό υλικό, όπως προαναφέρθηκε, μπορεί να έχει την μορφή είτε ενός κεντρικού πυρήνα που περιβάλλεται από τοίχωμα πολυμερούς, ή να βρίσκεται διεσπαρμένο μέσα στη πολυμερική μήτρα. Διαφορετικοί τύποι υλικών πυρήνα όπως δραστικά φαρμακευτικά συστατικά, πρωτεΐνες, πεπτίδια, πτητικά έλαια, συστατικά τροφίμων, χρωστικές, βαφές, μονομερή, καταλύτες, φυτοφάρμακα και άλλα, μπορούν να εγκλειστούν σε πολλά διαφορετικά υλικά περιβλήματος/κελύφους όπως είναι η αιθυλοκυτταρίνη, η υπομελλόζη, η καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη νατρίου, το αλγινικό νάτριο, το συμπολυμερές πολυ(γαλακτικού) και πολυ(γλυκολικού οξέος) (PLGA), οι ζελατίνες, οι πολυεστέρες, οι χυτοζάνες και άλλα [36],[37],[38].

Από τους κυριότερους τομείς στους οποίους χρησιμοποιούνται σωματίδια μικροεγκλεισμού είναι ο τομέας των φαρμάκων. Τις τελευταίες δεκαετίες τα βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή έχουν χρησιμοποιηθεί ως υλικά κελύφους σε σωματίδια μικροεγκλεισμού για την μεταφορά και την ελεγχόμενη αποδέσμευση φαρμακευτικών ουσιών. Τα βιοαποικοδομήσιμα πολυμερικά σωματίδια (μικροσφαιρίδια, μικροκάψουλες και νανοσωματίδια) αποδεικνύονται εξαιρετικά χρήσιμα καθώς μπορούν να χορηγηθούν σε διάφορες *in vivo* τοποθεσίες μέσω ένεσης, ενώ διαθέτουν το πλεονέκτημα ότι διασπώνται σε βιοσυμβατά υποπροϊόντα μέσω χημικής ή ενζυμικά καταλυόμενης υδρόλυσης. Τα πολυμερή που χρησιμοποιούνται σε μικροσυστήματα μεταφοράς φαρμάκων είναι είτε φυσικά είτε συνθετικά. Τα πιο διαδεδομένα από τα φυσικά που αξιοποιούνται για τον σκοπό αυτό είναι οι πρωτεΐνες αλβουμινή και ζελατίνη καθώς και οι πολυσακχαρίτες χυτοζάνη και υαλουρονικό οξύ. Όσον αφορά τα συνθετικά πολυμερή, τα πιο διαδεδομένα σε αυτήν την κατηγορία είναι οι πολυεστέρες, οι πολυ(ορθο εστέρες), τα πολυφωσφαζένια και οι πολυανυδρίτες.

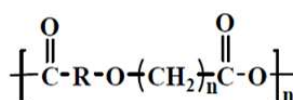
Συνθετικά πολυμερή



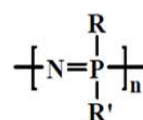
Πολυεστέρες



Πολυ(ορθο-εστέρες)

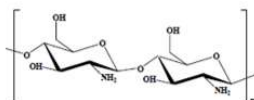


Πολυανυδρίτες

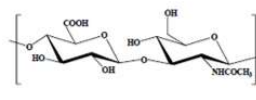


Πολυφωσφαζένια

Φυσικά πολυμερή



Χιτοζάνη



Γαλουρονικό οξύ

Εικόνα 3.2: Χημική δομή ευρέως χρησιμοποιούμενων πολυμερών σε σωματίδια μικροεγκλεισμού για μεταφορά και ελεγχόμενη αποδέσμευση φαρμακευτικών ουσιών

Οι αλειφατικοί πολυεστέρες, στους οποίους ανήκει και το πολύ(γαλακτικό οξύ) που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα διπλωματική εργασία, έχουν προσελκύσει σημαντικό ενδιαφέρον σαν πολυμερή σε μικροσωματίδια μεταφοράς φαρμάκων και αυτό εξαιτίας της ικανότητας τους για αποικοδόμηση και της εξαιρετικής βιοσυμβατότητας που παρουσιάζουν. Έξι αλειφατικοί πολυεστέρες και τα συμπολυμερή τους έχουν λάβει έγκριση από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Τροφίμων (FDA) για χρήση τους σε κλινικές εφαρμογές: η πολυ(ε-καπρολακτόνη) (PCL), το πολυ(γαλακτικό οξύ) (PGA), το πολυ(γλυκολικό οξύ) (PLA), το συμπολυμερές των δύο τελευταίων (PLGA), η πολυ(διοξανόνη) και το πολυ(τριμεθυλο-καρβονικό οξύ). Τα πολυμερή αυτά αποικοδομούνται με υδρόλυση των εστερικών δεσμών της κύριας αλυσίδας, είτε με επιφανειακή είτε με κυρίως διάβρωση και ο ρυθμός και η διάρκεια της αποικοδόμησης τους επηρεάζεται από παράγοντες όπως είναι η δομή του δείγματος, το αρχικό μοριακό βάρος, η εκτεθειμένη επιφάνεια και το μέγεθός του, ο βαθμός κρυσταλλικότητας, η υδροφοβικότητα, οι εφαρμοζόμενες σε αυτό τάσεις, η ποσότητα του υπολειπόμενου μονομερούς και στην περίπτωση συμπολυμερών η αναλογία των μονομερών υδροξυοξέων. Σε αυτήν την κατηγορία το συμπολυμερές PLGA αποτελεί το πιο ευρέως μελετημένο πολυμερές για μικροεγκλεισμούς φαρμάκων και θεραπευτικών παραγόντων σε συστήματα μεταφοράς και ελεγχόμενης αποδέσμευσης δραστικών ουσιών, καθώς ο βαθμός αποικοδόμησής του και οι μηχανικές του ιδιότητες μπορούν πολύ εύκολα να ρυθμιστούν, ρυθμίζοντας την αναλογία πολυ(γαλακτικού) και πολυ(γλυκολικού οξέος) και μεταβάλλοντας το μοριακό του βάρος [39],[40],[41].

3.1. Εισαγωγή στις τεχνικές μικροεγκλεισμού για την παρασκευή μικροκαψουλών

Μέχρι σήμερα έχει αναπτυχθεί ένας μεγάλος αριθμός τεχνικών μικροεγκλεισμού ενώ συνεχώς τροποποιούνται οι ήδη υπάρχουσες ή μελετώνται νέες τεχνικές προκειμένου να εξασφαλιστεί η επιθυμητή συμπεριφορά του προϊόντος για κάθε εφαρμογή. Οι τεχνικές μικροεγκλεισμού μπορούν να χωριστούν σε δύο τύπους: στις φυσικο-μηχανικές μεθόδους στις οποίες το συνεχές μέσο της διεργασίας είναι ο αέρας και στις φυσικο-χημικές μεθόδους στις οποίες το συνεχές μέσο που χρησιμοποιείται είναι το νερό ή κάποιος οργανικός διαλύτης [42].

Πίνακας 3.1: Τεχνικές μικροεγκλεισμού που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή μικροκαψουλών

Φυσικομηχανικές μέθοδοι	Φυσικοχημικές μέθοδοι
Ξήρανση με πήξη και εκνέφωση	Διαχωρισμός φάσεων κολλοειδών συστημάτων
Μέθοδος ρευστοστερεάς κλίνης	Μέθοδος γαλακτωματοποίησης με εξάτμιση του διαλύτη
Φυγοκεντρική εκβολή	Διεπιφανειακός πολυμερισμός
Επικάλυψη σε περιστρεφόμενο κύλινδρο	Πολυμερισμός In situ

Όσον αφορά τις φυσικομηχανικές μεθόδους, μία από τις πιο παλιές και ευρέως χρησιμοποιούμενες τεχνικές για τον μικροεγκλεισμό φαρμάκων είναι η τεχνική της Επικάλυψης σε Περιστρεφόμενο Κύλινδρο. Η τεχνική βασίζεται στην εκνέφωση του πολυμερικού υλικού της μεμβράνης στα σωματίδια της ενεργής ουσίας, τα οποία περιστρέφονται με μεγάλη ταχύτητα στον κύλινδρο της συσκευής. Η επικάλυψη με την διεργασία αυτή χρησιμοποιείται για στερεά σωματίδια με μέγεθος μεγαλύτερο από 600 μm. Η Φυγοκεντρική Εκβολή αποτελεί άλλη μία γνωστή τεχνική αυτής της κατηγορίας, που χρησιμοποιείται στα τρόφιμα για την προστασία κυρίως συστατικών που απορροφούν εύκολα υγρασία όπως είναι οι βιταμίνες και η ασπαρτάμη. Το υλικό που πρόκειται να εγκλειστεί με την μέθοδο αυτή μπορεί να είναι μόνο σε υγρή μορφή και οι κάψουλες που παραλαμβάνονται κυμαίνονται στην περιοχή μεγεθών 400-2000 μm. Στις προηγούμενες φυσικοχημικές μεθόδους έρχεται να προστεθεί και η μέθοδος της Ρευστοστερεάς Κλίνης, η οποία πρόκειται για μια διεργασία απλή, γρήγορη και συνήθως αυτοματοποιημένη. Αποτελεί εξέλιξη της επικάλυψης σε περιστρεφόμενο κύλινδρο και χρησιμοποιείται για την επικάλυψη και αυτή στερεών κυρίως σωματιδίων με υδατοδιαλυτά πολυμερικά υλικά ενώ κύριος τομέας εφαρμογής της αποτελεί ο μικροεγκλεισμός φαρμακευτικών ουσιών. Τέλος στην ομάδα αυτών των μεθόδων ανήκει και η Ξήρανση με Εκνέφωση με την οποία παρασκευάζονται τόσο

μικροκάψουλες όσο και μικροσφαιρίδια. Στην μέθοδο αυτή, το ενεργό συστατικό βρίσκεται διαλυμένο ή διεσπαρμένο μέσα σε ένα διάλυμα του πολυμερούς. Το διάλυμα αυτό στη συνέχεια ψεκάζεται από ένα ειδικά σχεδιασμένο ακροφύσιο σε ρεύμα θερμού αέρα, ο οποίος παρέχει την απαραίτητη θερμότητα εξάτμισης του διαλύτη για την απομάκρυνση του από το υλικό του τοιχώματος. Η τεχνική αυτή είναι απλή, οικονομική και χρησιμοποιείται κυρίως στην βιομηχανία των τροφίμων για τον εγκλεισμό αρωμάτων, ελαίων και παραγόντων γεύσης.



Εικόνα 3.3: Σχηματική αναπαράσταση Α) της συσκευής επικάλυψης σε περιστρεφόμενο κύλινδρο (αριστερά) και Β) της συσκευής ξήρανσης με εκνέφωση (δεξιά)

Όσον αφορά τις φυσικοχημικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή μικροκαψουλών, και σε αυτή την κατηγορία ανήκουν πολλές γνωστές και ευρέως χρησιμοποιούμενες τεχνικές. Ο Διαχωρισμός των Φάσεων Κολλοειδών Συστημάτων είναι μία από αυτές και αποτελεί μία από τις πρώτες τεχνικές που αναπτύχθηκαν για τον μικροεγκλεισμό ενεργών ουσιών. Κατά την συγκεκριμένη διεργασία, ένα ομογενές διάλυμα πολυμερούς διαχωρίζεται σε δύο φάσεις υπό την επίδραση της θερμοκρασίας, της αλλαγής του ΡΗ ή της προσθήκης ουσιών και το πολυμερές λαμβάνεται υπό την μορφή σταγονιδίων που στην συνέχεια επικάθονται γύρω από τον πυρήνα του ενεργού συστατικού σχηματίζοντας το πολυμερικό περίβλημα της μικροκάψουλας. Στις φυσικοχημικές μεθόδους ανήκουν και οι τεχνικές του Διεπιφανειακού Πολυμερισμού καθώς και του πολυμερισμού *In situ*. Με την μέθοδο του διεπιφανειακού πολυμερισμού παράγονται μεμβράνες-κελύφη πολυαμιδίου, πολυουρίας, πολυουρεθάνης ή πολυκαρβονικών οξέων, με κατάλληλη επιλογή των δύο μονομερών. Η αρχή της μεθόδου του Διεπιφανειακού Πολυμερισμού, βασίζεται σε μία αντίδραση πολυσυμπύκνωσης η οποία λαμβάνει χώρα στην διεπιφάνεια δύο μη αναμίξιμων φάσεων, ανάμεσα σε ένα χλωρίδιο και ένα μονομερές που περιέχει ενεργά άτομα υδρογόνου όπως μία αμίνη ή μία αλκοόλη. Η ουσία που πρόκειται να εγκλειστεί βρίσκεται διεσπαρμένη στην μία από τις δύο φάσεις μαζί με ένα από τα μονομερή. Ο πολυμερισμός *In situ* διαφέρει από τον επιφανειακό πολυμερισμό στο ότι το μονομερές

ή τα μονομερή προστίθενται στην μία από τις δύο φάσεις. Στον πολυμερισμό *In situ*, το υλικό που αποτελεί τον πυρήνα μπορεί να είναι είτε στερεό είτε υγρό και πρέπει να είναι αδιάλυτο στο μέσο διασποράς ενώ με την τεχνική αυτή παράγονται κάψουλες από πολυστυρένιο, πολυουρεθάνη και δικτυωμένη ουρία-φορμαλδεΐδη. Αξίζει να σημειωθεί ότι τόσο ο Διεπιφανειακός όσο και ο πολυμερισμός *In situ* αποτελούν δυο τεχνικές κατά τις οποίες πραγματοποιείται σύνθεση του πολυμερούς από τα μονομερή του για την δημιουργία του κελύφους των καψουλών. Τέλος στην κατηγορία των φυσικοχημικών μεθόδων ανήκει και η Μέθοδος Γαλακτωματοποίησης και Εξάτμισης του Διαλύτη [37,38,43,44,45,46].

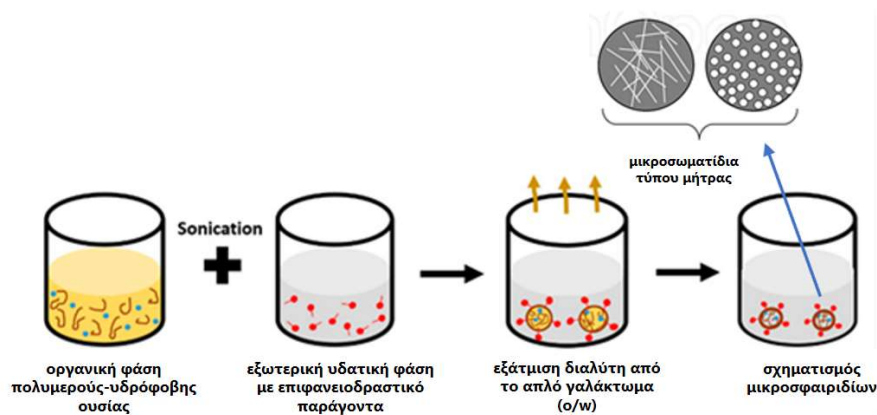
3.2. Μέθοδος γαλακτωματοποίησης και εξάτμισης του διαλύτη

Η μέθοδος μικροεγκλεισμού μέσω γαλακτωματοποίησης και εξάτμισης του διαλύτη (Emulsification Solvent Evaporation Technique), είναι ιδιαίτερα γνωστή στην Βιομηχανία των φαρμάκων, για την παρασκευή φαρμακευτικών προϊόντων με ελεγχόμενο ρυθμό αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας. Πραγματοποιείται με πολλές διαφορετικές τεχνικές και η επιλογή της εκάστοτε τεχνικής εξαρτάται από τον υδρόφοβο ή τον υδρόφιλο χαρακτήρα του φαρμάκου που πρόκειται να εγκλειστεί. Οι δύο κυριότερες τεχνικές που χρησιμοποιούνται στην γαλακτωματοποίηση με εξάτμιση του διαλύτη είναι αυτή του απλού γαλακτώματος ή γαλακτώματος ελαιώδους σε υδατική φάση (oil in water, o/w) καθώς και αυτή του διπλού γαλακτώματος ή γαλακτώματος [υδατικής σε ελαιώδη] σε εξωτερική υδατική φάση (water in oil in water, w/o/w). Η τεχνική του απλού γαλακτώματος (o/w) χρησιμοποιείται για τον εγκλεισμό υδρόφοβων δραστικών ουσιών ενώ η τεχνική του διπλού γαλακτώματος (w/o/w) χρησιμοποιείται κυρίως για τον εγκλεισμό υδρόφιλων. Αξίζει να σημειωθεί ότι εκτός από τις δύο κύριες αυτές τεχνικές που θα αναλυθούν παρακάτω συναντώνται και άλλες όπου χρησιμοποιούνται διάφορα είδη γαλακτώματος όπως γαλάκτωμα ελαιώδους σε ελαιώδη φάση (o/o) και γαλάκτωμα [διαλύτη σε ελαιώδη] σε εξωτερική υδατική φάση (s/o/w) [47],[48].

3.2.1. Τεχνική απλού γαλακτώματος (o/w)

Κατά την τεχνική αυτή το πολυμερές και η υδρόφοβη δραστική ουσία διαλύονται αρχικά σε έναν πτητικό οργανικό διαλύτη (π.χ. διχλωρομεθάνιο, χλωροφόρμιο, οξικός αιθυλεστέρας). Το απλό γαλάκτωμα σχηματίζεται με προσθήκη της οργανικής φάσης σε μία δεύτερη υδατική φάση που περιέχει έναν γαλακτωματοποιητή. Η προσθήκη γίνεται υπό την εφαρμογή υπερήχων ή ταχείας ομογενοποίησης και μέντα τον σχηματισμό το απλό γαλάκτωμα αφήνεται σε απλή ανάδευση ή σε αυξημένη θερμοκρασία και σε μειωμένη πίεση προκειμένου να εξατμιστεί ο διαλύτης. Καθώς ο διαλύτης εξατμίζεται από τις σταγόνες του γαλακτώματος, αυτές μετατρέπονται σε στερεά πολυμερικά σφαιρίδια που περιέχουν εγκλωβισμένο το ενεργό συστατικό. Τα σωματίδια στην συνέχεια συλλέγονται με φυγοκέντριση και εκπλένονται με νερό με

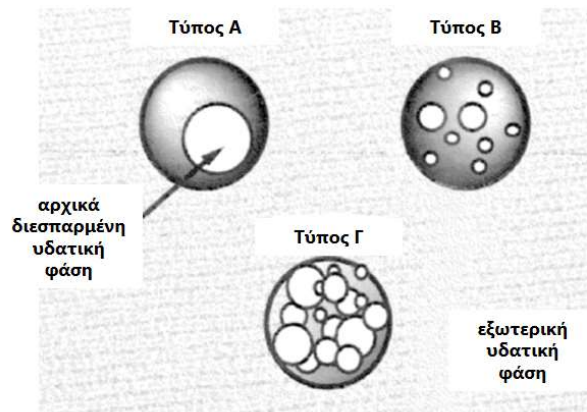
στόχο την απομάκρυνση του υπολειπομένου σταθεροποιητή ή της φαρμακευτικής ουσίας που δεν έχει εγκλειστεί. Τέλος αφού υποβληθούν σε ψυχρή ξήρανση για απομάκρυνση της υγρασίας παραλαμβάνονται σε μορφή πούδρας [49].



Εικόνα 3.4: Τεχνική απλού γαλακτώματος (oil in water)

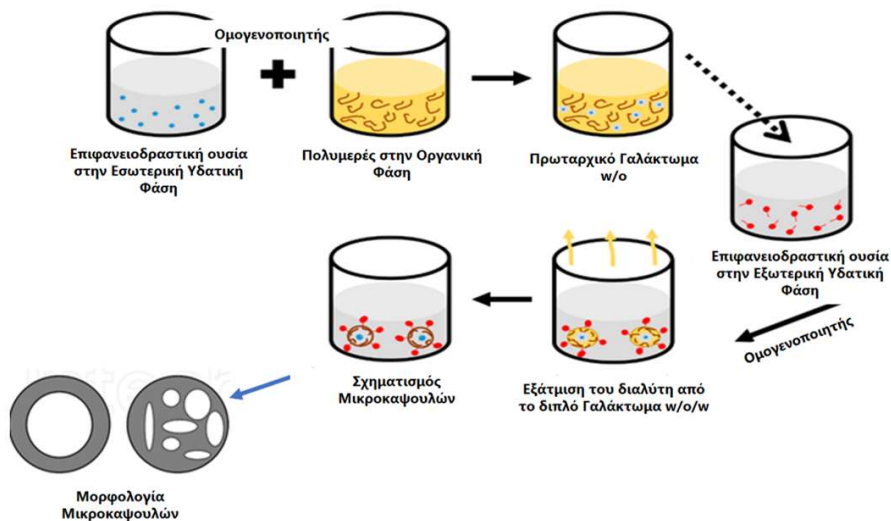
3.2.2. Τεχνική διπλού γαλακτώματος (w/o/w)

Η τεχνική του διπλού γαλακτώματος χρησιμοποιείται ευρέως για τον μικροεγκλεισμό υδρόφιλων μορίων όπως για πρωτεΐνες, πεπτίδια και για αντιγόνα σε εμβόλια. Κατά την τεχνική αυτή, αρχικά δημιουργούνται μία εσωτερική υδατική φάση στην οποία διαλύεται η υδρόφιλη δραστική ουσία μαζί με τον γαλακτωματοποιητή και μία οργανική φάση στην οποία βρίσκεται διαλυμένο το πολυμερές. Στο πρώτο στάδιο η εσωτερική υδατική φάση προστίθεται υπό συνεχή ανάδευση στην οργανική φάση του πολυμερούς και σχηματίζεται έτσι ένα πρωταρχικό απλό γαλάκτωμα (υδατική φάση σε ελαιώδη) (w/o). Κατά το δεύτερο στάδιο το απλό αυτό γαλάκτωμα προστίθεται υπό συνεχή ανάδευση σε μία δεύτερη εξωτερική υδατική φάση η οποία επίσης περιέχει επιφανειοδραστική ουσία και σχηματίζεται κατά αυτόν τον τρόπο το διπλό γαλάκτωμα ([υδατική σε ελαιώδη] σε εξωτερική υδατική φάση) (w/o/w). Στην συνέχεια το διπλό γαλάκτωμα αφήνεται προκειμένου να εξατμιστεί ο διαλυτής όπως ακριβώς και στην τεχνική του απλού γαλακτώματος. Με την τεχνική αυτή σχηματίζονται μικροσωματίδια που έχουν την μορφή μικροκαψουλών ενός πυρήνα ή πολλών πυρήνων όπως φαίνεται στην εικόνα (3.5).



Εικόνα 3.5: Τύποι μικροκαψουλών που παραλαμβάνονται με την τεχνική του διπλού γαλακτώματος (w/o/w)

Οι μικροκάψουλες και εδώ συλλέγονται με φυγοκέντρηση και εκπλένονται με νερό για απομάκρυνση του επιφανειοδραστικού παράγοντα και της μη εγκλεισμένης δραστική ουσίας και αφού υποβληθούν σε λυοφιλίωση παραλαμβάνονται σε μορφή σκόνης [49],[50].



Εικόνα 3.6: Τεχνική του διπλού γαλακτώματος (w/o/w)

3.2.3. Παράμετροι της διεργασίας

Ένας από τους κυριότερους παράγοντες της διεργασίας παρασκευής μικροσωματιδίων με την μέθοδο γαλακτωματοποίησης με εξάτμιση του διαλύτη είναι η διαφορά διαλυτότητας του πολυμερούς στον οργανικό διαλύτη και στην εξωτερική υδατική

φάση. Η σχέση των παραπάνω δύο τιμών διαλυτότητας δείχνει την ικανότητα του εκάστοτε διαλύτη να απομακρύνεται από τις πολυμερικές σταγόνες και από το μέσο διασποράς. Ο πιο κοινός διαλύτης πολυμερούς που χρησιμοποιείται στην τεχνική του απλού και του διπλού γαλακτώματος είναι το διχλωρομεθάνιο (DCM) εξαιτίας της μεγάλης πτητικότητας που επιτρέπει την γρήγορη εξάτμισή του και εξαιτίας της ικανότητάς του να διαλύει μια μεγάλη ποικιλία πολυμερών. Ωστόσο τα τελευταία χρόνια γίνονται προσπάθειες αντικατάστασής του με άλλους διαλύτες όπως ο Οξικός αιθυλεστέρας, εξαιτίας της υψηλής τοξικότητας που εμφανίζει.

Οι βασικές ιδιότητες που χαρακτηρίζουν τα παραγόμενα μικροσωματίδια με τις τεχνικές του απλού και του διπλού γαλακτώματος, είναι το μέγεθος και η κατανομή του μεγέθους τους, η επιφανειακή τους μορφολογία, η ικανότητα διασποράς τους σε υδατικό μέσο καθώς και το ποσοστό της εγκλεισμένης ουσίας σε αυτά. Εκτός από την βασική παράμετρο της διαλυτότητας του πολυμερούς στον οργανικό διαλύτη που αναφέρθηκε παραπάνω, άλλες κύριες παράμετροι της μεθόδου που καθορίζουν αυτές τις ιδιότητες των μικροσωματιδίων είναι οι ακόλουθες:

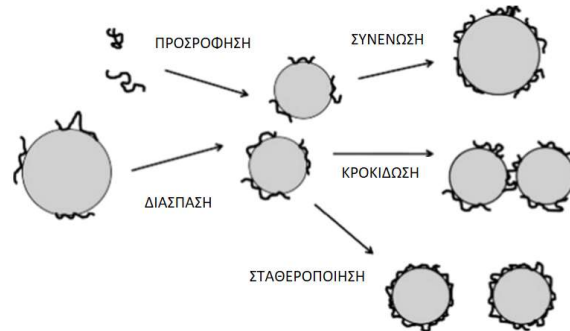
- Ο ρυθμός ανάδευσης κατά την διάρκεια του σχηματισμού του γαλακτώματος. Η αύξηση του ρυθμού ανάδευσης έχει βρεθεί ότι οδηγεί σε μείωση του μεγέθους των παραγόμενων μικροσωματιδίων.
- Ο τύπος και η συγκέντρωση του πολυμερούς. Γενικά όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του πολυμερούς αυξάνεται και το μέγεθος των παραγόμενων σωματιδίων διότι αυξάνεται το ιξώδες του πολυμερικού διαλύματος και κατά συνέπεια του γαλακτώματος. Το ίδιο συμβαίνει και με το μοριακό βάρος του πολυμερούς. Αύξηση του μοριακού βάρους οδηγεί σε αύξηση του ιξώδους της οργανικής φάσης και κατά συνέπεια σε αύξηση του μεγέθους των σωματιδίων. Ακόμα έχει βρεθεί ότι η αύξηση του μοριακού βάρους του πολυμερούς οδηγεί και σε αύξηση της απόδοσης εγκλεισμού.
- Το κλάσμα του όγκου της διεσπαρμένης προς την συνεχή φάση. Συνήθως όσο αυξάνεται το κλάσμα όγκου της οργανικής προς την εξωτερική υδατική φάση αυξάνεται και το μέγεθος των σωματιδίων, εξαιτίας της αύξησης της συγκέντρωσης των σταγόνων της οργανικής φάσης και επομένως της πιθανότητας οι σταγόνες να ενωθούν μεταξύ τους πριν την απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη.
- Ο τύπος του οργανικού διαλύτη. Τα τέσσερα βασικά κριτήρια που πρέπει να πληρεί ο διαλύτης της οργανικής φάσης είναι να διαλύει το πολυμερές που έχει επιλεχθεί για την διεργασία, να εμφανίζει πολύ χαμηλή διαλυτότητα στην εξωτερική υδατική φάση, να εμφανίζει υψηλή πτητικότητα και χαμηλό σημείο βρασμού και να μην παρουσιάζει υψηλή τοξικότητα. Αξίζει να αναφερθεί ότι η εμφάνιση υψηλής διαλυτότητας του οργανικού διαλύτη στην συνεχή φάση οδηγεί σε ταχεία στερεοποίηση του πολυμερούς σχηματίζοντας ένα πυκνό πολυμερικό κέλυφος γύρω από την σταγόνα το οποίο δεν μπορεί να

συρρικνωθεί περισσότερο και το οποίο τελικά οδηγεί στην κατάρρευση των σωματιδίων όταν ο υπόλοιπος διαλύτης εξάγεται από τον πυρήνα.

- Η θερμοκρασία της διεργασίας. Οι υψηλότερες και οι χαμηλότερες θερμοκρασίες οδηγούν στον σχηματισμό μεγαλύτερων σωματιδίων ενώ στις ενδιάμεσες θερμοκρασίες παράγονται μικρότερα σωματίδια. Στις υψηλότερες θερμοκρασίες η εξάτμιση του διαλύτη πραγματοποιείται με γρήγορο ρυθμό οδηγώντας στον σχηματισμό μεγαλύτερων σωματιδίων ενώ στις χαμηλότερες θερμοκρασίες αυξάνεται το ιξώδες του οργανικού διαλύτη επιφέροντας το ίδιο αποτέλεσμα. Ακόμα οι ενδιάμεσες προς υψηλές θερμοκρασίες έχει αποδειχτεί ότι οδηγούν στην εμφάνιση μειωμένου πορώδους όσον αφορά την μορφολογία των μικροκαψουλών ωστόσο οι υπερβολικά υψηλές θερμοκρασίες επιφέρουν το αντίθετο αποτέλεσμα εξαιτίας της πολύ γρήγορης εξάτμισης του διαλύτη.
- Η ποσότητα της εσωτερικής υδατικής φάσης. Στην τεχνική του διπλού γαλακτώματος έχει βρεθεί ότι το πορώδες των σωματιδίων αυξάνεται με την περιεχομένη ποσότητα νερού στο πρωταρχικό γαλάκτωμα (w/o). Η μείωση της εσωτερικής υδατικής φάσης φαίνεται να μειώνει το πορώδες των σχηματιζόμενων σωματιδίων.
- Η ποσότητα της δραστικής ουσίας. Έχει παρατηρηθεί ότι η αύξηση της ποσότητας της δραστικής ουσίας βελτιώνει την απόδοση εγκλεισμού. Η εξήγηση που έχει δοθεί από ερευνητές για το φαινόμενο αυτό είναι ότι οι απώλειες της δραστικής ουσίας στην συνεχή εξωτερική φάση παραμένουν σταθερές όταν δεν μεταβάλλονται οι υπόλοιπες συνθήκες της διεργασίας και έτσι η αύξηση της ποσότητας του φαρμάκου αυξάνει το ποσοστό του φαρμάκου που ενθυλακώνεται. Ωστόσο σε υπερβολικά υψηλές ποσότητες δραστικής ουσίας η απόδοση εγκλεισμού πέφτει.
- Ο τύπος και η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή. Ο ρόλος του γαλακτωματοποιητή στην διαμόρφωση των τελικών χαρακτηριστικών των μικροσωματιδίων είναι καθοριστικός και για αυτό η παράμετρος αυτή αναλύεται μεμονωμένα στις ακόλουθες παραγράφους. [47],[51],[52],[53].

Οι γαλακτωματοποιητές είναι ουσίες που συμβάλλουν στον σχηματισμό και στην σταθεροποίηση ενός γαλακτώματος. Κατά τον σχηματισμό ενός γαλακτώματος η ανάδευση παράγει ρεύματα και των δύο φάσεων που αναμιγνύονται, τα οποία καταμερίζονται σχηματίζοντας μικροσκοπικές σταγόνες. Ο τύπος του γαλακτώματος καθορίζεται από τους σχετικούς ρυθμούς της συσσωμάτωσης των σταγόνων της ίδιας φάσης. Η φάση που συσσωματώνεται γρηγορότερα σχηματίζει την συνεχή φάση ενώ ο γαλακτωματοποιητής προσροφάται στην διεπιφάνεια της άλλης φάσης παρεμποδίζοντας την συσσωμάτωσή της και διατηρώντας την σε μικκύλια. Η βασική λειτουργία του γαλακτωματοποιητή είναι να διατηρεί τα μικκύλια απομακρυσμένα και να μειώνει την επιφανειακή τάση καθιστώντας εύκολο τον σχηματισμό μιας νέας επιφάνειας. Οι γαλακτωματοποιητές είναι αμφιφιλικά μόρια, αποτελούνται δηλαδή από ένα υδρόφιλο τμήμα που σχηματίζει δεσμούς με

την υδατική φάση και από ένα υδρόφοβο που σχηματίζει δεσμούς με την οργανική φάση.



Εικόνα 3.7: Περιπτώσεις επιτυχημένης και μη επιτυχημένης δράσης του γαλακτωματοποιητή.

Η Πολυβινυλική αλκοόλη (PVA) είναι ένας σημαντικός βιομηχανικός σταθεροποιητής συστημάτων διασποράς που χρησιμοποιείται εκτενώς ως σταθεροποιητής-γαλακτωματοποιητής σε γαλακτώματα ελαίου/ύδατος. Οι οξικές ομάδες των πολυμερικών αλυσίδων του PVA που έρχονται σε επαφή με την υδρόφοβη οργανική φάση υιοθετούν διαμορφώσεις προς την επιφάνεια της σταγόνας σχηματίζοντας ένα προστατευτικό υδρόφοβο στρώμα γύρω από αυτήν. Η σταθερότητα του γαλακτώματος εξαρτάται σημαντικά τόσο από τον τύπο του PVA (π.χ. μοριακό βάρος, βαθμός υδρόλυσης) όσο και από την συγκέντρωσή του. Όσον αφορά την συγκέντρωση του σταθεροποιητή-γαλακτωματοποιητή, αύξηση της συγκέντρωσης αυτού οδηγεί στον σχηματισμό μικρότερων σωματιδίων. Αυτό συμβαίνει διότι η υψηλή συγκέντρωση γαλακτωματοποιητή μειώνει σημαντικά την επιφανειακή τάση και σταθεροποιεί τις νέες επιφάνειες που δημιουργούνται οδηγώντας στον σχηματισμό μικρότερων σταγονιδίων. Όσον αφορά τον τύπο του PVA έχει μελετηθεί η επίδραση του μοριακού βάρους καθώς και του βαθμού υδρόλυσης αυτού στα τελικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων μικροσωματιδίων. Η χρησιμοποίηση PVA υψηλότερου μοριακού βάρους έχει αποδειχθεί ότι οδηγεί στον σχηματισμό μεγαλύτερων μικροσωματιδίων γεγονός που οφείλεται στην αύξηση του ιξώδους της εξωτερικής υδατικής φάσης. Ακόμα έχει βρεθεί ότι η μεταβολή των ομάδων του οξικού εστέρα (δηλαδή του βαθμού υδρόλυσης του PVA) μπορεί να μεταβάλλει την υδροφοβικότητα του πολυμερούς. Το PVA μεγάλου μοριακού βάρους και χαμηλού σχετικά βαθμού υδρόλυσης φαίνεται να προσροφάται πιο ισχυρά στην επιφάνεια των σωματιδίων που πρόκειται να σταθεροποιήσει. Ωστόσο σε βαθμό υδρόλυσης κάτω από 80% η μειωμένη διαλυτότητα του PVA περιορίζει την χρήση του [42],[54],[55].

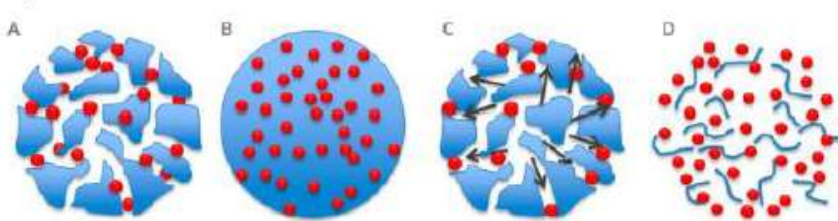
3.3. Αποδέσμευση δραστικών ουσιών από πολυμερικά συστήματα μικροεγκλεισμού

3.3.1. Μηχανισμοί αποδέσμευσης

Η αποδέσμευση της εγκλεισμένης ουσίας, από τα πολυμερικά συστήματα, συνήθως αναφέρεται στον τρόπο με τον οποίο η δραστική ουσία μεταφέρεται από το εσωτερικό του πολυμερούς στην εξωτερική επιφάνεια του και έπειτα στον τρόπο με τον οποίο αυτή απελευθερώνεται στο υδατικό περιβάλλον.

Οι κύριοι μηχανισμοί αποδέσμευσης της εγκλεισμένης ουσίας από τα συστήματα αυτά είναι:

1. Η διάχυση μέσω πόρων πληρωμένων με νερό
2. Η διάχυση μέσω του πολυμερούς
3. Η ωσμωτική άντληση
4. Η διάβρωση



Εικόνα 3.8: Μηχανισμοί αποδέσμευσης: Α) Διάχυση μέσω πόρων νερού, Β) Διάχυση μέσω του πολυμερούς, Γ) Ωσμωτική άντληση, Δ) Διάβρωση

Παρακάτω αναλύονται περισσότερο οι μηχανισμοί αυτοί. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο μηχανισμός της διάβρωσης συνήθως εμφανίζεται μετά από μια αρχική χρονική περίοδο στην οποία κυρίαρχοι μηχανισμοί αποδέσμευσης είναι οι μηχανισμοί της διάχυσης.

Διάχυση μέσω πόρων πληρωμένων με νερό: Ο μηχανισμός αυτός περιγράφει τις τυχαίες κινήσεις των μορίων της δραστικής ουσίας με κινητήριο δύναμη τη βαθμίδωση συγκέντρωσης. Σε βιοαποικοδομήσιμα πολυμερικά συστήματα, ο ρυθμός αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας ελέγχεται από τη διάχυση μέσω ενός δικτύου από πόρους, με δυναμικές δομές, καθώς το πολυμερές αποικοδομείται. Το νερό απορροφάται άμεσα από το πολυμερές, διεργασία αρκετά πιο γρήγορη από την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας. Το νερό το οποίο καταλαμβάνει το πολυμερές, με την πάροδο του χρόνου, οδηγεί σε πόρους πλήρεις με νερό. Τελικά, οι πόροι

πολλαπλασιάζονται και αυξάνονται σε μέγεθος, ικανό πλέον για την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας.

Διάχυση μέσω του πολυμερούς: Σε αυτό το μηχανισμό τα μόρια της δραστικής ουσίας διαχέονται δια μέσω του πολυμερούς. Σε συστήματα μικροεγκλεισμού μη βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών η διάχυση είναι η κινητήριος δύναμη της αποδέσμευσης της δραστικής ουσία και πραγματοποιείται με σταθερό ρυθμό που δεν εξαρτάται από την βαθμίδωση συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας αλλά από τις ιδιότητες της πολυμερικής μεμβράνης (πάχος και διαπερατότητα).

Ωσμωτική άντληση: Η ωσμωτική άντληση αποτελεί έναν ακόμη μηχανισμό μεταφοράς δραστικής ουσίας μέσω των πόρων νερού με κινητήριο δύναμη την συναγωγή και όχι τη διάχυση. Η ροή του νερό σε ένα μη διογκούμενο σύστημα προκαλείται από την ωσμωτική πίεση και η μεταφορά δραστικής ουσίας, ως αποτέλεσμα αυτής της δύναμης, αναφέρεται ως ωσμωτική άντληση. Ο σχεδιασμός και η δημιουργία ωσμωτικών συστημάτων μεταφοράς δραστικών ουσιών χρησιμοποιώντας ημιδιαπερατές μεμβράνες και ωσμογόνα είναι ένας τομέας υπό διερεύνηση.

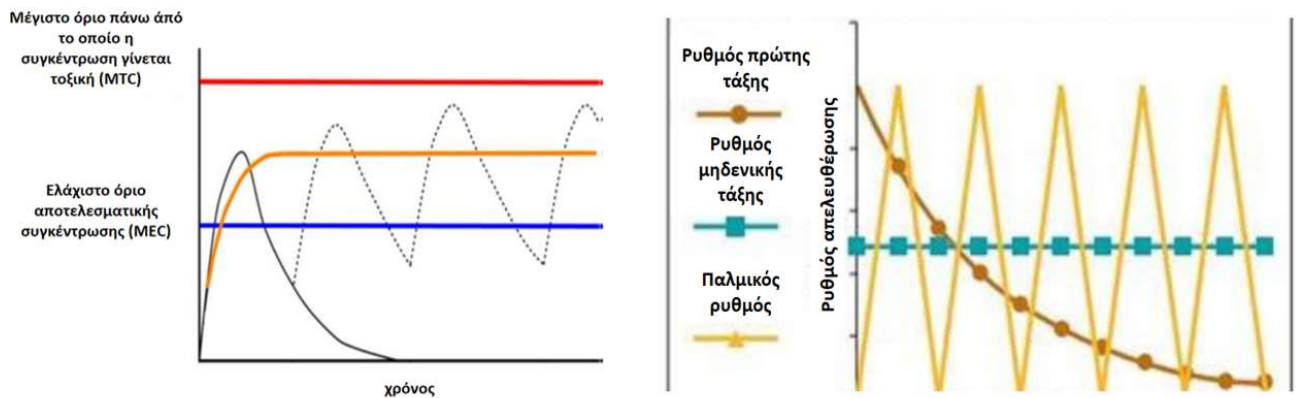
Διάβρωση: Η διάβρωση χωρίζεται σε δύο επιμέρους μηχανισμούς την επιφανειακή και την κυρίως διάβρωση:

- Η επιφανειακή διάβρωση πραγματοποιείται όταν η αποικοδόμηση του πολυμερούς ξεκινά στην επιφάνεια του φορέα, μειώνοντας με αργό ρυθμό το μέγεθος του φορέα από έξω προς τα μέσα και αυτό συμβαίνει όταν ο ρυθμός της διάβρωσης είναι μεγαλύτερος από το ρυθμό διείσδυσης του νερού στο πολυμερές. Η επιφανειακή διάβρωση είναι ιδανική για πολλές εφαρμογές μεταφοράς δραστικής ουσίας καθώς η κινητική της διάβρωσης (οπότε και η αποδέσμευση της εγκλεισμένης ουσίας) είναι ελεγχόμενη και αναπαραγωγίσιμη. Επιπροσθέτως, ο αργός ρυθμός διαπερατότητας του νερού είναι ιδανικός για φάρμακα ευαίσθητα στο νερό.
- Η κυρίως διάβρωση πραγματοποιείται όταν το νερό εισχωρεί στο κύριο όγκο του πολυμερούς με αποτέλεσμα την ομοιόμορφη αποικοδόμηση του πολυμερούς. Ο ρυθμός διείσδυσης του νερού είναι μεγαλύτερος από τον ρυθμό διάβρωσης, με αποτέλεσμα την υδρόλυση ολόκληρου του πολυμερούς. Αυτού του είδους η διάβρωση είναι λιγότερη προβλέψιμη από την επιφανειακή και δεν παρέχει προστασία στις δραστικές ουσίες από τον περιβάλλοντα χώρο καθιστώντας αυτόν το μηχανισμό ελεγχόμενης μεταφοράς δραστικής ουσίας μη βέλτιστο [56].

3.3.2. *Κινητική αποδέσμευσης*

Υπάρχουν διάφορα προφίλ αποδέσμευσης όπως η συμβατική (first-order release), η ελεγχόμενη (zero-order release) και η παλμική (pulsatile release) ανάλογα με τον τρόπο και τον ρυθμό αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας. Η θεραπευτική δράση της

απελευθερωμένης ουσίας βρίσκεται, όπως φαίνεται στην εικόνα (3.9), ανάμεσα στο μέγιστο όριο όπου η συγκέντρωση γίνεται τοξική (maximum toxic concentration (MTC)) και στο ελάχιστο όριο όπου η συγκέντρωση δεν έχει αποτελεσματική δράση (minimum effective concentration (MEC))[54].



Εικόνα 3.9: Διάγραμμα που δείχνει τα όρια της θεραπευτικής δράσης της ουσίας και διάγραμμα με τα προφίλ αποδέσμευσης.

Τα δύο κυριότερα κινητικά μοντέλα που περιγράφουν την αποδέσμευση από τις μικροκάψουλες και τα μικροσφαιρίδια είναι το μοντέλο της μηδενικής τάξης και το μοντέλο πρώτης τάξης:

- Στο μοντέλο μηδενικής τάξης (zero order release) η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας είναι συνάρτηση του χρόνου και η διεργασία γίνεται με σταθερό ρυθμό ανεξαρτήτως της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας. Η εξίσωση για το κινητικό μοντέλο αποδέσμευσης μηδενικής τάξης είναι:

$$C_t = C_0 - K_0 * t$$

Εξίσωση 2

Όπου:

C_0 : Η αρχική ποσότητα της δραστικής ουσίας στο διάλυμα

C_t : Η ποσότητα της δραστικής ουσίας που διαλύεται στο χρόνο t

K_0 : Η σταθερά αποδέσμευσης μηδενικής τάξης

t: Ο χρόνος

- Στο μοντέλο πρώτης τάξης (first order release) ο ρυθμός αποδέσμευσης εξαρτάται από την συγκέντρωση της δραστικής ουσίας και όσο μειώνεται η συγκέντρωση της δραστικής ουσίας στο εσωτερικό του φορέα τόσο μειώνεται

και ο ρυθμός. Η εξίσωση για το κινητικό μοντέλο αποδέσμευσης πρώτης τάξης είναι:

$$\log Q_t = \log Q_0 + (K * t)/2.303$$

Εξίσωση 3

Όπου:

Q_0 : Η αρχική ποσότητα της δραστικής ουσίας στο διάλυμα

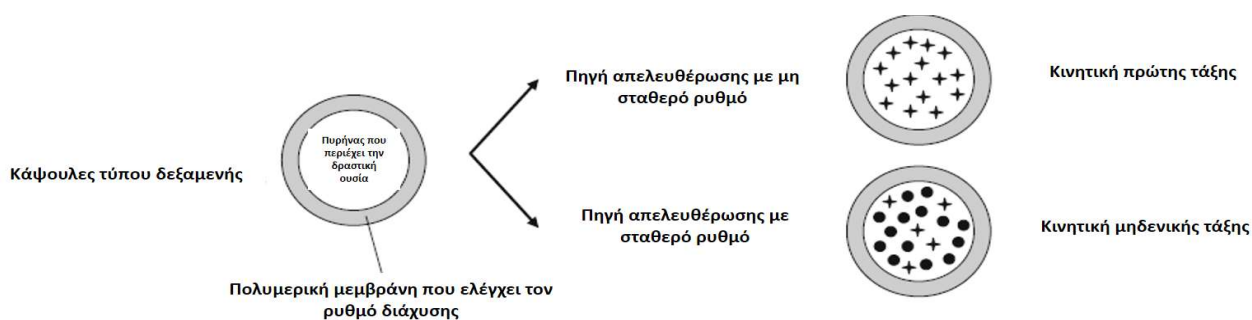
Q_t : Η ποσότητα της δραστικής ουσίας που διαλύεται στον χρόνο t

K : Η σταθερά αποδέσμευσης πρώτης τάξης

t : Ο χρόνος [57]

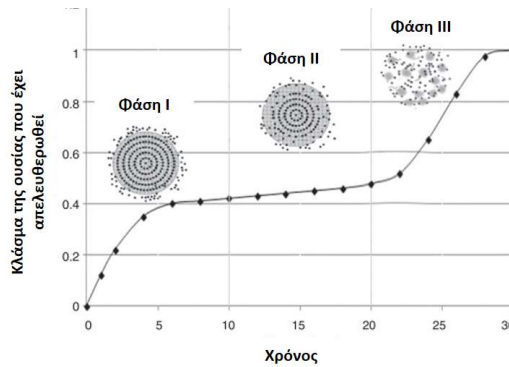
Το ιδανικότερο προφίλ το οποίο επιδιώκεται για τα περισσότερα φάρμακα είναι εκείνο της ελεγχόμενης σταθερής αποδέσμευσης που περιγράφεται με το κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης (zero-order release).

Τα συστήματα μικροκαψουλών τύπου δεξαμενής μπορούν να λειτουργήσουν τόσο ως πηγές αποδέσμευσης με σταθερό ρυθμό όσο και ως πηγές αποδέσμευσης με μη σταθερό ρυθμό. Όταν οι μικροκάψουλες βρεθούν στο υδατικό μέσο απελευθέρωσης, το νερό διαποτίζει την μεμβράνη των μικροκαψουλών και διαχέεται στο εσωτερικό ξεκινώντας να διαλύει την δραστική ουσία του πυρήνα. Αν η συγκέντρωση της δραστικής ουσίας του πυρήνα είναι κάτω από την τιμή της διαλυτότητάς της στο υδατικό μέσο, τότε ολόκληρη η ποσότητα του φαρμάκου θα διαλυθεί γρήγορα και η μικροκάψουλα θα συμπεριφερθεί ως πηγή αποδέσμευσης με μη σταθερό ρυθμό ακολουθώντας κινητική πρώτης τάξης. Αυτό συμβαίνει διότι τα μόρια της ουσίας που απελευθερώνονται δια μέσου της μεμβράνης δεν αντικαθιστούνται με την διάλυση νέων μορίων με αποτέλεσμα η συγκέντρωση στο εσωτερικό της μεμβράνης συνεχώς να μικραίνει. Σαν αποτέλεσμα μειώνεται η βαθμίδωση συγκέντρωσης στις δύο πλευρές της μεμβράνης μειώνοντας τον ρυθμό αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας. Αντίθετα αν η συγκέντρωση της δραστικής ουσίας του πυρήνα έχει περιορισμένη διαλυτότητα, τα μόρια της ουσίας που απελευθερώνονται μέσω της μεμβράνης αντικαθιστούνται από την διάλυση νέων μορίων της ουσίας του πυρήνα που δεν έχει διαλυθεί ακόμα. Έτσι η βαθμίδωση της συγκέντρωσης, η οποία προκαλεί την αποδέσμευση, παραμένει σταθερή όσο υπάρχει αδιάλυτη ουσία στον πυρήνα και το σύστημα ακολουθεί κινητικής μηδενικής τάξης και συμπεριφέρεται σαν πηγή αποδέσμευσης με σταθερό ρυθμό [58].



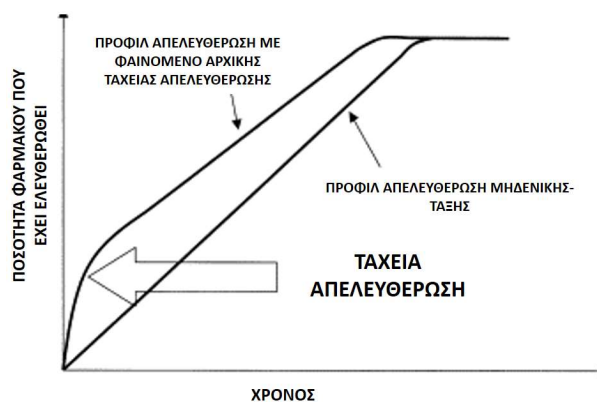
Εικόνα 3.10: Τρόποι αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας από συστήματα μικροκαψουλών τύπου δεξαμενής υπό την προϋπόθεση ότι η αποδέσμευση δεν επηρεάζεται από άλλους διαβρωτικούς ή ωσμωτικούς μηχανικούς καθώς και από το μέγεθος των σωματιδίων.

Αν και το προφίλ αποδέσμευσης μηδενικής τάξης θεωρείται όπως προαναφέρθηκε το ιδανικότερο και είναι αυτό που επιδιώκεται, τα περισσότερα πολυμερικά μικροσυστήματα εγκλεισμού που χρησιμοποιούνται για μεταφορά φαρμάκων παρουσιάζουν ελεγχόμενη αποδέσμευση που αποτελείται από διφασικά ή τριφασικά προφίλ. Η φάση (I) αναφέρεται ως έκρηξη αποδέσμευσης (burst release) και είναι η γρήγορη αποδέσμευση των μορίων του φαρμάκου που βρίσκονται κοντά στην επιφάνεια του πολυμερούς. Η φάση (II) είναι μια σταδιακή αποδέσμευση όπου πραγματοποιείται αργή διάχυση του φαρμάκου μέσω της δομής του πολυμερούς η μέσω των πόρων του και ταυτόχρονα γίνεται υδρόλυση και διάσπαση του πολυμερούς. Η φάση (III) αποτελεί μια γρήγορη αποδέσμευση, μιας και αρχίζει η αποικοδόμηση του πολυμερούς οπότε το φάρμακο διαχέεται στο υδατικό μέσο κατευθείαν. Πρέπει να αναφερθεί πως η φάση (I), η ταχεία δηλαδή αρχική αποδέσμευση (burst release) (εικόνα (3.11)), είναι ιδανικό να αποφεύγετε καθώς πρόκειται για μία αποδέσμευση μη προβλέψιμη και μη ελεγχόμενης διάρκειας και ποσότητας. Αυτό εξαρτάται βέβαια και ανάλογα με την περιοχή εφαρμογής του φαρμάκου ωστόσο μπορεί να οδηγήσει σε τοξικότητα αφού σχετίζεται με αποδέσμευση υψηλής δόσης σε ένα γρήγορο χρονικό διάστημα. Οι λόγοι που προκαλούνε το φαινόμενο αυτό είναι πολύ και διάφοροι, όπως οι συνθήκες αποθήκευσης των μικροσωματιδίων όπου μπορεί να έχουν επιφέρει την διάχυση της ουσίας στην επιφάνεια του πολυμερούς, η διάχυση και η μετανάστευση κρυστάλλων της ουσίας κατά την διαδικασία παρασκευής των φορέων, η χρησιμοποίηση μεγάλης ποσότητας φαρμάκου σε σχέση με την ποσότητα του πολυμερούς και άλλοι πολλοί.



Σχήμα 3.1: Τριφασικό προφίλ αποδέσμευσης από πολυμερικά μικροσυστήματα εγκλεισμού.

Μελέτες έχουν δείξει ότι η διαφορά στη συγκέντρωση (βαθμίδωση συγκέντρωσης) και το σχήμα του φορέα της δραστικής ουσίας είναι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ενώ ο ρυθμός αποικοδόμησης του πολυμερούς κυριαρχεί στην μεταγενέστερη αποδέσμευση. Το μικρότερο μέγεθος σωματιδίων που οδηγεί σε αύξηση της συνολική πολυμερικής επιφάνειας έχει βρεθεί ότι οδηγεί σε γρηγορότερους ρυθμούς αποδέσμευσης της εγκλεισμένης ουσίας ιδιαίτερα στην κατηγορία των υδρόφοβων φαρμάκων. Ακόμα η εμφάνιση υψηλού πορώδους μπορεί να διευκολύνει την είσοδο του υδατικού μέσου στα μικροσωματίδια αυξάνοντας και πάλι τον ρυθμό αποδέσμευσης. Στα γραμμικά πολυμερή PLA και PLGA η κινητικότητα των αλυσίδων αυξάνεται με την μείωση του μοριακού βάρους και για αυτό τα πολυμερή μικρότερου μοριακού βάρους επιτρέπουν την γρηγορότερη διάχυση του δραστικού παράγοντα έξω από το σωματίδιο. Τέλος η αποδέσμευση εξαρτάται και από το αν το φορτίο είναι υδρόφοβο ή υδρόφιλο. Τα υδρόφοβα φάρμακα φαίνεται να παράγουν συνήθως μηδενικής τάξης ρυθμό αποδέσμευσης (εικόνα (3.11)) ενώ τα υδρόφιλα παρουσιάζουν συνήθως τριφασικό προφίλ (σχήμα (3.1)) [52],[56].



Εικόνα 3.11: Προφίλ αποδέσμευσης μηδενικής τάξης με και χωρίς αρχική ταχεία αποδέσμευση.

Όπως αναφέρθηκε στο πρώτο κεφάλαιο, η παραγωγή του πολυ(γαλακτικού) οξέος πραγματοποιείται με τρεις κυρίως μεθόδους: με πολυμερισμό διάνοιξης δακτυλίου (ROP) του λακτιδίου, με πολυμερισμό άμεσης συμπύκνωσης καθώς και με αζεοτροπική αφυδατική συμπύκνωση. Από τις τρεις αυτές μεθόδους, η μέθοδος του πολυμερισμού διάνοιξης δακτυλίου είναι αυτή που χρησιμοποιείται συχνότερα για την εμπορική σύνθεση PLA υψηλού μοριακού βάρους. Ωστόσο η μέθοδος αυτή παρουσιάζει υψηλό κόστος εξαιτίας της αναγκαιότητας καθαρισμού του τελικού προϊόντος από το λακτίδιο καθώς υπολείμματα αυτού ενδέχεται να υποβαθμίσουν τις μηχανικές ιδιότητες του πολυμερούς, να αυξήσουν τον ρυθμό αποικοδόμησής του και να προκαλέσουν διάβρωση των μηχανών στις οποίες θα υποβληθεί για επεξεργασία. Όσον αφορά την μέθοδο πολυμερισμού άμεσης συμπύκνωσης, η παραγωγή PLA υψηλού μοριακού βάρους μέσω της κατεύθυνσης αυτής, δεν είναι εφικτή, εξαιτίας μιας σειράς προβλημάτων που εμφανίζονται κατά την διάρκειά της, όπως είναι η ανταγωνιστική αντίδραση σχηματισμού λακτιδίου, οι παράλληλες αντιδράσεις αποικοδόμησης λόγω των υψηλών θερμοκρασιών, η αύξηση του δείκτη ροής τήγματος, και οι περιορισμοί στη μεταφορά θερμότητας και μάζας. Τέλος παρ' ότι με την μέθοδο της αζεοτροπικής αφυδατικής συμπύκνωσης είναι δυνατή η παραγωγή PLA υψηλών προδιαγραφών, η συγκεκριμένη μέθοδος παρουσιάζει αρκετά μειονεκτήματα με σημαντικότερο το πρόβλημα της αποτελεσματικής απομάκρυνσης του διαλύτη που απαιτεί χρονοβόρες και δαπανηρές διαδικασίες.

Καθώς το εμπορικό ενδιαφέρον για τη σύνθεση PLA υψηλών αντοχών με χαμηλό κόστος παραγωγής αυξάνεται, έχουν προταθεί διάφορες τεχνικές για την αύξηση του μοριακού βάρους των πολυμερών που λαμβάνονται από τον πολυμερισμό άμεσης συμπύκνωσης και από τον πολυμερισμό διάνοιξης δακτυλίου, όπως είναι η επεξεργασία τήγματος, η χρήση ακτινοβολίας για τη δημιουργία σταυροδεσμών και ο πολυμερισμός στερεάς κατάστασης (Solid State Polymerization/SSP).

Ο SSP είναι μια τεχνική πολυμερισμού μάζας, που πραγματοποιείται σε θερμοκρασία χαμηλότερη από την θερμοκρασία τήξης του προϊόντος, και χρησιμοποιείται για την παραγωγή πολυμερών υψηλού μοριακού βάρους που δεν θα ήταν δυνατό να παραχθούν με τεχνική τήγματος. Η πλειοψηφία των βιομηχανικών εφαρμογών SSP εφαρμόζονται σε πολυμερισμό πολυαμιδίων και πολυεστέρων (όπως είναι και το PLA) όπου απαιτείται περαιτέρω αύξηση του μοριακού βάρους σε προπολυμερή που παράγονται από συμβατικές τεχνικές πολυμερισμού. Η αύξηση αυτή κρίνεται συνήθως αναγκαία για την μετέπειτα επεξεργασία και μόρφωση του πολυμερούς. Όσον αφορά τα πολυαμίδια ο πολυμερισμός στερεάς κατάστασης φαίνεται να χρησιμοποιείται σε εφαρμογές που αντιστοιχούν περίπου στο 65% της συνολικής κατανάλωσής τους. Ένας άλλος λόγος που ο SSP παρουσιάζει ενδιαφέρον σε εμπορική κλίμακα είναι και το ότι

αποτελεί μία τεχνολογία πολυμερισμού που δεν επιβαρύνει το περιβάλλον, λόγω της χρήσης απλού εξοπλισμού, της δυνατότητας συνεχούς λειτουργίας της διεργασίας, της χαμηλής θερμοκρασίας στην οποία πραγματοποιείται και κυρίως λόγω της απουσίας διαλύτη κατά την διεξαγωγή του.

Ο πολυμερισμός στερεάς κατάστασης μπορεί να εφαρμοστεί και σε εργαστηριακή κλίμακα απευθείας σε μονομερή και παρουσιάζει αρκετό ενδιαφέρον καθώς έχει αρκετά πλεονεκτήματα σε σχέση με την τεχνική τήγματος, όπως χαμηλότερη κατανάλωση ενέργειας και μικρές πιθανότητες θερμικού υποβιβασμού του προϊόντος [59],[60].

4.1. Ορισμός πολυμερισμού στερεάς κατάστασης

Ένας σύντομος ορισμός της τεχνικής του πολυμερισμού στερεάς κατάστασης θα μπορούσε να διατυπωθεί ως εξής: Οι πρώτες ύλες θερμαίνονται σε θερμοκρασία υψηλότερη από τη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (T_g) αλλά χαμηλότερη από τη θερμοκρασία τήξης, (T_m) με παράλληλη απομάκρυνση των παραπροϊόντων, τα οποία μεταφέρονται στην επιφάνεια του υλικού μέσω του μηχανισμού της διάχυσης, είτε με συνεχή ροή αδρανούς αερίου, είτε με διατήρηση χαμηλής πίεσης. Οι πρώτες ύλες της τεχνικής μπορεί να είναι είτε κρυσταλλικά μονομερή είτε ημικρυσταλλικά πολυμερή χαμηλού μοριακού βάρους [61].

Ο SSP σαν τεχνική παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα που καθιστούν την χρήση του ιδιαίτερα ελκυστική. Τα κυριότερα από τα πλεονεκτήματα αυτά συνοψίζονται στα εξής:

- Οδηγεί σε σημαντική αύξηση του μοριακού βάρους
- Επιφέρει αύξηση της κρυσταλλικότητας και οδηγεί στην δημιουργία τελειότερων κρυστάλλων
- Σχηματίζονται μόνο γραμμικές αλυσίδες
- Το προϊόν εμφανίζει μεγάλη θερμική σταθερότητα σε φάση τήγματος
- Λόγω των χαμηλών θερμοκρασιών λειτουργίας περιορίζονται οι παράπλευρες αντιδράσεις καθώς και οι αντιδράσεις κυκλοποίησης των μονομερών
- Τα παραγόμενα πολυμερή περιέχουν μικρά μόνο ποσά μονομερών και ολιγομερών και δεν απαιτούνται περεταίρω στάδια καθαρισμού
- Αποτελεί μία φιλική προς το περιβάλλον τεχνολογία πολυμερισμού αφού δεν απαιτείται η χρήση διαλύτη και η λειτουργία της διεργασίας μπορεί να είναι συνεχής
- Πραγματοποιείται σε χαμηλές θερμοκρασίες και για αυτό εξασφαλίζει εξοικονόμηση ενέργειας.

Ωστόσο εκτός από τα πλεονεκτήματα του, ο πολυμερισμός στερεάς κατάστασης σαν τεχνική παρουσιάζει και ορισμένα μειονεκτήματα. Εξαιτίας των χαμηλών θερμοκρασιών στις οποίες πραγματοποιείται, περιορίζεται η κινητικότητα των αντιδρώντων ειδών και η διάχυση των παραπροϊόντων και παρουσιάζεται μειωμένος ρυθμός της αντίδρασης πολυμερισμού. Ακόμα είναι πιθανόν να προκληθεί συσσωμάτωση των αντιδρώντων κόκκων σε υψηλές θερμοκρασίες η οποία σχετίζεται με το χαμηλό σημείο μάλθωσης της αντιδρώσας μάζας [60].

Οι διεργασίες του SSP μπορούν να διακριθούν σε δύο κύριες κατηγορίες ανάλογα με το είδος της πρώτης ύλης: αν ως πρώτη ύλη χρησιμοποιούνται κρυσταλλικά μονομερή τότε η διεργασία αναφέρεται ως Άμεσος Πολυμερισμός Στερεάς Κατάστασης, ενώ αν ως πρώτη ύλη χρησιμοποιούνται ημικρυσταλλικά προπολυμερή χαμηλού μοριακού βάρους, η διεργασία αναφέρεται ως Μεταπολυμερισμός Στερεάς Κατάστασης.

4.1.1. Άμεσος Πολυμερισμός Στερεάς Κατάστασης

Κατά τον Άμεσο Πολυμερισμό Στερεάς Κατάστασης τα κρυσταλλικά μονομερή (άλατα πολυαμιδίου, αμινοξέα) μετασχηματίζονται σε πολυμερές σε θερμοκρασία χαμηλότερη από το σημείο τήξης τόσο του μονομερούς, όσο και του πολυμερούς. Η αντίδραση προχωράει κατά μήκος του κρυσταλλογραφικού άξονα του μονομερούς μέσω μηχανισμών πυρήνωσης (nucleation) και ανάπτυξης (growth), και οδηγεί στην παραγωγή προσανατολισμένων κρυστάλλων με υψηλά σημεία τήξης λόγω της ανάπτυξης δεσμών υδρογόνου.

Η αντίδραση σπάνια πραγματοποιείται εξολοκλήρου σε μία πραγματικά στερεά κατάσταση καθώς συμβαίνει μετάπτωση της στερεάς φάσης του μονομερούς σε κατάσταση τήγματος. Η μετάπτωση αυτή, παρατηρείται κυρίως σε υγροσκοπικά μονομερή (όπως τα πολυαμιδικά άλατα, ειδικά τα αλειφατικά) και σε μέτρια οργανωμένες δομές αλάτων με υψηλή συγκέντρωση πολικών κέντρων. Το φαινόμενο οφείλεται στην δημιουργία ενυδατωμένων περιοχών στην αντιδρώσα μάζα, λόγω της κατακράτησης του παραγόμενου παραπροϊόντος. Με την πάροδο της αντίδρασης, η υγροσκοπικότητα της αντιδρώσας μάζας μειώνεται, το μοριακό βάρος του πολυμερούς αυξάνεται και το σύστημα οδηγείται ξανά στην στερεά κατάσταση [60],[62],[63],[64].

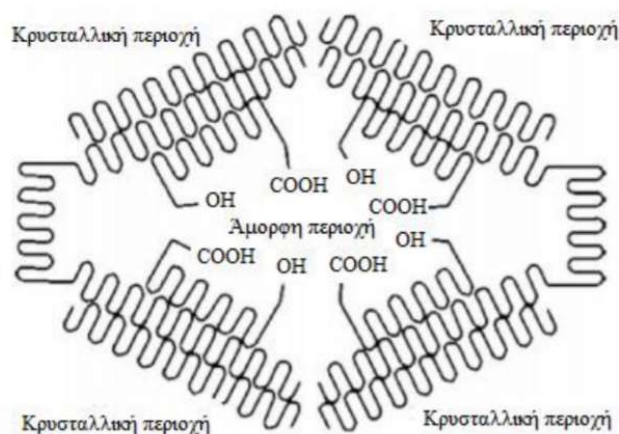
4.1.2. Μεταπολυμερισμός Στερεάς Κατάστασης

Σε αντίθεση με τον άμεσο πολυμερισμό στερεάς κατάστασης που εφαρμόζεται κυρίως σε πολυαμίδια, ο μεταπολυμερισμός στερεάς κατάστασης εφαρμόζεται σε μία πληθώρα πολυμερών συμπύκνωσης. Η τεχνική του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης χρησιμοποιείται σε χαμηλού ή μεσαίου μοριακού βάρους, ημικρυσταλλικά ή άμορφα πολυμερή με σκοπό της αύξηση του μοριακού τους βάρους. Η διεργασία πραγματοποιείται μέσω θέρμανσης αυτών σε θερμοκρασία χαμηλότερη από το σημείο τήξης (T_m) και υψηλότερη από το σημείο υαλώδους μετάπτωσης (T_g) σε ρεύμα αδρανούς αερίου είτε υπό κενό. Η αποτελεσματικότητα της τεχνικής όσον αφορά την

αύξηση του μοριακού βάρους εξαρτάται από παράγοντες όπως είναι η σύνθεση του αρχικού υλικού, οι θερμοκρασιακές συνθήκες, οι χρόνοι της διεργασίας καθώς και ο εξοπλισμός που χρησιμοποιείται.

Τα πολυμερή που προορίζονται για να χρησιμοποιηθούν ως πρώτη ύλη της διεργασίας παρουσιάζουν διαφορετικά σχήματα και γεωμετρίες. Όταν ο μεταπολυμερισμός στερεάς κατάστασης πραγματοποιείται "προ-εκβολής", δηλαδή πριν από την μορφοποίηση του πολυμερούς οι πρώτες ύλες βρίσκονται σε μορφή κόκκων, νιφάδων (μέση διάμετρος > 1.0mm) ή πούδρας (μέση διάμετρος < 100μm). Η τεχνική αυτή αποτελεί την πιο συνηθισμένη περίπτωση και αποτελεί κοινή πρακτική στην βιομηχανία. Ωστόσο ο μεταπολυμερισμός στερεάς κατάστασης μπορεί να εφαρμοστεί και "μετά-εκβολής", δηλαδή μετά από την μορφοποίηση του πολυμερούς όπου οι πρώτες ύλες βρίσκονται σε μορφή ινών ή λεπτών φύλλων. Η τεχνική αυτή βρίσκεται υπό ανάπτυξη ωστόσο προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα σε σχέση με τον παραδοσιακό τρόπο "προ-εκβολής", διότι η γεωμετρία της αντιδρώσας μάζας σε αυτήν, έχει τουλάχιστον μία διάσταση μικρότερη και έτσι επιτρέπεται η αποτελεσματικότερη απομάκρυνση του συμπυκνώματος.

Όσον αφορά τον μηχανισμό με τον οποίο εκτυλίσσεται ο μεταπολυμερισμός στερεάς κατάστασης, ο Zimmerman [65],[66] έχει προτείνει ένα μοντέλο δύο φάσεων (εικόνα (4.1)). Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό η διεργασία εξελίσσεται μέσω αντιδράσεων σταδιακού πολυμερισμού στις άμορφες περιοχές του πολυμερούς, όπου βρίσκονται αποκλειστικά οι ακραίες ομάδες και οι ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους (παραπροϊόν, ολιγομερή) και επομένως υπάρχει δυνατότητα κίνησης και διάχυσή τους. Η χημεία της αντίδρασης στις άμορφες περιοχές θεωρείται η ίδια με την χημεία πολυμερισμού τήγματος στην ίδια θερμοκρασία. Στις κρυσταλλικές περιοχές δεν πραγματοποιούνται αντιδράσεις.



Εικόνα 4.1: Αναπαράσταση του διφασικού μοντέλου στην περίπτωση του πολύ(γαλακτικού οξέος)

Η διάχυση των ακραίων ομάδων στις άμορφες περιοχές θεωρείται ότι συμβαίνει με τρεις κυρίως τρόπους: μέσω μεταθετικής κίνησης των μορίων χαμηλού μοριακού βάρους (ολιγομερών), μέσω τμηματικής διάχυσης άκρων των αλυσίδων καθώς και μέσω χημικής διάχυσης, δηλαδή μέσω αντιδράσεων ανταλλαγής που παρέχουν έναν μηχανισμό για την δραστηριότητα των ακραίων ομάδων, η οποία είναι μειωμένη λόγω της υψηλής αντίστασης στην διάχυση. Οι ακραίες ομάδες των άμορφων περιοχών, έχουν κατηγοριοποιηθεί σύμφωνα με τον Duh [67] σε δύο ομάδες: στις ενεργές και στις ανενεργές. Στην δεύτερη κατηγορία ανήκουν χημικά αδρανείς ομάδες και άκρα αλυσίδων που βρίσκονται παγιδευμένα στην κρυσταλλική περιοχή και για αυτό δεν μπορούν να αντιδράσουν.

Ο μεταπολυμερισμός στερεάς κατάστασης φαίνεται επομένως ότι αποτελεί μία πολύπλοκη διεργασία καθώς εκτός από την χημική συνάφεια των αντιδρώντων επηρεάζεται έντονα και από φυσικά φαινόμενα που συνδέονται με την περιορισμένη κινητικότητα των ειδών που αντιδρούν καθώς και με τον αμφίδρομο χαρακτήρα των αντιδράσεων συμπύκνωσης. Φαινόμενα μεταφοράς, που συνδέονται με τις δραστικές ακραίες ομάδες και τα παραπροϊόντα του πολυμερισμού, λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα με την χημική αντίδραση με αποτέλεσμα ο ρυθμός της διεργασίας να παρουσιάζει παραπάνω από ένα ελέγχονται στάδια. Τέσσερα ελέγχονται στάδια της διεργασίας μπορούν να εντοπιστούν: α) η κινητική της χημικής αντίδρασης, β) η διάχυση των δραστικών ομάδων, γ) η διάχυση του παραπροϊόντος στο εσωτερικό της στερεάς δρώσας μάζας και γ) η διάχυση του παραπροϊόντος από την επιφάνεια του στερεού πολυμερούς στο περιβάλλον [60],[61].

4.2. Παράμετροι του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης

4.2.1. Θερμοκρασία της διεργασίας

Η θερμοκρασία φαίνεται να αποτελεί μία από τις σημαντικότερες παραμέτρους στον μεταπολυμερισμό στερεάς κατάστασης καθώς επιδρά τόσο στην ταχύτητα της χημικής αντίδρασης όσο και στην κινητικότητα των ακραίων δραστικών ομάδων και στην διάχυση του παραπροϊόντος.

Αύξηση στην θερμοκρασία της διεργασίας, οδηγεί σε αύξηση της ταχύτητας της χημικής αντίδρασης, ενώ σύμφωνα με τον Wallas [68], όταν μεταβάλλοντας την θερμοκρασία παρατηρείται σημαντική μεταβολή του ρυθμού της αντίδρασης, τότε αυτή αποτελεί το ελέγχον στάδιο της διεργασίας. Η θερμοκρασία επηρεάζει την σταθερά του ρυθμού μετατροπής μέσω της ενέργειας ενεργοποίησης (E_a). Οι ενέργειες ενεργοποίησης κυμαίνονται μεταξύ 10.5 και 81.5 kcal/mol στην περίπτωση των πολυαμιδίων και μεταξύ 7.9 και 42.5 kcal/mol στην περίπτωση των πολυεστέρων και παρουσιάζονται γενικά υψηλότερες από τις αντίστοιχες των αντιδράσεων πολυμερισμού σε κατάσταση τήγματος.

Η αύξηση της θερμοκρασίας οδηγεί επίσης σε αύξηση της κινητικότητας των ακραίων ομάδων καθώς και σε αύξηση του ρυθμού διάχυσης του παραπροϊόντος τόσο στο εσωτερικό του πολυμερούς όσο και από την επιφάνειά του, οδηγώντας σε αύξηση του συνολικού ρυθμού της διεργασίας. Επιπλέον σύμφωνα με την θεωρία του Duh [67], η αύξηση της θερμοκρασίας μειώνει το ποσοστό των ανενεργών ακραίων ομάδων καθώς μερικές από αυτές μεταφέρονται στην άμορφη φάση ως αποτέλεσμα της κρυστάλλωσης που πραγματοποιείται σε υψηλές θερμοκρασίες.

Ως θερμοκρασία της διεργασίας είναι γενικά αποδεκτό ότι επιλέγεται η τιμή που βρίσκεται πλησιέστερα στο σημείο τήξης του πολυμερούς (T_m), και δεν παρουσιάζει προβλήματα θερμικής αποικοδόμησης και συσσωμάτωσης των αντιδρώντων σωματιδίων. Οι προτεινόμενες θερμοκρασίες για τον μεταπολυμερισμό στερεάς κατάστασης κυμαίνονται μεταξύ 20-160° C κάτω από το τελικό σημείο τήξης (T_m), με τις βέλτιστες θερμοκρασίες να βρίσκονται ακριβώς κάτω από αυτό [61], [69].

4.2.2. Αρχική συγκέντρωση των ακραίων ομάδων

Η αρχική συγκέντρωση των ακραίων ομάδων αποτελεί επίσης μία σημαντική παράμετρο στο μεταπολυμερισμό στερεάς κατάστασης, καθώς φαίνεται να επηρεάζει άμεσα την κινητικότητα των αλυσιδών και την διάχυση των αντιδρώντων ειδών. Έχει βρεθεί πως όσο χαμηλότερη είναι η αρχική συγκέντρωση των ακραίων ομάδων, δηλαδή όσο υψηλότερο είναι το μέσου-αριθμού μοριακό βάρος του προπολυμερούς (Mn_0), τόσο υψηλότερο μέσου-αριθμού μοριακό βάρος (Mn) επιτυγχάνεται στο τέλος της διεργασίας. Σύμφωνα με το μοντέλο των δύο φάσεων, αυτό αποδίδεται στο γεγονός ότι στα προπολυμερή υψηλού μέσου-αριθμού μοριακού βάρους επιτυγχάνεται αποτελεσματικότερη διαμόρφωση των μακροαλυσιδών και επομένως υψηλότερη συγκέντρωση και πιο ομοιογενής κατανομή των δραστικών ομάδων στις άμορφες περιοχές. Μία παρεμφερή ερμηνεία έχει δοθεί από τον Duh [67], σύμφωνα με τον οποίο, στα προπολυμερή χαμηλού \overline{Mn}_0 είναι ευκολότερο για τις πολυμερικές αλυσίδες να κρυσταλλωθούν, σχηματίζοντας κρυσταλλικό πλέγμα στο οποίο ένας μεγαλύτερος αριθμός δραστικών ομάδων θα παγιδευτεί και θα γίνει ανενεργός.

Η επίδραση της ανάτηξης στην ταχύτητα του πολυμερισμού στερεάς κατάστασης, συνδέεται επίσης με την διάχυση των ακραίων δραστικών ομάδων. Πιο συγκεκριμένα όταν πραγματοποιείται ανάτηξη, προκαλείται μία ανακατανομή των ακραίων δραστικών ομάδων η οποία διευκολύνει την διάχυση και την μεταξύ τους αντίδραση [61],[69].

4.2.3. Γεωμετρία σωματιδίων και ρυθμός ροής φέροντος αερίου

Η παρουσία του νερού πολυσυμπύκνωσης στην αντιδρώσα μάζα, ενδέχεται να προκαλέσει αντιδράσεις αποικοδόμησης. Για αυτόν τον λόγο το μοριακό βάρος κατά τον πολυμερισμό στερεάς κατάστασης των προπολυμερών φτάνει ως μία οριακή τιμή πέρα από την οποία είτε παραμένει σταθερό είτε μπορεί να αρχίσει να μειώνεται. Η

απαίτηση για απομάκρυνση του παραπροϊόντος εξαρτάται ισχυρά από τα χαρακτηριστικά της χημικής αντίδρασης και πιο συγκεκριμένα από την σταθερά της χημικής ισορροπίας (K_{eq}). Η σταθερά ισορροπίας για τα πολυαμίδια είναι εκατονταπλάσια σε σχέση με αυτή των πολυεστέρων και έτσι, οι απαιτήσεις απομάκρυνσης του παραπροϊόντος είναι πολύ μεγαλύτερες για τους πολυεστέρες [61],[64].

Η επίδραση της διάχυσης του παραπροϊόντος μέσα στο πολυμερές, στον συνολικό ρυθμό της διεργασίας, είναι περισσότερο έντονη σε υψηλότερες θερμοκρασίες όπου η χημική αντίδραση παύει να είναι το ελέγχον στάδιο. Όταν λοιπόν η εσωτερική διάχυση του παραπροϊόντος γίνεται το ελέγχον στάδιο, ο γενικός ρυθμός φαίνεται να εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το μέγεθος των αντιδρώντων σωματιδίων. Συγκεκριμένα το μικρότερο μέγεθος προπολυμερούς σωματιδίου επιφέρει αύξηση του ρυθμού του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης λόγω της μικρότερης απόστασης στην οποία πραγματοποιείται η διάχυση και λόγω της μεγαλύτερης ειδικής επιφάνειας αντίδρασης. Λαμβάνοντας υπόψιν και τις διαφορετικές απαιτήσεις για απομάκρυνση του παραπροϊόντος στα πολυαμίδια και στους πολυεστέρες, βρέθηκε ότι σε πειράματα που έγιναν σε PET, μία μείωση της διαμέτρου του αντιδρώντος σωματιδίου από 0,266 cm σε 0,14 cm, είχε ως συνέπεια την μείωση του χρόνου αντίδρασης κατά 56%, ενώ η αντίστοιχη μείωση στην περίπτωση του PA 6,6 ήταν πολύ μικρότερη, μόλις 3%. Φαίνεται επομένως ότι η επίδραση του μεγέθους των σωματιδίων του προπολυμερούς είναι εντονότερη στους πολυεστέρες όπου η απαίτηση για απομάκρυνση του συμπυκνώματος είναι μεγαλύτερη.

Όσον αφορά την επιφανειακή διάχυση του παραπροϊόντος, αυτή επηρεάζεται πρωτίστως από την ροή του φέροντος αερίου. Επιτάχυνση της ροής περιορίζει την αντίσταση του παραπροϊόντος στην διάχυση από την επιφάνεια του αντιδρώντος σωματιδίου και συμβάλλει στην αύξηση του συνολικού ρυθμού της αντίδρασης. Έχει αναφερθεί ότι σε δεδομένη θερμοκρασία, η αύξηση του ρυθμού της ροής του φέροντος αερίου, σε μεταπολυμερισμό στερεάς κατάστασης δειγμάτων PET μικρής κοκκομετρίας, οδήγησε σε αλλαγή του ελέγχοντος σταδίου της διεργασίας, περνώντας από έλεγχο μέσω της επιφανειακής διάχυσης σε έλεγχο μέσω της χημικής αντίδρασης. Ωστόσο η επίδραση του ρυθμού ροής του φέροντος αερίου δεν παρουσιάζεται σημαντική στις περιπτώσεις που η εσωτερική διάχυση του παραπροϊόντος αποτελεί το ελέγχον στάδιο[61].

1.1.2 Κρυσταλλικότητα

Ο βαθμός κρυσταλλικότητας (x_c) έχει βρεθεί πως δεν επηρεάζει μονοσήμαντα τον συνολικό ρυθμό του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης άλλα η επίδραση του εξαρτάται κάθε φορά από το ποιο είναι το ελέγχον στάδιο της διεργασίας.

Όταν ελέγχον στάδιο της διεργασίας αποτελεί η χημική αντίδραση, η αύξηση της κρυσταλλικότητας οδηγεί σε αύξηση του συνολικού ρυθμού. Αυτό συμβαίνει διότι

λαμβάνοντας υπόψιν το μοντέλο των δύο φάσεων, οι αντιδράσεις του μεταπολυμερισμού ευνοούνται σε υψηλά κρυσταλλωμένα ημικρυσταλλικά πολυμερή, καθώς σε αυτά επιτυγχάνεται υψηλότερη συγκέντρωση και περισσότερο ομοιόμορφη κατανομή των ακραίων δραστικών ομάδων στις άμορφες περιοχές.

Αντίθετα σε αντιδράσεις που ελέγχονται από την απομάκρυνση του παραπροϊόντος, η αύξηση της κρυσταλλικότητας οδηγεί σε μείωση του συνολικού ρυθμού. Το φαινόμενο αυτό αποδίδεται στο ότι η απομάκρυνση των παραπροϊόντων από την αντιδρώσα μάζα δυσχεραίνεται από μία αυξημένη κρυσταλλικότητα, εξαιτίας της παρεμπόδισης που προκαλεί το οργανωμένο κρυσταλλικό πλέγμα.

Τέλος έχει παρατηρηθεί πως για μια βέλτιστη συμπεριφορά κατά την διάρκεια της διεργασίας, τα αντιδρώντα σωματίδια του προπολυμερούς θα πρέπει να χαρακτηρίζονται από κάποιον βαθμό κρυσταλλικότητας προκειμένου να αποφευχθεί η συσσωμάτωσή τους. Μία τιμή που έχει προταθεί από ερευνητές είναι 40% [61],[64].

4.2.4. Καταλύτες

Τα κυριότερα μειονεκτήματα της διεργασίας του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης, αντιμετωπίζονται με την προσθήκη καταλυτών, οι οποίοι χρησιμοποιούνται με σκοπό την αύξηση του ρυθμού της αντίδρασης και την παρεμπόδιση της συσσωμάτωσης των αντιδρώντων σωματιδίων. Καταλύτες που χρησιμοποιούνται συχνά στον μεταπολυμερισμό στερεάς κατάστασης αποτελούν ορισμένες εύκολα διαχεόμενες όξινες ενώσεις (π.χ. H_3PO_4 , H_3BO_3 , H_2SO_4), ενώσεις του φωσφόρου, όπως το 2-πυριδυλ-αιθυλοφωσφονικό οξύ, πρόσθετα πολυουρεθάνης, υδροξυ-φαινυλο-ακυλοφωσφονικοί εστέρες καθώς και νανοσωματίδια, όπως η ορυκτή άργιλος και το διοξείδιο του πυριτίου [61].

5.1. Σκοπός διπλωματικής εργασίας

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης σαν μια τεχνική αναβάθμισης του πολυμερικού κελύφους μικροκαψουλών που περιέχουν εγκλεισμένη δραστική ουσία. Κατά το πρώτο μέρος της εργασίας παρασκευάζονται μικροκάψουλες από εμπορικό ημικρυσταλλικό πολυ(γαλακτικό οξύ), με εγκλεισμένη ουσία, ενώσεις που ανήκουν στην οικογένεια των κουμαρινών. Η μέθοδος που χρησιμοποιείται για την επίτευξη του μικροεγκλεισμού είναι η τεχνική του διπλού γαλακτώματος (w/o/w). Μελετώνται διάφορες παράμετροι της τεχνικής και η επίδραση τους στα τελικά χαρακτηριστικά καθώς και στην απόδοση εγκλεισμού των καψουλών. Έπειτα, γίνεται χαρακτηρισμός των τελευταίων με Οπτικό Μικροσκόπιο, Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (SEM), μέτρηση του μεγέθους με τη μέθοδο της σκέδασης δέσμης laser, μέτρηση της απόδοσης εγκλεισμού με Φασματοσκοπία Υπερύθρου-Υπεριώδους, και προσδιορισμός των θερμικών ιδιοτήτων τους με Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC) και Θερμοσταθμική Ανάλυση Μάζας (TGA). Επίσης γίνεται μελέτη του προφίλ αποδέσμευσης που παρουσιάζει η εγκλεισμένη δραστική ουσία. Κατά το δεύτερο μέρος της διπλωματικής εργασίας, οι μικροκάψουλες με τα καλύτερα χαρακτηριστικά, υποβάλλονται σε διεργασία μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης. Μετά την ολοκλήρωση της, γίνεται εκ νέου χαρακτηρισμός των μικροκαψουλών με τις τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν και στο πρώτο μέρος, και συγκρίνονται οι ιδιότητές αυτών πριν και μετά τον μεταπολυμερισμό στερεάς κατάστασης. Συγκρίνεται ακόμα το προφίλ και η διάρκεια αποδέσμευσης που παρουσιάζει η εγκλεισμένη ουσία από τις κάψουλες πριν και μετά την εφαρμογή της διεργασίας. Σε αυτό το κεφάλαιο γίνεται περιγραφή όλων των πρώτων υλών και των πειραματικών διατάξεων που χρησιμοποιήθηκαν καθώς και της πειραματικής διαδικασίας που ακολουθήθηκε για την υλοποίηση των παραπάνω.

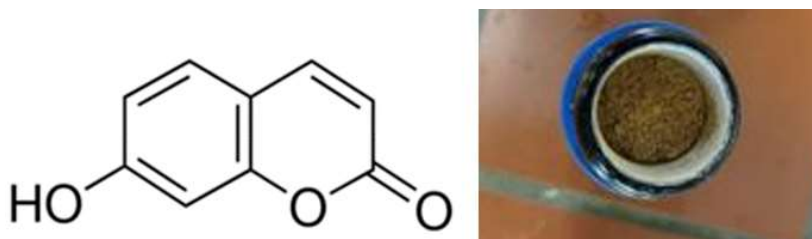
5.2. Πρώτες ύλες-Αντιδραστήρια

Κατά την πειραματική διαδικασία παρασκευής των μικροκαψουλών, δύο δραστικές ουσίες (κουμαρίνες) μελετήθηκαν για εγκλεισμό: η συμπελλιφερόνη (7-υδροξυκουμαρίνη) και η κουμαρίνη-6. Παρακάτω παρατίθενται τα αντιδραστήρια και οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη του εγκλεισμού και των δύο δραστικών ουσιών.

- Εμπορικό πολυ(γαλακτικό οξύ) (PLA) με ονομασία Ingeo 3001D της εταιρίας Nature Works, USA. Πρόκειται για διαφανές πολυμερικό υλικό σε μορφή κόκκων,

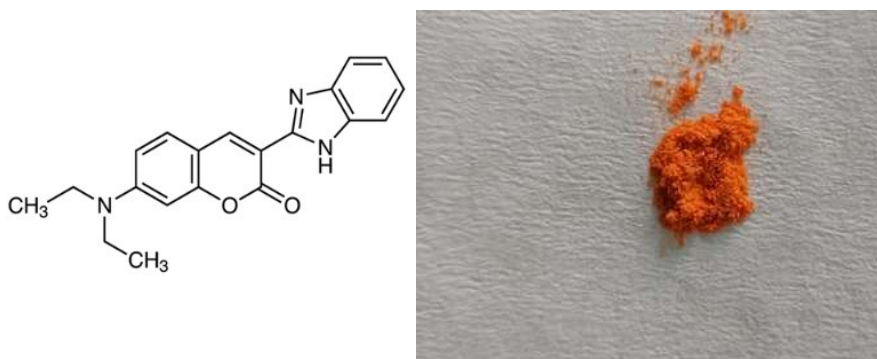
με σύνθεση αποτελούμενη στο μεγαλύτερο ποσοστό από L-εναντιομερές με 1,4% \pm 0,2% D-εναντιομερούς. Εμφανίζει αρχικό $MB \approx 140.000$ g/mol και δείκτη πολυδιαφοράς PDI 1,66 . Ποσότητα από το αρχικό PLA υδρολύεται σε όξινο περιβάλλον προς το χρησιμοποιούμενα τελικά μοριακά βάρη: $M_v = 18300 (\pm) 970$ g/mol, $M_w = 24600 (\pm) 1600$, $M_n = 50000 (\pm) 472$.

- συμπελλιφερόνη / 7-υδροξυκουμαρίνη της εταιρίας TCI (Tokyo Chemical Industry), με καθαρότητα >98,0 % (GC). Εμφανίζεται με την μορφή μπεζ σκόνης.



Εικόνα 5.1: Α) Χημική δομή συμπελλιφερόνης, Β) Μορφή της συμπελλιφερόνης

- Κουμαρίνη-6 (3-(2-Benzimidazolyl)-7-(diethylamino)coumarin) της εταιρίας TCI (Tokyo Chemical Industry), με καθαρότητα >98.0%(T)(HPLC). Εμφανίζεται με την μορφή πορτοκαλί σκόνης.



Εικόνα 5.2: Α) Χημική δομή κουμαρίνης-6, Β) Μορφή της κουμαρίνης-6

- Διχλωρομεθάνιο (DCM) της εταιρίας Scharlau España
- Χλωροφόρμιο (CHCl₃) της εταιρίας Fisher Chemical, USA
- Μεθανόλη της εταιρίας Scharlau España
- Ακετόνη της εταιρίας Καλογερόπουλος Χημικά Α.Ε.
- Αιθανόλη της εταιρίας Riedel-de Haen, USA
- Πολυβινυλική αλκοόλη (PVA), υδρολυμένη 87-89% και μοριακού βάρους $M_w = 30000-70000$ της εταιρίας Sigma-Aldrich, USA.

- Πολυβινυλική αλκοόλη (PVA), υδρολυμένη 98-98,8% και μοριακού βάρους Mw= 146000-180000 της εταιρίας Sigma-Aldrich, USA
- Mowiol, υδρολυμένο 88% και μοριακού βάρους 130000 της εταιρίας Sigma-Aldrich, USA.
- Άλας K₂HPO₄,
- Άλας KH₂PO₄

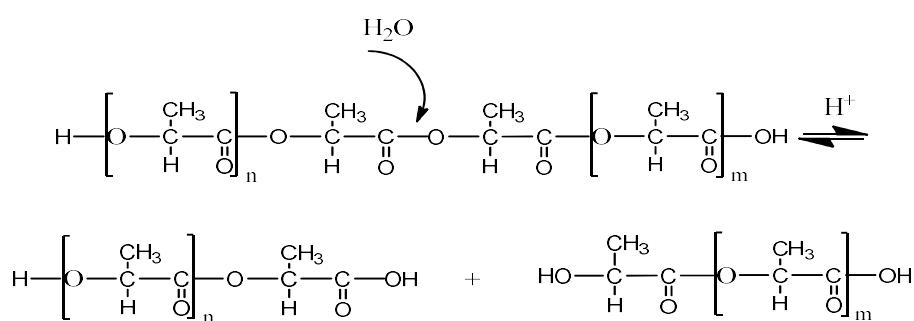
5.3. Επεξεργασία και χαρακτηρισμός πρώτων υλών PLA

5.3.1. Υδρόλυση

Λόγω του υψηλού μοριακού βάρους του αρχικού εμπορικού πολυ(γαλακτικού οξέος), το υλικό υπόκειται σε υδρολυτική αποικοδόμηση με στόχο τη μείωση του μοριακού του βάρους και την παραλαβή προπολυμερών ικανών να μεταπολυμεριστούν.

Συγκεκριμένα 20 g εμπορικού πολυμερούς σε μορφή κόκκων τοποθετούνται σε ογκομετρική φιάλη των 500mL και πληρώνονται με όξινο διάλυμα οξικού οξέος σε νερό με pH=3, ώστε οι κόκκοι να είναι πλήρως βυθισμένοι. Ακολουθεί η υδρόλυση του αρχικού πολυμερούς σε φούρνο, στους 60 °C. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται τρεις φορές με χρόνους υδρόλυσης 122, 172 και 240 ώρες, προκειμένου να ληφθούν τα επιθυμητά μοριακά βάρη.

Κατά την αποικοδόμηση, αρχικά τα μόρια του νερού διαχέονται στις άμορφες περιοχές του PLA και σπάνε οι εστερικοί δεσμοί. Στη συνέχεια η αποικοδόμηση προχωρά και στις κρυσταλλικές περιοχές του πολυμερούς. Έτσι προκύπτει μείωση του μοριακού βάρους και απελευθέρωση των διαλυτών ολιγομερών και μονομερών. Μάλιστα τα προϊόντα της υδρόλυσης αυτοκαταλύουν την αντίδραση [21].



Εικόνα 5.3: Υδρολυτική αποικοδόμηση του πολυ(γαλακτικού οξέος)

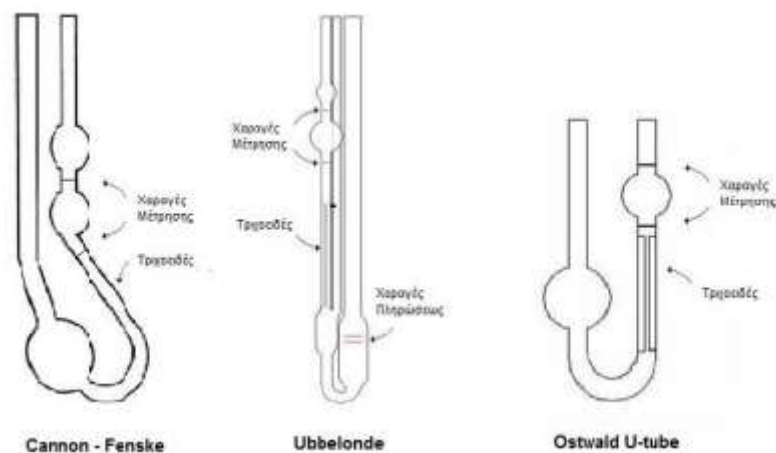
Στην συνέχεια τα υδρολυμένα πολυμερή που παραλαμβάνονται, υποβάλλονται σε ψυχρή θραύση, με χρήση της συσκευής PULLVERISETTE 14 (FRITSCHE Corp., Idar-Oberstein, Germany), προκειμένου να εμφανίζουν ομοιόμορφες ιδιότητες σε όλη την έκτασή τους. Κατά την διαδικασία της ψυχρής θραύσης, οι κόκκοι του PLA, ψύχονται

με υγρό άζωτο και εισάγονται στην συσκευή, στην οποία επίσης διοχετεύεται υγρό άζωτο για ψύξη. Εκεί, μέσω υψηλής ανάδευσης και ταυτόχρονης τράχυνσης από κόσκινο/κόφτη, οι κόκκοι μετατρέπονται σε πούδρα μεγέθους κάτω από 500μm. Τέλος, αφού γίνει παραλαβή των πουδρών ακολουθεί ξήρανσή τους σε φούρνο κενού για 16h, σε θερμοκρασία 60 °C και πίεση 400mbar, για απομάκρυνση τυχόν υγρασίας.

5.3.2. Ιξωδομετρία διαλύματος

Οι περισσότερες χαρακτηριστικές ιδιότητες των πολυμερών συνδέονται κατά μεγάλο ποσοστό με το μοριακό τους βάρος. Διάφορες χημικές και φυσικές μέθοδοι χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό του μοριακού βάρους των πολυμερών, όπως είναι ο αναλυτικός προσδιορισμός των ακραίων δραστικών ομάδων, η οσμομετρία, η ζεσεοσκοπία, η κρυσκοπία, ο σκεδασμός του φωτός, η ισορροπία καταβύθισης και η ιξωδομετρία [70].

Η ιξωδομετρία αποτελεί έμμεση μέθοδο υπολογισμού του μοριακού βάρους ενός πολυμερούς και είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη σαν τεχνική γιατί παρουσιάζει ταχύτητα και ευκολία στην υλοποίηση της. Προϋποθέτει όμως την ύπαρξη κατάλληλου διαλύτη για το εξεταζόμενο υλικό, για αυτό και εφαρμόζεται μόνο σε πολυμερή που σχηματίζουν σταθερά διαλύματα σε θερμοκρασίες από 25°C έως 150 °C και δεν αντιδρούν με τον διαλύτη ούτε αποπολυμερίζονται σε αυτόν. Το ιξώδες ενός αραιού διαλύματος πολυμερούς αποτελεί το μέτρο του μεγέθους ή της έκτασης των διαλυμένων μορίων του στο χώρο και μπορεί να συσχετιστεί με το μέσο μοριακό του βάρος. Οι συσκευές που χρησιμοποιούνται για τον πειραματικό προσδιορισμό του ιξώδους λέγονται ιξωδόμετρα. Μερικοί από τους πιο γνωστούς τύπους ιξωδομέτρων αποτελούν τα ιξωδόμετρα τριχοειδούς ροής Ostwald U-tube, Ubbelonde και Cannon-Fenske [70],[71].



Εικόνα 5.4: Τύποι ιξωδομέτρων τριχοειδούς ροής

Κατά την τεχνική της ιξωδομετρίας γίνεται συσχέτιση του χρόνου εκροής ενός διαλύτη με τον χρόνο εκροής ενός αραιού διαλύματος πολυμερούς, στον ίδιο διαλύτη και την ίδια θερμοκρασία. Τα αποτελέσματα της ιξωδομετρίας εκφράζονται σε διάφορες εκφράσεις ιξώδους, η ονομασία των οποίων εξαρτάται από το σύστημα ορολογίας

Πίνακας 5.1: Ορολογία για την ιξωδομετρία διαλύματος

Όρος	ISO (IUPAC)	BS 5168
$\nu = \frac{\eta}{\rho} (cSt)$ <p>όπου: η = δυναμικό ή απόλυτο ιξώδες (cP) ρ η πυκνότητα (g/ml)</p>	Λόγος ιξώδους/πυκνότητας ή κινηματικό ιξώδες	Κινηματικό ιξώδες (cSt)
$\eta_{rel} = \frac{\eta}{\eta_0}$ <p>όπου: η = ιξώδες του διαλύματος του πολυμερούς η_0 = το ιξώδες του καθαρού διαλύτη</p>	Λόγος ιξώδους (Viscosity Ratio)	Σχετικό ιξώδες (Relative viscosity)
$\eta_{sp} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = \eta_{rel} - 1$	Σχετική αύξηση ιξώδους	Ειδικό ιξώδες (Specific Viscosity)
$\eta_{red} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0 C}$ <p>όπου: C = συγκέντρωση διαλύματος πολυμερούς (g πολυμερούς / 100 mL διαλύτη)</p>	Αριθμός ιξώδους	Ανοιγμένο ιξώδες (Reduced Viscosity)
$\eta_{inh} = \frac{\ln(\eta/\eta_0)}{C} = \ln \left(\frac{\eta_{rel}}{C} \right)$	Λογαριθμικός αριθμός ιξώδους	Συμφυές ιξώδες (Inherent Viscosity)
$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{C} = \lim_{C \rightarrow 0} \eta_{red}$	Οριακός αριθμός ιξώδους (Limiting Viscosity Number)	Εσωτερικό ιξώδες (Intrinsic Viscosity) dL/ g

Σαν διαλύτης για την ιξωδομετρία των διαλυμάτων του πολυ(γαλακτικού οξέος) χρησιμοποιείται χλωροφόρμιο (CHCl₃) στον οποίο το PLA εμφανίζει μεγάλη διαλυτότητα.

Για τον προσδιορισμό του σχετικού ιξώδους (η_{rel}), το διάλυμα του πολυμερούς εισάγεται στο τριχοειδές ιξωδόμετρο τύπου Ubbelohde (Εικόνα (5.4)), το οποίο είναι

τοποθετημένο μέσα σε λουτρό θερμοκρασίας 30°C. Το ιξωδόμετρο αφήνεται για 20 λεπτά στην θερμοκρασία του λουτρού και στην συνέχεια πραγματοποιούνται οι πρώτες μετρήσεις. Μετράται ο χρόνος εκροής ανάμεσα στις δυο χαραγές του ιξωδομέτρου και επαναλαμβάνεται το βήμα αυτό τουλάχιστον 3 φορές. Όταν εμφανίζονται αποκλίσεις μεγαλύτερες από 1%, η μέτρηση επαναλαμβάνεται.

Το απόλυτο ιξώδες (η) συσχετίζεται με το χρόνο εκροής του υγρού και με τις διαστάσεις του ιξωδομέτρου μέσω της εξίσωσης του Poiseuille:

$$\eta = \frac{P\pi r^4 t}{8Vl}$$

Εξίσωση 4: Poiseuille

όπου t ο χρόνος εκροής του υγρού, l το μήκος του τριχοειδούς του ιξωδομέτρου, r η ακτίνα του τριχοειδούς, V ο όγκος του εκρέοντος υγρού, P η διαφορά πίεσης ανάμεσα στα δυο άκρα του τριχοειδούς.

Αν η πίεση στα άκρα του σωλήνα είναι ίση με την υδροστατική πίεση την εξασκούμενη από την στήλη του υγρού, τότε στην παραπάνω σχέση (Poiseuille) συμπεριλαμβάνεται η πυκνότητα του υγρού (ρ) και η επιτάχυνση της βαρύτητας (g):

$$\eta = \frac{\rho g \pi r^4 t}{8Vl}$$

Εξίσωση 5

Ορίζοντας το κλάσμα $\frac{\rho g \pi r^4 t}{8Vl}$ ως σταθερά του ιξωδομέτρου, η παραπάνω εξίσωση μετασχηματίζεται ως εξής:

$$\eta = K_{\text{ιξωδομέτρου}} \cdot t \cdot \rho$$

Εξίσωση 6

όπου, η το απόλυτο ιξώδες (cP), ρ η πυκνότητα του υγρού (g/ml), $K_{\text{ιξωδομέτρου}}$ η σταθερά του ιξωδομέτρου (mm^2/s^2) και t ο χρόνος εκροής (s). Στην ιξωδομετρία αραιών διαλυμάτων πολυμερών, η εξίσωση 6 χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό των διαφόρων εκφράσεων ιξώδους (Πίνακας (5.1)) τόσο του διαλύτη όσο και του διαλύματος του πολυμερούς, με χρήση των αντίστοιχων χρόνων εκροής.

Ο οριακός αριθμός ιξώδους $[\eta]$ υπολογίζεται μέσω της σειράς Huggins (εξίσωση 7) θεωρώντας τη σταθερά Huggins (k_H) ίση με $1/3$ ή $3/8$, ενώ όλοι οι όροι στο δεξιό μέρος της εξίσωσης μετά το $[\eta]$ θεωρούνται ίσοι με το μηδέν:

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + k_H[\eta]^2 C + \dots$$

Εξίσωση 7

Ο οριακός αριθμός ιξώδους $[\eta]$ συνδέεται με το μέσου-ιξώδους μοριακό βάρος (\overline{M}_v) μέσω της εξίσωσης Mark-Houwling-Sakurada:

$$[\eta] = K\overline{M}_v^a$$

Εξίσωση 8: Mark-Houwling-Sakurada

Όπου: K, a : σταθερές για ορισμένη θερμοκρασία και σύστημα πολυμερούς - διαλύτη - θερμοκρασίας.

Πίνακας 5.2: Μαθηματικές σχέσεις για την εκτίμηση του οριακού αριθμού ιξώδους

$$\frac{1}{c} = \sqrt{2(\eta_{sp} - \ln(n_{rel}))} = [\eta] + \left(k_H - \frac{1}{3}\right)[\eta]^2 C + \dots \quad \Phi 1$$

$$\frac{1}{4} \frac{\eta_{sp}}{c} + \frac{3}{4} \frac{\ln(n_{rel})}{c} = [\eta] + \left(k_H - \frac{3}{8}\right)[\eta]^2 C + \dots \quad \Phi 2$$

$$\frac{1}{3} \frac{\eta_{sp}}{c} + \frac{2}{3} \frac{\ln(n_{rel})}{c} = [\eta] + \left(k_H - \frac{1}{3}\right)[\eta]^2 C + \dots \quad \Phi 3$$

$$\frac{\eta_{sp}}{c} + \exp\left(-\frac{\eta_{sp}}{3}\right) = [\eta] + \left(k_H - \frac{1}{3}\right)[\eta]^2 C + \dots \quad \Phi 4$$

$$\frac{\eta_{sp}}{c} + \exp\left(-\frac{\eta_{sp}}{3}\right) = [\eta] + \left(k_H - \frac{1}{3}\right)[\eta]^2 C + \dots \quad \Phi 5$$

$$\frac{(1+1.5\eta_{sp})^{1/2}-1}{0.75c} = [\eta] + \left(k_H - \frac{1}{3}\right)[\eta]^2 C + \dots \quad \Phi 6$$

$$\frac{(1+\frac{4}{3}\eta_{sp})^{1/2}-1}{0.67c} = [\eta] + \left(k_H - \frac{3}{8}\right)[\eta]^2 C + \dots \quad \Phi 7$$

$$\frac{4}{c}(n_{rel}^{\frac{1}{4}} - 1) = [\eta] + \left(k_H - \frac{3}{8}\right)[\eta]^2 C + \dots \quad \Phi 8$$

$$\frac{3}{c}(n_{rel}^{\frac{1}{3}} - 1) = [\eta] + \left(k_H - \frac{1}{3}\right)[\eta]^2 C + \dots \quad \Phi 9$$

Από τις παραπάνω εξισώσεις, η (Φ5) χρησιμοποιείται στην παρούσα διπλωματική εργασία, για τον υπολογισμό του οριακού αριθμού ιξώδους. Αντικαθιστώντας την προκύπτουσα τιμή στην Mark - Houwink – Sakurada (Εξίσωση 8) και αντικαθιστώντας ταυτόχρονα τις γνωστές σταθερές K και α, μπορεί να υπολογιστεί το μέσο κατά ιξώδες μοριακό βάρος (M_v) των δειγμάτων [70].

Για τη διεξαγωγή των μετρήσεων της ιξωδομετρίας χρησιμοποιείται ιξωδόμετρο τριχοειδούς ροής, τύπου Ubbelonde (εικόνα 5.4) , με σταθερά $K=1.31 \times 10^{-4} \text{dL/g}$ και $\alpha=0,777$, ενώ ως διαλύτης του πολυμερούς όπως προαναφέρθηκε επιλέγεται το χλωροφόρμιο (CHCl_3).

Αρχικά, για κάθε ένα από τα υδρολυμένα σε διαφορετικούς χρόνους PLA, παρασκευάζονται δύο διαλύματα σε χλωροφόρμιο με συγκέντρωση 0.1 % w/v (g/dL), τα οποία τοποθετούνται σε κωνικές φιάλες. Η παρασκευή δύο διαλυμάτων για κάθε δείγμα, αποσκοπεί στον έλεγχο της επαναληψιμότητας των μετρήσεων και στην εξαγωγή των αντίστοιχων σφαλμάτων. Οι κωνικές φιάλες τίθεται στην συνέχεια υπό ανάδευση προκειμένου να διευκολυνθεί η διαλυτοποίηση του πολυμερούς.

Πριν από την έναρξη των μετρήσεων το ιξωδόμετρο καθαρίζεται με τον χρησιμοποιούμενο διαλύτη καθώς και με ακετόνη και στεγνώνεται πλήρως με τη βοήθεια πεπιεσμένου αέρα. Στη συνέχεια εμβαπτίζεται κάθετα στο λουτρό, το οποίο έχει προθερμαθεί στους 30°C. Οι μετρήσεις πραγματοποιούνται μέσα στο λουτρό για διατήρηση σταθερής θερμοκρασίας καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας. Πρώτα πραγματοποιείται μέτρηση με τον καθαρό διαλύτη και έπειτα γίνεται μέτρηση των διαλυμάτων του πολυμερούς. Το εκάστοτε διάλυμα εισέρχεται στο ιξωδόμετρο με τη χρήση χωνιού και φίλτρου διήθησης, το οποίο χρησιμεύει στη συγκράτηση πιθανών ινιδίων τα οποία παρεμποδίζουν τη ροή μέσα στο ιξωδόμετρο. Έπειτα με αναρρόφηση η στάθμη του διηθήματος αγγίζει το σημείο που βρίσκεται περίπου 2cm από την πάνω χαραγή του ιξωδομέτρου.

Στο σημείο αυτό μπορεί να ξεκινήσει η διεξαγωγή των μετρήσεων. Συγκεκριμένα, μετρείται ο χρόνος εκροής του διαλύματος από την άνω στην κάτω χαραγή του ιξωδομέτρου. Έτσι, από το κάθε διάλυμα όπως προαναφέρθηκε λαμβάνονται τρεις μετρήσεις με απόκλιση μεταξύ τους που δεν ξεπερνά το 1% .Τελικά ως χρόνος εκροής λαμβάνεται η μέση τιμή τους.

Με βάση αυτήν την τιμή και τις εξισώσεις που περιγράφηκαν παραπάνω υπολογίζεται τελικά το μέσο κατά ιξώδες μοριακό βάρος για κάθε ένα από τα υδρολυμένα σε διαφορετικούς χρόνους PLA.

Πίνακας 5.3: Μοριακό βάρος των ποιοτήτων PLA που χρησιμοποιήθηκαν στην για την παρασκευή των μικροκαψουλών.

Χρόνος υδρόλυσης (h)	Μέσο κατά ιξώδες (Mv) μοριακό βάρος (g/mol)	Πειραματική διαδικασία που χρησιμοποιήθηκε η συγκεκριμένη ποιότητα PLA
122	50000±472	Μικροκάψουλες PLA με εγκλεισμένη κουμαρίνη-6
172	24600±1600	Μικροκάψουλες PLA με εγκλεισμένη κουμαρίνη-6
240	18300±970	Μικροκάψουλες PLA με εγκλεισμένη ουμπελλιφερόνη

5.4. Πειραματική διαδικασία παραγωγής μικροκαψουλών PLA

5.4.1. Μικροκάψουλες PLA με εγκλεισμένη ουσία την ουμπελλιφερόνη

Για την παραγωγή των μικροκαψουλών χρησιμοποιείται η μέθοδος γαλακτωματοποίησης με εξάτμιση του διαλύτη και συγκεκριμένα η τεχνική του διπλού γαλακτώματος. Πριν από την έναρξη της παρασκευής του διπλού γαλακτώματος προετοιμάζονται η οργανική φάση (OP), στην οποία βρίσκονται διαλυμένα το πολυμερές (PLA: $M_v=18300\pm970$) και η υδρόφοβη δραστική ουσία (ουμπελλιφερόνη) καθώς και η εσωτερική (IWP) και η εξωτερική υδατική φάση (EWP) με αναλογίες όγκων: IWP:OP=1:20 και EWP:PE= 4:1 (όπου PE (Primary Emulsion) ο όγκος της εσωτερικής υδατικής μαζί με την οργανική). Κατά το πρώτο στάδιο της τεχνικής, η εσωτερική υδατική φάση ομογενοποιείται με την οργανική στις 11.000 rpm για 1 min και παρασκευάζεται το πρωταρχικό γαλάκτωμα (PE) (water in oil, w/o). Κατά το δεύτερο στάδιο, το πρωταρχικό αυτό γαλάκτωμα ομογενοποιείται με την εξωτερική υδατική φάσης στις 11000 rpm για 10 min προς δημιουργία του τελικού διπλού γαλακτώματος (water in oil in water, w/o/w). Ως εσωτερική και εξωτερική υδατική φάση χρησιμοποιείται υδατικό διάλυμα πολυβινυλικής αλκοόλης (PVA) 1% ενώ ως διαλύτης της οργανικής φάσης δοκιμάζονται διάφορα μίγματα διαλυτών της ουσίας και του πολυμερούς.

Το PVA που χρησιμοποιείται για την παρασκευή των υδατικών φάσεων αποτελεί τον γαλακτωματοποιητή-σταθεροποιητή της διεργασίας και εμφανίζει βαθμό υδρόλυσης 87-90% και $M_w=30000-70000$.

Μετά την παρασκευή του, το διπλό γαλάκτωμα αφήνεται υπό μαγνητική ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος προκειμένου να εξατμιστεί ο διαλύτης. Στην συνέχεια η

υδατική πλέον διασπορά φυγοκεντρείται τρεις φορές για 20 min, για την έκπλυση του γαλακτωματοποιητή, στις 12.000 rpm και σε θερμοκρασία 5°C. Τα υπερκείμενα της φυγοκέντρησης συλλέγονται και δίνουν μια πρώτη εικόνα για την πραγματοποίηση ή όχι του μικροεγκλεισμού.

Τέλος μετά την φυγοκέντρηση και αφού υποβληθούν σε διαδικασία λυοφιλίωσης (freeze drying), οι μικροκάψουλες παραλαμβάνονται σαν λευκό στερεό που θυμίζει μορφή βαμβακιού. Στον πίνακα (5.3) συνοψίζονται οι αναλογίες και οι πειραματικές συνθήκες που ακολουθούνται κατά την παραγωγή των μικροκαψουλών της ουμπελλιφερόνης.

Πίνακας 5.4: Αναλογίες- συνθήκες της πειραματικής διαδικασίας μικροεγκλεισμού της ουμπελλιφερόνης

ΑΝΑΛΟΓΙΕΣ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ ΟΥΜΠΕΛΛΙΦΕΡΟΝΗΣ	
μάζα δραστικής ουσίας/μάζα πολυμερούς	10%
συγκέντρωση διαλύματος PLA στην OP	2,5 % w/v (g/ml)
IWP:OP	1:20
EWP:PE	4:1
ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ	
χρόνος ανάμιξης IWP-OP	1 min
χρόνος ανάμιξης EWP-PE	10 min

Όπως προαναφέρθηκε, στην παραπάνω πειραματική διαδικασία παραγωγής των μικροκαψουλών, ως διαλύτης της οργανικής φάσης χρησιμοποιούνται μίγματα διαλυτών εξαιτίας της δυσκολίας εύρεσης κοινού διαλύτη της ουμπελλιφερόνης και του PLA. Στον πίνακα (5.4) παρουσιάζονται τα μίγματα διαλυτών που εξετάζονται στην παρούσα διπλωματική εργασία.

Πίνακας 5.5: Διαλύτες Οργανικής φάσης που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία μικροεγκλεισμού της ουμπελλιφερόνης

ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΦΑΣΗ	
ΜΙΓΜΑ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (Πολυμερούς-Ουσίας)	ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ
Διχλωρομεθάνιο-Μεθανόλη	ΑΛ1, ΑΛ2, ΑΛ3, ΑΛ4
Χλωροφόρμιο-Μεθανόλη	ΑΛ6
Χλωροφόρμιο-Ακετόνη	ΑΛ7

Μετά την παραλαβή των μικροκαψουλών η απόδοση της διεργασίας (μαζική απόδοση) υπολογίζεται σύμφωνα με την εξίσωση 9 :

$$\% \text{Απόδοση διεργασίας} = \frac{m_{\text{μικροκαψουλών}}}{m_{\text{προπολυμερούς}} + m_{\text{ουσίας}}}$$

Εξίσωση 9

Όπου $m_{\text{μικροκαψουλών}}$: η μάζα (g) των στερεών μικροκαψουλών μετά την διαδικασία της λυοφιλίωσης, $m_{\text{προπολυμερούς}}$ η αρχική μάζα (g) του προπολυμερούς που χρησιμοποιείται για την παραγωγή των μικροκαψουλών και $m_{\text{ουσίας}}$ η αρχικά μάζα της ουσίας που προορίζεται για εγκλεισμό.

5.4.2. Μικροκάψουλες PLA με εγκλεισμένη ουσία την κουμαρίνη-6

Για την παραγωγή μικροκαψουλών από PLA ($M_n=24600 \pm 1600$) με σκοπό τον εγκλεισμό της κουμαρίνης-6, εφαρμόζονται δυο διαφορετικές πειραματικές διαδικασίες. Στην πρώτη πειραματική διαδικασία χρησιμοποιείται και πάλι η τεχνική του διπλού γαλακτώματος, με τις ίδιες αναλογίες και πειραματικές συνθήκες που παρατίθενται για τον εγκλεισμό της ουμπελλιφερόνης (Πειραματική διαδικασία Α). Η δεύτερη πειραματική διαδικασία προκύπτει με τροποποίηση της αρχικής, από βιβλιογραφικά δεδομένα για τον εγκλεισμό της κουμαρίνης-6 (Πειραματική διαδικασία Β) [72]. Οι αναλογίες και οι πειραματικές συνθήκες που τροποποιούνται και παρουσιάζονται διαφορετικές εμφανίζονται στον πίνακα (5.5):

Πίνακας 5.6: Πειραματικές διαδικασίες εγκλεισμού κουμαρίνης-6

ΣΥΓΚΡΙΣΗ		
	Πειραματική διαδικασία Α	Πειραματική διαδικασία Β
EWP-PE	4:1	2:1
χρόνος ανάμιξης EWP-PE	10 min	30 s
$M_{\text{ουσίας}}/M_{\text{πολυμερούς}}$	10%	0,8%

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα, με τις νέες πειραματικές συνθήκες, χρησιμοποιείται για την δημιουργία του διπλού γαλακτώματος, αναλογία όγκων εξωτερικής υδατικής φάσης προς το πρωταρχικό γάλακτωμα 2:1. Ο χρόνος ανάμιξης του πρωταρχικού γαλακτώματος με την εξωτερική υδατική φάση μειώνεται μόλις στα

30 s ενώ σημαντικά μειώνεται και ο λόγος της μάζας της ουσίας προς την μάζα του πολυμερούς, από 10% σε 0,8%. Ακόμα στην πειραματική διαδικασία B, φτιάχνεται ξεχωριστά η οργανική φάση της κουμαρίνης-6 με συγκέντρωση (7 mg/ml), και προστίθεται στην οργανική φάση του πολυμερούς μαζί με την εσωτερική υδατική φάση, κατά την παρασκευή του πρωταρχικού γαλακτώματος.

Στον πίνακα 5.6 εμφανίζονται τα πειράματα με τα οποία διερευνώνται οι δύο πειραματικές διαδικασίες.

Πίνακας 5.7: Διερεύνηση των δύο πειραματικών μεθόδων εγκλεισμού της κουμαρίνης-6

Πειραματική διαδικασία	Αναλογία EWP:PE	Χρόνος ανάμιξης EWP:PE	Μουσίας/Μπολυμερούς	Πειράματα
A	4:1	10 min	10%	ΑΛ8, Α9
B	2:1	30 s	0,8%	ΑΛ10, ΑΛ11, ΑΛ12, ΑΛ13, ΑΛ14, ΑΛ15, ΑΛ16, ΑΛ17, ΑΛ18, ΑΛ19, ΑΛ20

Κατά την παρασκευή των μικροκαψουλών της κουμαρίνης-6, ως διαλύτης της οργανικής φάσης χρησιμοποιείται μόνο το διχλωρομεθάνιο, καθώς ο διαλύτης αυτός διαλύει τόσο το πολύ(γαλακτικό οξύ) όσο και την συγκεκριμένη κουμαρίνη.

Τα γαλακτώματα της κουμαρίνης-6 παρουσιάζονται με έντονο κίτρινο χρώμα και για αυτό κατά την φυγοκέντρωση τους, τα υπερκείμενα που συλλέγονται δίνουν μία πρώτη εικόνα για την επιτυχία ή όχι του μικροεγκλεισμού. Ένα έντονο κίτρινο υπερκείμενο συνεπάγεται ότι πιθανόν μεγάλη ποσότητα της κουμαρίνης-6 δεν έχει εγκλειστεί σε αντίθεση με ένα πιο άχρωμο υπερκείμενο που υποδεικνύει την μη ύπαρξη μεγάλης ποσότητας της ουσίας σε αυτό. Σε κάθε περίπτωση ωστόσο, το χρώμα των υπερκείμενων σχετίζεται και με την συγκέντρωση της ουσίας που χρησιμοποιείται καθώς μεγάλη συγκέντρωση συνεπάγεται πιο έντονο χρώμα στα υπερκείμενα διαλύματα.

Από τις μικροκάψουλες που παραλαμβάνονται μετά το στάδιο της λυοφιλίωσης υπολογίζεται και πάλι η μαζική απόδοση της διεργασίας με την ίδια ακριβώς μέθοδο που περιγράφηκε και στην πειραματική διαδικασία παραγωγής των μικροκαψουλών της συμπελλιφερόνης.



Εικόνα 5.5: Α) Υπερκεείμενα διαλύματα από την φυγοκέντρωση των γαλακτωμάτων της κουμαρίνης-6 (αριστερά), Β) Διπλό γαλάκτωμα κουμαρίνης-6 μετά την εξάτμιση του διαλύτη και πριν την φυγοκέντρωση (δεξιά)

5.5. Διεργασία του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης.

Για τον μεταπολυμερισμό στερεάς κατάστασης χρησιμοποιείται η διάταξη που φαίνεται στην εικόνα. Η διάταξη αποτελείται από τα εξής:

- Φούρνος κενού
- Κυλινδρικός αντιδραστήρας στερεά κλίνης από ανοξείδωτο χάλυβα με ύψος 10cm, διάμετρο 1cm, ακτίνα 0,5 cm και επιφάνεια 0,79 cm²
- Ροόμετρο αερίων (ball rheometer)
- Φιάλη αζώτου
- Σωλήνες για την μεταφορά αζώτου στον αντιδραστήρα



Εικόνα 5.6: Πειραματική διάταξη που χρησιμοποιείται για την διεργασία του πολυμερισμού στερεάς κατάστασης

Προκειμένου να διεξαχθεί η διεργασία με επιτυχία, κρίνεται απαραίτητη η ροή φέροντος αερίου αζώτου δια μέσου του αντιδραστήρα, για δύο κυρίως λόγους. Πρώτον με αυτόν τον τρόπο διασφαλίζεται η ύπαρξη αδρανούς περιβάλλοντος στο

εσωτερικό του και αποτρέπεται η παρουσία οξυγόνου που θα μπορούσε να επιφέρει την οξείδωση του πολυ(γαλακτικού οξέος). Δεύτερον με αυτόν τον τρόπο απομακρύνονται τα προϊόντα της αντίδρασης συμπύκνωσης καθώς και των πιθανών παράπλευρων αντιδράσεων.

Η πειραματική διαδικασία ξεκινά με την εισαγωγή περίπου 200mg μικροκαψουλών στον αντιδραστήρα και την τοποθέτηση αυτού στο εσωτερικό του φούρνου. Το άνω και το κάτω μέρος του αντιδραστήρα καλύπτονται με κόσκινα προκειμένου να αποφευχθούν οι απώλειες. Στην συνέχεια ρυθμίζεται το ροόμετρο εισόδου στην επιθυμητή παροχή ενώ το ροόμετρο εξόδου αφήνεται πλήρως ανοιχτό και χρησιμοποιείται για επιβεβαίωση ότι η ροή εξόδου είναι η ίδια με την ροή της εισόδου.

Πριν από το άνοιγμα του φούρνου και την έναρξη της διεργασίας του SSP, το σύστημα αφήνεται για 30min υπό συνεχή ροή του φέροντος αερίου προκειμένου να επιτευχθεί η αδρανής ατμόσφαιρα. Στην συνέχεια ανοίγεται ο φούρνος και ορίζεται στην επιθυμητή θερμοκρασία. Η θερμοκρασία στην οποία λαμβάνει χώρα ο μεταπολυμερισμός στερεάς κατάστασης, είναι υψηλότερη από το σημείο υαλώδους μετάπτωσης (T_g), αλλά και χαμηλότερη από το σημείο τήξεως (T_m) του πολυμερούς, ώστε να επιτυγχάνεται η επιθυμητή κινητικότητα των αλυσίδων άλλα ταυτόχρονα να διατηρείται η στερεά κατάσταση του δείγματος. Η έναρξη υπολογισμού του χρόνου της διεργασίας ξεκινάει από την στιγμή που η θερμοκρασία του φούρνου φτάνει στην τιμή που του έχει οριστεί.

Για τη βαθμονόμηση του φούρνου γίνεται χρήση αναλογικού θερμοστοιχείου. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον ακόλουθο πίνακα:

Πίνακας 5.1: Βαθμονόμηση φούρνου

T φούρνου (°C)	T θερμοστοιχείου (°C)
120	108
125	111
130	117
135	119

Όσον αφορά την ταχύτητα ροής του αζώτου αυτή υπολογίζεται εύκολα μέσω της διατομής του αντιδραστήρα που είναι γνωστή και μέσω της ογκομετρικής παροχής που διέρχεται από αυτήν:

$$\dot{V} = \oint u * A \rightarrow u = \frac{\dot{V}}{A}$$

Εξίσωση 10

όπου V η ογκομετρική παροχή του αζώτου και A το εμβαδόν της διατομής. Επομένως προκύπτει:

$$u = \frac{\dot{V}}{A} = \frac{\dot{V}}{\pi * \left(\frac{d}{2}\right)^2} = \frac{\dot{V}}{\pi * r^2} = \frac{500 \frac{mL}{min}}{\pi * 0,5^2 cm^2} = \frac{500 * 10^{-6} m^3}{\pi * 0,25 * (10^{-2})^2 m^2 * 60 s} = 0,11 \frac{m}{s}$$

Εξίσωση 11

5.6. Μελέτη της αποδέσμευσης της εγκλεισμένης ουσίας

Αρχικά παρασκευάζεται όξινο διάλυμα με προσθήκη 1,7422 g άλατος K_2HPO_4 σε 100 ml H_2O και βασικό διάλυμα με διάλυση 2,0414 g άλατος KH_2PO_4 σε 150 ml H_2O . Τα δύο διαλύματα αναμειγνύονται προκειμένου να σχηματιστεί ρυθμιστικό διάλυμα με $PH=7$. Σε σμυρισμένη κωνική φιάλη διαλύονται 200 mg λυοφιλοποιημένων μικροκαψουλών με εγκλεισμένη δραστική ουσία σε 30 ml ρυθμιστικού διαλύματος και το διάλυμα τίθεται υπό ήπια ανάδευση (100 rpm) σε μαγνητικό αναδευτήρα. Μετά από 15 μέρες λαμβάνεται η μέτρηση. Τα 30 ml της σμυρισμένης κωνικής φιάλης συλλέγονται σε tube και φυγοκεντρώνται στις 12.000 rpm, στους 5 °C για 20min. Το υπερκείμενο διάλυμα συλλέγεται και αφήνεται σε θέρμανση προς εξάτμιση του ρυθμιστικού διαλύματος. Αφού εξατμιστεί το ρυθμιστικό διάλυμα, προστίθενται 30 ml αιθανόλης και το διάλυμα αφήνεται και πάλι σε μαγνητική ανάδευση, προκειμένου να διαλυθεί η απελευθερωμένη δραστική ουσία. Στην συνέχεια το διάλυμα οδηγείται για εύρεση της συγκέντρωσης που έχει απελευθερωθεί μέσω φασματοσκοπίας απορρόφησης υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) [73].

5.7. Μέθοδοι χαρακτηρισμού των μικροκαψουλών PLA

Στην υποενότητα αυτή περιγράφονται οι μέθοδοι χαρακτηρισμού και ανάλυσης των μικροκαψουλών πολυ(γαλακτικού οξέος) που έλαβαν χώρα πριν και μετά την εφαρμογή του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης.

5.7.1. Μορφολογία μικροκαψουλών

5.7.1.1. Οπτικό μικροσκόπιο

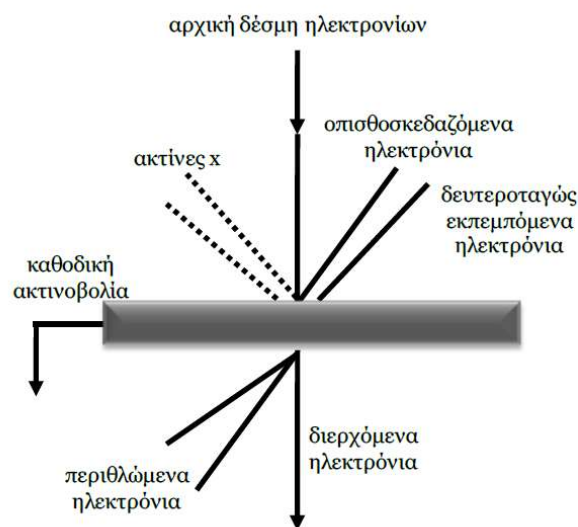
Για την παραλαβή φωτογραφιών των μικροκαψουλών πραγματοποιείται οπτική μικροσκοπία. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιείται το μικροσκόπιο Examet Union 82160 εφοδιασμένο με Sony CCD-IRIS (SSC-C370P) κάμερα. Η εικόνα λαμβάνεται από υδατική διασπορά των μικροκαψουλών μετά το στάδιο της φυγοκέντρωσης.

5.7.1.2. Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM)

Η Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM) είναι μία από τις σύγχρονες και ευέλικτες μεθόδους ανάλυσης της μικροδομής μεγάλου αριθμού υλικών και αποτελεί μία τεχνική παρατήρησης της μορφολογίας των επιφανειών μετάλλων, πολυμερών και κεραμικών. Χρησιμοποιείται για στερεά δείγματα και δίνει εικόνες υψηλού βαθμού διεύθυνσης.

Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης είναι ένα όργανο που λειτουργεί όπως περίπου και ένα οπτικό μικροσκόπιο μόνο που χρησιμοποιεί δέσμη ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας αντί για φως, προκειμένου να εξετάσει αντικείμενα σε λεπτομερή κλίμακα. Η εκπομπή δέσμης ηλεκτρονίων με πολύ μικρό μήκος κύματος επιτρέπει ακόμα και την διάκριση των ατόμων του μεταλικού πλέγματος και την απεικόνιση τους στην οθόνη.

Η θερμική εκπομπή των ηλεκτρονίων επιτυγχάνεται από ένα νήμα βολφραμίου το οποίο λειτουργεί σαν κάθοδος και η δέσμη αποκτά καθορισμένο μήκος κύματος καθώς διέρχεται από έναν επιταχυντή σταθερής τάσης. Όταν η δέσμη προσπίπτει πάνω στην εξεταζόμενη επιφάνεια, τα ηλεκτρόνια είτε περιθλώνται είτε διαθλώνται από τα άτομα του πλέγματος. Από τα άτομα των στοιχείων εκπέμπονται κυρίως δευτερογενή (secondary) και οπισθοσκεδαζόμενα (backscattered) ηλεκτρόνια καθώς και ακτίνες X.



Εικόνα 5.7: Σχηματική απεικόνιση της πορείας των ηλεκτρονίων κατά την πρόσπτωση τους στην επιφάνεια του εξεταζόμενου δείγματος.

Η εφαρμογή της τεχνικής της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης, βασίζεται λοιπόν στην εκπομπή δευτερογενούς δέσμης ηλεκτρονίων χαμηλής ενέργειας (250 eV), κατά την πρόσπτωση των ηλεκτρονίων στις διάφορες περιοχές του εξεταζόμενου δείγματος, και την μετατροπή αυτών σε εικόνα, με την βοήθεια κατάλληλου συστήματος μαγνητικών φακών. Η δέσμη των διερχόμενων ηλεκτρονίων προβάλλεται με

μαγνητικούς φακούς σε ένα ειδικό πέτασμα και επιτρέπει την απεικόνιση της δομής του δείγματος από το οποίο διήλθε. Ανάλογα με το δυναμικό επιτάχυνσης των ηλεκτρονίων που εφαρμόζεται, μπορεί να επιτευχθεί μεγέθυνση έως και 1.000.000 φορές [64],[74].

Στην παρούσα διπλωματική εργασία το SEM χρησιμοποιήθηκε για την παρατήρηση της μορφολογίας των μικροκαψουλών του πολυ(γαλακτικού οξέος). Το όργανο που χρησιμοποιείται είναι το μοντέλο Quanta 200 της εταιρείας FEI συνδυασμένο με φασματόμετρο ακτίνων Χ ενεργειακής διασποράς-EDAX. Το Quanta 200 επιτυγχάνει μεγεθύνσεις μεγαλύτερες του 100,000x με διακριτική ικανότητα 6 nm. Τα δείγματα των μικροκαψουλών εναποτίθενται αρχικά σε ξηρή μορφή, είτε μετά από λυοφιλοποίηση είτε μετά από συμβατική ή υπό κενό ξήρανση της διασποράς, σε αγωγήμη ανθρακική ή μεταλλική ταινία-βάση και στην συνέχεια επιμεταλλώνονται με μία λεπτή επίστρωση αγωγήμου μετάλλου (στην συγκεκριμένη διεργασία επιχρυσώνονται), οπότε και είναι έτοιμα για μέτρηση. Η επιμετάλλωση είναι υποχρεωτική ώστε η επιφάνεια του προς εξέταση δείγματος να γίνει αγωγήμη, ούτως ώστε η δέσμη των ηλεκτρονίων να επιφέρει τη βέλτιστη ανάλυση της εικόνας.

5.7.2. Ανάλυση μεγέθους σωματιδίων με σκέδαση δέσμης laser (Master Size Micro)

Η μέτρηση του μεγέθους των μικροκαψουλών του πολυ(γαλακτικού οξέος) πραγματοποιήθηκε με χρησιμοποίηση του οργάνου Malvern Mastersizer Micro 2000.

Αρχικά σε 30 mg μικροκαψουλών προστίθενται 8 ml απιονισμένο νερό και παρασκευάζονται υδατικές διασπορές των δειγμάτων. Τα δείγματα εισάγονται στο όργανο και με βάση τον δείκτη διάθλασης της δραστικής ουσίας και του μέσου της διασποράς (νερό), επιλέγεται η κατάλληλη μέθοδος μέτρησης που θα οριστεί στο όργανο. Για κάθε δείγμα πραγματοποιούνται δύο μετρήσεις και υπολογίζονται τα μεγέθη $D(0,9)$, $D(0,5)$, $D(0,1)$, τα οποία αντιπροσωπεύουν την διάμετρο κάτω από την οποία βρίσκεται το 90%, το 50% και το 10% αντίστοιχα του πληθυσμού της διασποράς. Τα παραπάνω μεγέθη, λαμβάνονται για κάθε διασπορά μικροκαψουλών ως ο μέσος όρος των δύο μετρήσεων. Από τις τιμές αυτές υπολογίζεται τελικά ο δείκτης πολυδιασποράς κάθε δείγματος ως εξής:

$$PDI = \frac{D(0,9) - D(0,1)}{D(0,5)}$$

Εξίσωση 12: Δείκτης πολυδιασποράς

Ο δείκτης πολυδιασποράς (PDI), αποτελεί χαρακτηριστικό μέγεθος των μικροσωματιδίων καθώς αντιπροσωπεύει το ποσοστό ομοιογένειας του μεγέθους τους και παίρνει τιμές από 0 έως 1 (0 μονοδιάσπαρτα σωματίδια).

5.7.3. Υπολογισμός άμεσης απόδοσης εγκλεισμού

Εκτός από τον χαρακτηρισμό των ιδιοτήτων των παραγόμενων μικροκαψουλών, θα πρέπει επίσης να προσδιοριστεί η αποτελεσματικότητα του μικροεγκλεισμού. Για το σκοπό αυτό, υπολογίζεται η απόδοση εγκλεισμού της δραστικής ουσίας σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο:

$$\% \text{ Άμεση Απόδοση Εγκλεισμού (\%EE)} = \frac{\text{μάζα της εγκλεισμένης δραστικής ουσίας (mg)}}{\text{αρχική μάζα της δραστικής ουσίας που τέθηκε για εγκλεισμό (mg)}} * 100$$

Εξίσωση 13

Γενικά η άμεση απόδοση εγκλεισμού αποτελεί έναν από τους πιο σημαντικούς παράγοντες προκειμένου να επιβεβαιωθεί ότι ο μικροεγκλεισμός έχει πραγματοποιηθεί με επιτυχία. Στην παρούσα διπλωματική εργασία, η άμεση απόδοση εγκλεισμού, υπολογίζεται μέσω φασματοσκοπίας απορρόφησης υπεριώδους-ορατού (UV-Vis).

Στην UV-Vis φασματοσκοπία απορροφάται ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία του υπεριώδους (200nm-400nm) καθώς και του ορατού φάσματος (400nm-800nm) από τα μόρια μιας διαλυμένης ουσίας, τα οποία υφίστανται ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις. Για αυτό και η μέθοδος αυτή ονομάζεται επίσης και μοριακή φασματομετρία.

Με τα κοινά φασματομέτρα υπεριώδους και ορατού μελετώνται οι ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις που βρίσκονται στην περιοχή μήκους κύματος κοντά και πάνω από 200 nm. Στην περιοχή αυτή δίνουν φάσματα οι αυξόχρωμες και οι χρωμοφόρες ομάδες σε ένα μόριο. Οι αυξόχρωμες είναι δραστικές ομάδες όπως -OH, -NH₂ και -Cl που έχουν μη δεσμικά ηλεκτρόνια σθένους και απορροφούν σε μήκη κύματος κοντά, άλλα όχι μεγαλύτερα από 200nm και αντιστοιχούν σε n→σ (αντιδεσμικό τροχιακό) μεταπτώσεις. Οι χρωμοφόρες ομάδες είναι δραστικές ομάδες, π.χ. ακόρεστοι δεσμοί, που αποτελούν μέρος ενός κορεσμένου μορίου, το οποίο δεν απορροφά ακτινοβολία και δεν έχει ελεύθερα μη δεσμικά ηλεκτρόνια σθένους (π.χ. μια αλυσίδα υδρογονάνθρακα). Οι χρωμοφόρες ενώσεις απορροφούν στα 190-800 nm.

Μια ανάλυση φασματομετρίας υπεριώδους-ορατού ενός δείγματος πραγματοποιείται σε φασματομέτρο UV-Vis με μέτρηση την ένταση της ακτινοβολίας που διέρχεται από το δείγμα και με χρήση μιας αναφοράς. Το φασματομέτρο αποτελείται από μια φωτεινή πηγή, έναν μονοχρωμάτορα, που επιλέγει την ακτινοβολία του απαραίτητου μήκους κύματος, και έναν ανιχνευτή, ενώ μπορεί να είναι είτε μονής είτε διπλής δέσμης. Σε ένα όργανο μονής δέσμης, όλη η ακτινοβολία διέρχεται από την κυψελίδα του δείγματος και το δείγμα πρέπει να αφαιρεθεί για να μετρηθεί η αναφορά. Αντίθετα σε ένα όργανο διπλής δέσμης, η ακτινοβολία χωρίζεται σε δύο δέσμες πριν φτάσει στο δείγμα. Η μία δέσμη χρησιμοποιείται για την αναφορά (τυφλό δείγμα), ενώ η άλλη περνά μέσα από το δείγμα. Η ένταση της δέσμης αναφοράς λαμβάνεται ως 100% διαπερατότητα

(δηλαδή 0 απορρόφηση) και η μέτρηση που προκύπτει αποτελεί τον λόγο των εντάσεων από τις δύο δέσμες. Μέσω της ανάλυσης UV-Vis ενός δείγματος, λαμβάνεται ένα φάσμα που αντιπροσωπεύει με τη μορφή κορυφών, τις απορροφήσεις των χρωμοφόρων του ομάδων, σε χαρακτηριστικά για κάθε ομάδα μήκη κύματος, στα οποία παρατηρείται η μέγιστη απορρόφηση της ακτινοβολίας UV. Η μέγιστη απορρόφηση μιας χαρακτηριστικής ομάδας χρωμοφόρου μιας ένωσης, αναφέρεται και ως απορρόφηση της ένωσης, και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον ποσοτικό προσδιορισμό της, καθώς εξαρτάται από τη συγκέντρωσή της. Ο ποσοτικός προσδιορισμός μια ένωσης μέσω της φασματοσκοπίας υπεριώδους ορατού πραγματοποιείται με χρήση του νόμου Lambert-Beer:

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

Εξίσωση 14: Lambert-Beer

Όπου:

A = η απορρόφηση (absorbance)

T = η % διαπερατότητα (transmittance)

I_0 = η ένταση της ακτινοβολίας που εξέρχεται από το τυφλό διάλυμα

I = η ένταση της ακτινοβολίας που εξέρχεται από το δείγμα

b = το μήκος της διαδρομής της ακτινοβολίας στο διάλυμα

c = η συγκέντρωση της ουσίας που αναλύεται

ϵ = η μοριακή απορροφητικότητα της ουσίας

Έχοντας δηλαδή βρει από το φάσμα απορρόφησης της ένωσης το κατάλληλο μήκος κύματος, μετριέται η απορρόφησης της σε συνάρτηση με την συγκέντρωσή της, οπότε προκύπτει η καμπύλη αναφοράς. Κατόπιν, με την μέτρηση της απορρόφησης του άγνωστου δείγματος, προκύπτει από την καμπύλη αναφοράς η συγκέντρωση αυτού [75],[76].

Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε στον υπολογισμό της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού είναι το Evolution 220 UV-Visible Spectrophotometer της εταιρίας Thermo Scientific.

5.7.3.1. Πειραματική Διαδικασία

Για τον υπολογισμό της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού, εισάγονται σε κωνική φιάλη, 10 mg μικροκαψουλών ουμπελλιφερόνης ή 50 mg μικροκαψουλών κουμαρίνης-6, μαζί με 100 ml διχλωρομεθάνιο και το διάλυμα σφραγίζεται και αφήνεται για μία μέρα σε μαγνητική ανάδευση προκειμένου να διαλυθεί το πολυμερικό κέλυφος των μικροκαψουλών και να απελευθερωθεί η εγκλεισμένη ουσία. Για κάθε πείραμα

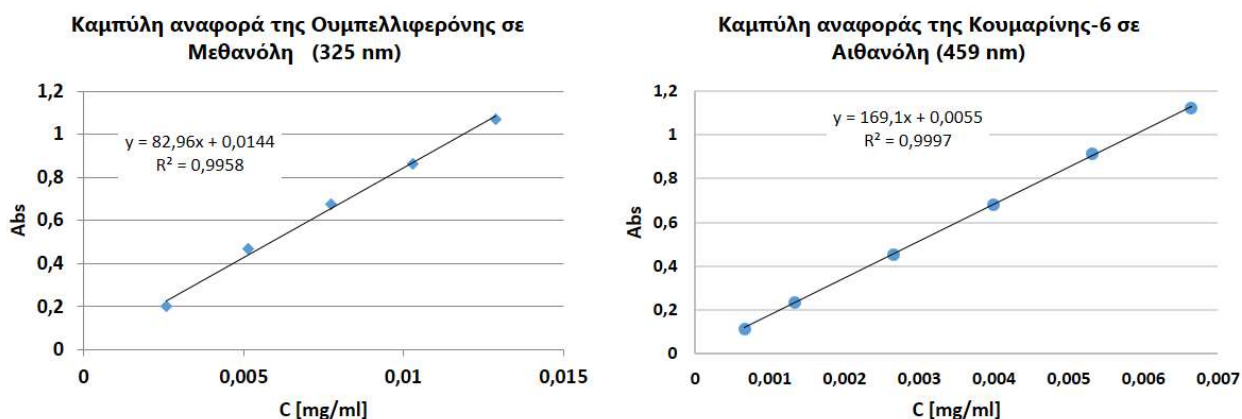
μικροκαψουλών παρασκευάζονται δύο δείγματα προκειμένου να ελέγχεται η επαναληψιμότητα των μετρήσεων.

Μόλις περάσει το χρονικό διάστημα της μίας μέρας, οι κωνικές φιάλες ανοίγονται και αφήνονται σε απαγωγό με θέρμανση προκειμένου να εξατμιστεί ο διαλύτης. Στην συνέχεια σε κάθε κωνική φιάλη προστίθεται κατάλληλη ποσότητα του διαλύτη της δραστικής ουσίας, στον οποίο διαλύεται μόνο η κουμαρίνη ενώ τα υπολείμματα του PLA ή του PVA παραμένουν αδιάλυτα. Στα δείγματα των μικροκαψουλών πολυ(γαλακτικού οξέος) με εγκλεισμένη συμπελλιφερόνη, προστίθενται 10 ml μεθανόλης, ενώ στα δείγματα των μικροκαψουλών πολυ(γαλακτικού οξέος) με εγκλεισμένη κουμαρίνη-6, προστίθενται 30 ml αιθανόλης. Τα δείγματα κλείνονται και αφήνονται και πάλι υπό μαγνητική ανάδευση για μία μέρα.

Αφού ολοκληρωθεί η ανάδευση, τα διαλύματα διηθούνται μέσω κατάλληλων φίλτρων μιας χρήσεως, που χαρακτηρίζονται από μέγεθος πόρων 0,20 μm, προκειμένου να απομακρυνθούν από αυτά τα απομεινάρια του πολυ(γαλακτικού οξέος) καθώς και του PVA.

Ακολούθως, 3 ml από τον διαλύτη της δραστικής ουσίας εισάγονται στην κυψελίδα η οποία τοποθετείται μέσα στο φασματόμετρο στην θέση του τυφλού δείγματος και πραγματοποιείται η μέτρηση της γραμμής αναφοράς (Baseline). Έπειτα 3 ml του διαλύματος που έχει διηθηθεί, εισάγονται σε μια δεύτερη κυψελίδα, η οποία επίσης τοποθετείται στο εσωτερικό του φασματόμετρου στην θέση του δείγματος προς μέτρηση. Κατά την ανάλυση UV-Vis του δείγματος, σαρώνεται μια προκαθορισμένη περιοχή UV-Vis (200 nm - 550 nm), με το δείγμα να εκτίθεται σε ακτινοβολία πολλών μηκών κύματος και η απορρόφησή του να καταγράφεται συνεχώς. Στο τέλος της ανάλυσης UV-Vis, λαμβάνεται το προφίλ απορρόφησης του δείγματος στην καθορισμένη περιοχή UV-Vis καθώς και το φάσμα του και καταγράφεται η απορρόφηση της κορυφής που αντιστοιχεί στο κύριο συστατικό της μετρούμενης δραστικής ουσίας.

Αξίζει να σημειωθεί ότι, εάν η απορρόφηση της κορυφής που αντιστοιχεί στην ουσία είναι μεγαλύτερη από 1, πραγματοποιούνται κατάλληλες αραιώσεις του αρχικού φιλτραρισμένου διαλύματος προκειμένου η τιμή της να πέσει κοντά στην μονάδα. Για κάθε δείγμα, παίρνονται τρεις μετρήσεις από τις οποίες βγαίνει ο μέσος όρος. Στην συνέχεια η ποσοτικοποίηση της μέτρησης γίνεται μέσω της καμπύλης αναφοράς, όπου εισάγοντας την τιμή της απορρόφησης προκύπτει η αντίστοιχη συγκέντρωση της ουσίας στο διάλυμα που μετρήθηκε. Στην εικόνα παρουσιάζονται οι καμπύλες αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν για τα πειράματα εγκλεισμού της συμπελλιφερόνης καθώς και για τα πειράματα εγκλεισμού της κουμαρίνης-6.



Σχήμα 5.1: Α) Καμπύλη αναφοράς για τον υπολογισμό της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού των μικροκαψουλών της ουπελλιφερόνης (αριστερά), Β) Καμπύλη αναφορά για τον υπολογισμό της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού των μικροκαψουλών της κουμαρίνης-6 (δεξιά)

Γνωρίζοντας τον όγκο του διαλύματος και μέσω της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας που υπολογίστηκε από την καμπύλη, υπολογίζεται η μάζα της ουσίας που αντιστοιχεί στα mg μικροκαψουλών που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των δειγμάτων. Κάνοντας αναγωγή στην συνολική μάζα των μικροκαψουλών που συλλέχθηκε προκύπτει τελικά η μάζα της δραστικής ουσίας που έχει εγκλειστεί. Έχοντας την τιμή αυτή είναι δυνατός ο υπολογισμός της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού μέσω της εξίσωσης 13.

5.7.4. Θερμικές ιδιότητες μικροκαψουλών

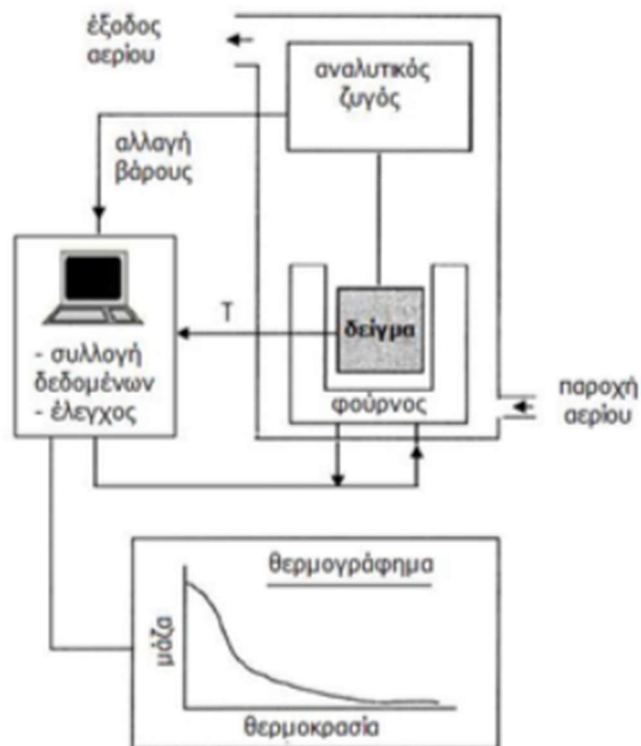
5.7.4.1. Θερμοσταθμική Ανάλυση (TGA)

Η αρχή της Θερμοσταθμικής Ανάλυσης (TGA), βασίζεται στην μεταβολή του βάρους που υφίσταται μία ουσία, όταν αυτή θερμαίνεται για ένα χρονικό διάστημα με συγκεκριμένο ρυθμό αύξησης της θερμοκρασίας. Η μάζα του δείγματος καταγράφεται συνεχώς σε σχέση με την θερμοκρασιακή μεταβολή της, ενώ ταυτόχρονα διατηρείται ελεγχόμενη ατμόσφαιρα απαγωγής των παραγόμενων προϊόντων, η οποία μπορεί να είναι οξειδωτική (π.χ. O_2 , αέρας) ή αναγωγική (π.χ. He , N_2 , Ar). Η TGA ανάλυση χρησιμοποιείται κυρίως για τη μελέτη της θερμικής διάσπασης και της θερμικής σταθερότητας υλικών, όταν αυτά θερμαίνονται κάτω από διάφορες συνθήκες. Επίσης χρησιμοποιείται για τη μελέτη της κινητικής των φυσικοχημικών δράσεων, που εμφανίζονται κατά την θερμική καταπόνηση ενός δείγματος.

Σημαντικές παράμετροι στην θερμοσταθμική ανάλυση είναι ο ρυθμός θέρμανσης του δείγματος, η αρχική και τελική θερμοκρασία του φούρνου, ο χρόνος ισοθερμοκρασιακής καταπόνησης, το περιβάλλον αερίου μέσα στο φούρνο και η ποσότητα του αναλυόμενου δείγματος.

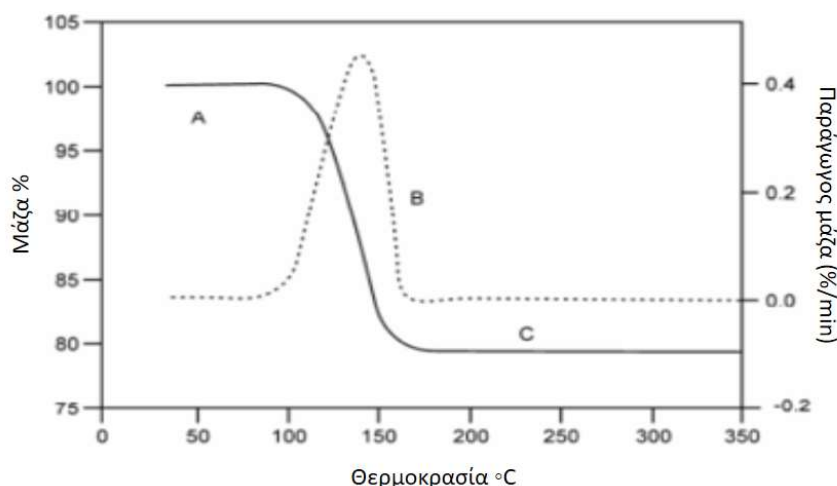
Ένα σύγχρονο όργανο θερμοσταθμικής ανάλυσης αποτελείται από τον ζυγό, που αποτελεί την καρδιά του οργάνου, τον φούρνο μέσα στον οποίο βρίσκεται ο ζυγός,

καθώς και από το σύστημα ελέγχου των λειτουργικών παραμέτρων (instrument control)/ επεξεργασίας δεδομένων (data handling) το οποίο χειρίζεται μέσω υπολογιστή.



Εικόνα 5.8: Απλοποιημένο σχήμα των βασικών τμημάτων καθώς και του τρόπου λειτουργίας ενός αναλυτή TGA

Τα συμπεράσματα από τις TGA αναλύσεις, εξάγονται από την μελέτη των θερμογραφήματων που παραλαμβάνονται. Στα γραφήματα αυτά αποτυπώνεται η μεταβολή βάρους του δείγματος σε συνάρτηση με την θερμοκρασία του ή τον χρόνο ανάλυσης. Ο ρυθμός μεταβολής του βάρους ενός δείγματος κατά την θέρμανση του αποτελεί την πρώτη παράγωγο της καμπύλης βάρους του θερμοζυγού (DTG), και αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο καθώς βοηθάει στην ερμηνεία των καμπυλών TGA λύνοντας προβλήματα υπερκαλυπτόμενων θερμικών αντιδράσεων. Από την μελέτη τόσο της καμπύλης TGA όσο και της πρώτης παραγωγού, προκύπτουν βασικές πληροφορίες σχετικά με την θερμική συμπεριφορά ενός υλικού όπως είναι η θερμοκρασία έναρξης, λήξης και μέγιστου ρυθμού μεταβολής του βάρους[64],[77].



Σχήμα 5.2: Τυπικό θερμογράφημα TGA πολυ(γαλακτικού οξέος)

Το όργανο που χρησιμοποιείται στην συγκεκριμένη διπλωματική εργασία είναι το Mettler Toledo TGA / DSC 1 STARE System (εικόνα 2.21), το οποίο εκτός από όργανο θερμοσταθμικής ανάλυσης, επιπλέον παρέχει τη δυνατότητα ταυτόχρονης λήψης φάσματος DSC. Για τον προσδιορισμό των θερμικών ιδιοτήτων των μικροκαψουλών του πολυ(γαλακτικού οξέος) άλλα και των πρώτων υλών (πολυμερούς και δραστικής ουσίας), 2-15 mg δείγματος τοποθετούνται σε καψίδια αλουμίνιας (Al_2O_3) και η θερμοκρασιακή περιοχή που μελετάται είναι από τους 30 °C μέχρι τους 550 °C με ρυθμό αύξησης 10 °C/min. Η ατμόσφαιρα του θερμοζυγού παραμένει συνεχώς αδρανής μέσω ροής αζώτου, ρυθμισμένη στα 10 mL/min. Από τη δυναμική ανάλυση TGA, προκύπτουν θερμικές ιδιότητες όπως η μέγιστη θερμοκρασία αποδόμησης (T_{dmax}), ή η θερμοκρασία αποδόμησης για απώλεια μάζας 5% κ.β. ($T_{d5\%}$), καθώς και το υπόλειμμα που παραμένει μετά την ολοκλήρωση του χαρακτηρισμού.

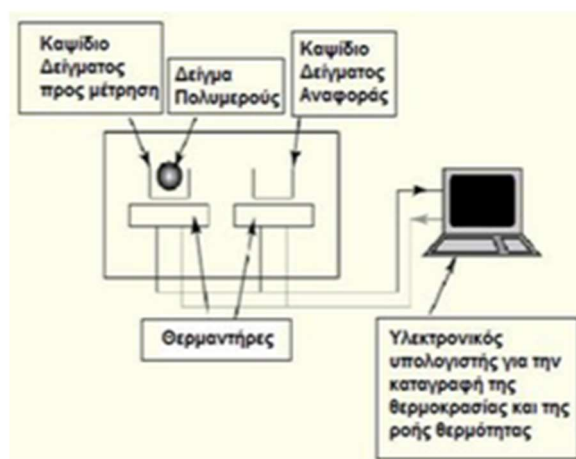
5.7.4.2. Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC)

Η Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC), αποτελεί μία κλασσική πειραματική τεχνική που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των θερμικών μεταπτώσεων των πολυμερών καθώς και για τον προσδιορισμό του ποσοστού κρυσταλλικότητας τους.

Η διάταξη DSC σαρώνει μια θερμοκρασιακή περιοχή και μελετά την συμπεριφορά του δείγματος του πολυμερούς καθώς αυτό θερμαίνεται. Καταγράφεται ουσιαστικά το ποσό θερμότητας που απαιτείται για να διατηρείται η ίδια θερμοκρασία στο δείγμα και σε ένα κατάλληλο δείγμα αναφοράς.

Συγκεκριμένα σε δύο θερμαινόμενους υποδοχείς, όπως φαίνεται στην εικόνα (5.9) , τοποθετούνται κατάλληλες κυψελίδες, από τις οποίες η μία περιέχει το δείγμα και η άλλη είναι συνήθως κενή και αποτελεί την κυψελίδα αναφοράς. Στο περιβάλλον όπου

βρίσκονται, δημιουργείται αδρανής ατμόσφαιρα μέσω ροής αζώτου και ο θερμικός ελεγκτής αρχίζει να θερμαίνει τους δύο υποδοχείς με προκαθορισμένο σταθερό ρυθμό. Η θερμοκρασία των δύο υποδοχέων προσδιορίζεται με μεγάλη ακρίβεια μέσω θερμοστοιχείων. Έτσι καταγράφεται συναρτήσε της θερμοκρασίας, η διαφορά στην ροή θερμότητας (η οποία αποτυπώνεται στο θερμογράφημα ως κορυφή) μεταξύ του εξεταζόμενου δείγματος και του αναφοράς, που απαιτείται προκειμένου να αντισταθμιστεί μία ενδόθερμη ή εξώθερμη μεταβολή.



Εικόνα 5.9: Σχηματική αναπαράσταση διάταξης DSC

Στα γραφήματα DSC, οι ενδόθερμες και οι εξώθερμες διεργασίες απεικονίζονται ως κορυφές και τα αντίστοιχα εμβαδά τους εκφράζουν την απορροφούμενη ή εκλυόμενη θερμότητα, η οποία ανάγεται στην μάζα του δείγματος (συνήθως 5-10 mg) που έχει χρησιμοποιηθεί για την μέτρηση. Σε αυτές τις μεταβολές περιλαμβάνονται η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (T_g), η θερμοκρασία κρυστάλλωσης (T_c) και η ενθαλπία κρυστάλλωσης (ΔH_c), η θερμοκρασία τήξης (T_m) και η ενθαλπία τήξης κρυσταλλικών πολυμερών (ΔH_m). Οι θερμοκρασίες αυτές προσδιορίζουν τις θερμικές ιδιότητες ενός πολυμερούς.

Τα πολυμερή στη στερεά κατάσταση μπορεί να είναι άμορφα, κρυσταλλικά ή ημικρυσταλλικά υλικά. Σε ένα τυπικό θέρμο-γράφημα DSC ενός ημι-κρυσταλλικού πολυμερούς καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία εμφανίζεται πρώτα το σημείο υαλώδους μετάπτωσης του υλικού (T_g). Η θερμοκρασία αυτή αποτελεί το σημείο στο οποίο οι άμορφες περιοχές του πολυμερούς «ξεπαγώνουν» και αποκτούν κινητικότητα. Η μεταβολή εμφανίζεται στο διάγραμμα DSC ως ενδόθερμο φαινόμενο με ταυτόχρονη αλλαγή στην γραμμή βάσεως και ουσιαστικά παρατηρείται μια απότομη αύξηση της ειδικής θερμότητας (c_p) του πολυμερούς λόγω της αύξησης της κινητικότητας των μακροαλυσίδων στις άμορφες περιοχές. Προχωρώντας, καθώς αυξάνεται η

Θερμοκρασία, οι άμορφες περιοχές του πολυμερούς που προηγουμένως απέκτησαν κινητικότητα κρυσταλλώνονται (crystallization), διατάσσονται δηλαδή οι αλυσίδες με συγκεκριμένη διεύθυνση στο χώρο. Η διαδικασία λαμβάνει χώρα με ταυτόχρονη έκλυση θερμότητας (εξώθερμο φαινόμενο) και άρα η ροή θερμότητας στο υπό μελέτη δείγμα είναι μικρότερη από αυτή στο δείγμα αναφοράς. Το εμβαδόν της περιοχής που ορίζεται από την καταγραφόμενη κορυφή είναι ανάλογο με την ενθαλπία κρυστάλλωσης ΔH_c . Σε ακόμη υψηλότερες θερμοκρασίες εμφανίζεται μία ενδόθερμη κορυφή, η οποία αντιπροσωπεύει τη μετάβαση των κρυσταλλικών περιοχών από τη στερεά στην υγρή φάση, με άλλα λόγια την τήξη (melting) του πολυμερούς. Η κορυφή της εν λόγω καμπύλης αντιστοιχεί στο σημείο τήξεως (T_m) του πολυμερούς, ενώ από το εμβαδόν που περικλείει η καμπύλη υπολογίζεται η ενθαλπία τήξης (ΔH_m). Η κορυφή κατά την τήξη εντοπίζεται λόγω της απότομης αύξησης ροής θερμότητας προς το αναλυόμενο δείγμα.



Σχήμα 5.3: Θερμογράφημα DSC ημικρυσταλλικού πολυμερούς

Η ενδόθερμη κορυφή που παρατηρείται κατά την τήξη αποτελεί ένα ποσοτικό μέτρο της κρυσταλλικότητας του πολυμερούς. Συνεπώς, αν η ενθαλπία τήξης (ΔH_f) ενός τέλει κρυσταλλικού πολυμερούς είναι γνωστή, το ποσοστό κρυσταλλικότητας (x_c) δίνεται από την εξίσωση[64],[77]:

$$x_c = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_f} * 100\%$$

Εξίσωση 18

Στη συγκεκριμένη εργασία, χρησιμοποιήθηκε η DSC ανάλυση για τον προσδιορισμό των θερμικών ιδιοτήτων των μικροκαψουλών του πολυ(γαλακτικού οξέος) που παρασκευάστηκαν. Οι μετρήσεις έγιναν στο όργανο DSC της Mettler Toledo, τύπου

ροής θερμότητας. Για το χαρακτηρισμό των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν αλουμινένια καψίδια χωρητικότητας 40 μL , τα οποία γεμίζονταν με 5-10 mg του δείγματος, και θερμαίνονταν από τους 30 $^{\circ}\text{C}$ έως τους 210 $^{\circ}\text{C}$ στην περίπτωση των μικροκαψουλών της ουμπελλιφερόνης και από τους 30 $^{\circ}\text{C}$ έως τους 300 $^{\circ}\text{C}$ στην περίπτωση των μικροκαψουλών της κουμαρίνης-6, με ρυθμό θέρμανσης 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Το φέρον αέριο που χρησιμοποιήθηκε για δημιουργία αδρανούς ατμόσφαιρας στο περιβάλλον των δειγμάτων, ήταν το άζωτο (N_2) και η παροχή ήταν σταθερά ρυθμισμένη στα 10 mL/min. Με την μέθοδο ανάλυσης DSC, προσδιορίστηκαν τα σημεία τήξης (T_m) και οι αντίστοιχες τιμές της ενθαλπίας τήξης (ΔH_m), τα σημεία κρυστάλλωσης (T_c) και οι αντίστοιχες τιμές της ενθαλπίας κρυστάλλωσης (ΔH_c), καθώς και το σημείο υαλώδους μετάπτωσης (T_g) των μικροκαψουλών όπου αυτό ήταν δυνατό. Τέλος από τις ενθαλπίες τήξης και κρυστάλλωσης υπολογίστηκε το ποσοστό κρυσταλλικότητας των δειγμάτων.

Κεφάλαιο 6: Παραγωγή μικροκαψουλών PLA-συμπελλιφερόνης: Αποτελέσματα-Συζήτηση

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται και ερμηνεύονται όλα τα πειράματα που έλαβαν χώρα κατά την παρούσα διπλωματική εργασία, στα πλαίσια της προσπάθειας δημιουργίας μικροκαψουλών PLA, με εγκλεισμένη δραστική ουσία την συμπελλιφερόνη.

Συγκεκριμένα παρουσιάζονται τρία δοκιμαστικά πειράματα (ΑΛ1-ΑΛ3) στα οποία εξετάστηκαν δύο αρχικές συγκεντρώσεις της κουμαρίνης και στην συνέχεια παρουσιάζονται τα πειράματα ΑΛ4-ΑΛ7, με τα οποία μελετήθηκε η επίδραση του είδους του διαλύτη της οργανικής φάσης στα χαρακτηριστικά καθώς και στην άμεση απόδοση εγκλεισμού των παραγόμενων μικροκαψουλών. Ωστόσο για λόγους που θα αναλυθούν παρακάτω η μελέτη του εγκλεισμού σε μικροκάψουλες PLA, αποφασίστηκε να μην συνεχιστεί με την συγκεκριμένη δραστική ουσία.

6.1. Δοκιμαστικά πειράματα εγκλεισμού συμπελλιφερόνης

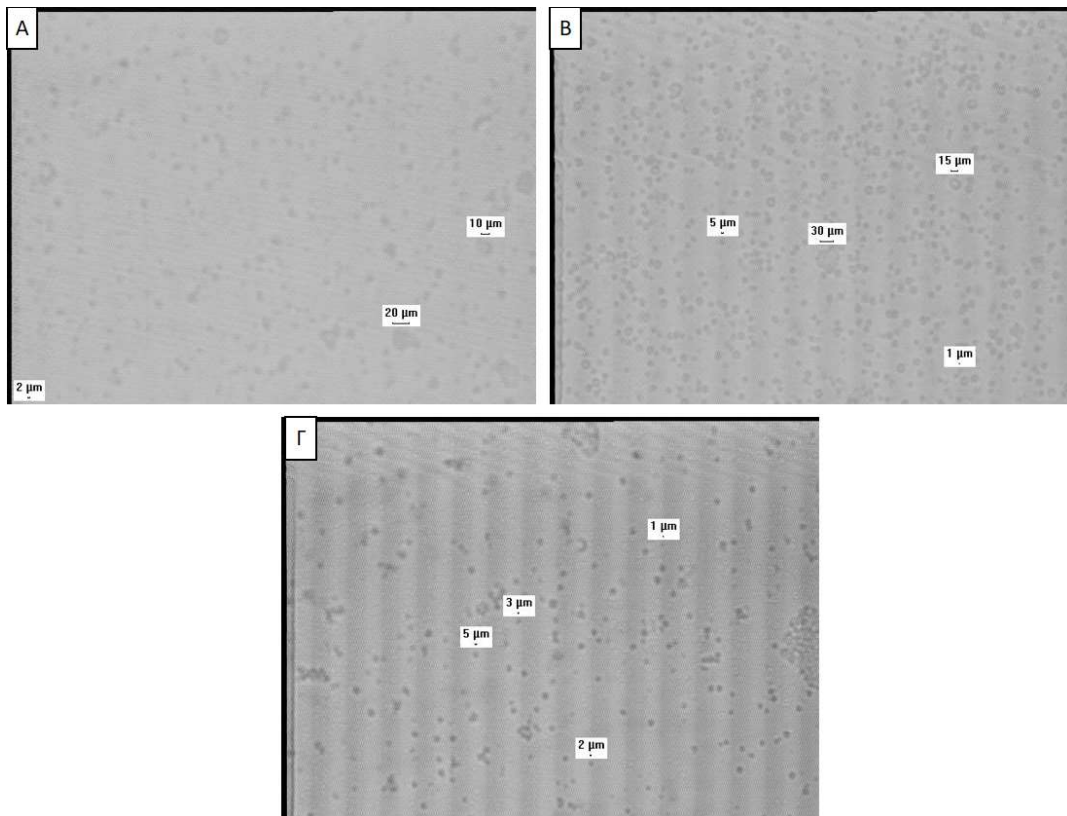
Με την πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε στο υποκεφάλαιο 5.4.1 και μέσω της τεχνικής του διπλού γαλακτώματος παρασκευάστηκε το πείραμα ΑΛ1 και η επανάληψη αυτού ΑΛ3, στα οποία δοκιμάστηκε ο εγκλεισμός 0,01 g και 0,05 g συμπελλιφερόνης σε 0,1 και 0,5 g PLA αντίστοιχα. Ακόμα παρασκευάστηκε το πείραμα ΑΛ2 στο οποίο δοκιμάστηκε η αύξηση της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας από 0,0054 g/ml σε 0,025 g/ml. Και στα τρία αυτά πειράματα χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης της οργανικής φάσης μίγμα Διχλωρομεθάνιο-Μεθανόλη. Τα πειράματα ΑΛ1, ΑΛ3, ΑΛ2 παρουσιάζονται στον πίνακα (6.1):

Πίνακας 6.1: Αρχικά δοκιμαστικά πειράματα εγκλεισμού της συμπελλιφερόνης

Πείραμα	C (Umb) (g/ml)	DCM:MeOH	Μαζική Απόδοση %	Άμεση Απόδοση Εγκλεισμού %
ΑΛ1	0,0054	2:1	61,3	-
ΑΛ3	0,0054	2:1	54,9	0,9
ΑΛ2	0,025	10:1	62,0	3,8

Από την παρατήρηση των εικόνων του οπτικού μικροσκοπίου (εικόνα (6.1)), προέκυψε το συμπέρασμα ότι και στα τρία αυτά πειράματα ΑΛ1, ΑΛ3 και ΑΛ2, δημιουργήθηκαν μικροκάψουλες οι οποίες δεν φαίνεται να εμφανίζουν εκτεταμένα συσσωματώματα και

οι οποίες φαίνεται να παρουσιάζουν σχετική ομοιομορφία ως προς το μέγεθος τους. Το μέγεθος των μικροκαψουλών από τις εικόνες προσδιορίστηκε στα 1-3 μm . Η εικόνα που λήφθηκε για το πείραμα ΑΛ1 (εικόνα (6.1 Α)), παρουσιάζεται λιγότερο καθαρή σε σχέση με τις άλλες δύο εξαιτίας της αραιότερης διασποράς που παρασκευάστηκε για το πείραμα αυτό, προκειμένου να εξεταστεί στο οπτικό μικροσκόπιο.



Εικόνα 6.1: Α) Μικροκάψουλες ΑΛ1 στο οπικό μικροσκόπιο, Β) Μικροκάψουλες ΑΛ2 στο οπτικό μικροσκόπιο, Γ) Μικροκάψουλες ΑΛ3 στο οπτικό μικροσκόπιο

Ωστόσο τόσο τα πειράματα ΑΛ1 και ΑΛ3, όσο και το πείραμα ΑΛ2 παρουσίασαν πολύ χαμηλές, σχεδόν μηδενικές τιμές άμεσης απόδοσης εγκλεισμού (0%, 0,9% και 3,8% αντίστοιχα). Η αύξηση της συγκέντρωσης στο πείραμα ΑΛ2 δεν φάνηκε να επηρεάζει σημαντικά την άμεση απόδοση εγκλεισμού των μικροκαψουλών, καθώς αυτή αυξήθηκε μόλις στο 3,8%, τιμή αρκετά χαμηλή. Έτσι προέκυψε το συμπέρασμα ότι και στα τρία αυτά πειράματα πραγματοποιήθηκε σχηματισμός μικροκαψουλών χωρίς να επιτευχθεί εγκλεισμός της δραστικής ουσίας.

Το γεγονός αυτό αποδόθηκε εν μέρει στο είδος των διαλυτών που χρησιμοποιήθηκαν σαν μίγμα της οργανικής φάσης (DCM-MeOH) και για τον λόγο αυτό αποφασίστηκε να

μελετηθεί η επίδραση του είδους του διαλύτη της οργανικής φάσης στα τελικά χαρακτηριστικά και στην άμεση απόδοση εγκλεισμού των μικροκαψουλών.

6.2. Επίδραση του είδους του διαλύτη της οργανικής φάσης

Στα πειράματα ΑΛ1, ΑΛ2 και ΑΛ3, στα οποία όπως προαναφέρθηκε παρουσιάστηκε πολύ χαμηλή άμεση απόδοση εγκλεισμού, παρατηρήθηκε ότι οι διαλύτες του πολυμερούς και της ουσίας (Διχλωρομεθάνιο-Μεθανόλη) της οργανικής φάσης, παρουσιάζουν τιμές τάσεων ατμών με σημαντική διαφορά.

Πίνακας 6.2: Τάσεις ατμών των διαλυτών της οργανική φάσης (DCM-MeOH) των πειραμάτων ΑΛ1-ΑΛ3

ΔΙΑΛΥΤΕΣ	ΤΑΣΗ ΑΤΜΩΝ (20°C)
Διχλωρομεθάνιο	47 kPa
Μεθανόλη	13 kPa

Για τον λόγο αυτό παρασκευάστηκε το γαλάκτωμα ΑΛ4 χωρίς γαλακτωματοποιητή (PVA) στις υδατικές φάσεις και έχοντας σαν οργανική φάση μίγμα Διχλωρομεθάνιο-Μεθανόλη, με σκοπό να διερευνηθεί η σειρά καταβύθισης του πολυμερούς και της ουσίας κατά το στάδιο εξάτμισης του διαλύτη.

Το γαλάκτωμα ΑΛ4, αφού αφέθηκε σε ανάδευση προκειμένου να εξατμιστεί ο διαλύτης, στη συνέχεια διηθήθηκε και το ίζημα συλλέχτηκε σε διηθητικό χαρτί. Παρατηρήθηκε στο κάτω μέρος του ιζήματος το PLA και στο πάνω μέρος η ουμπελλιφερόνη. Από το πείραμα αυτό προέκυψε το συμπέρασμα ότι η καθυστερημένη εξάτμιση του διαλύτη της ουμπελλιφερόνης, δηλαδή της Μεθανόλης, πιθανόν να οδηγεί την δραστική ουσία στην επιφάνεια των μικροκαψουλών με αποτέλεσμα να μην πραγματοποιείται ο εγκλεισμός της.

Με βάση το συμπέρασμα αυτό παρασκευάστηκαν τα πειράματα ΑΛ6 και ΑΛ7, όπου δοκιμάστηκαν σαν οργανική φάση μίγματα διαλυτών οι οποίοι χαρακτηρίζονται από κοντινές τιμές τάσεων ατμών. Οι κοντινές τιμές τάσεων ατμών εξασφαλίζουν ότι δεν θα εξατμιστούν με σημαντική χρονική διαφορά οι διαλύτες της δραστικής ουσίας και του πολυμερούς ώστε να υπάρχει κίνδυνος να οδηγηθεί η ουσία στην επιφάνεια του κελύφους.

Συγκεκριμένα σαν οργανική φάση στο πείραμα ΑΛ6 χρησιμοποιήθηκε μίγμα Χλωροφόρμιο-Μεθανόλη ενώ στο πείραμα ΑΛ7, χρησιμοποιήθηκε μίγμα Χλωροφόρμιο-Ακετόνη. Τα πειράματα ΑΛ6 και ΑΛ7 παρουσιάζονται στον πίνακα (6.5)

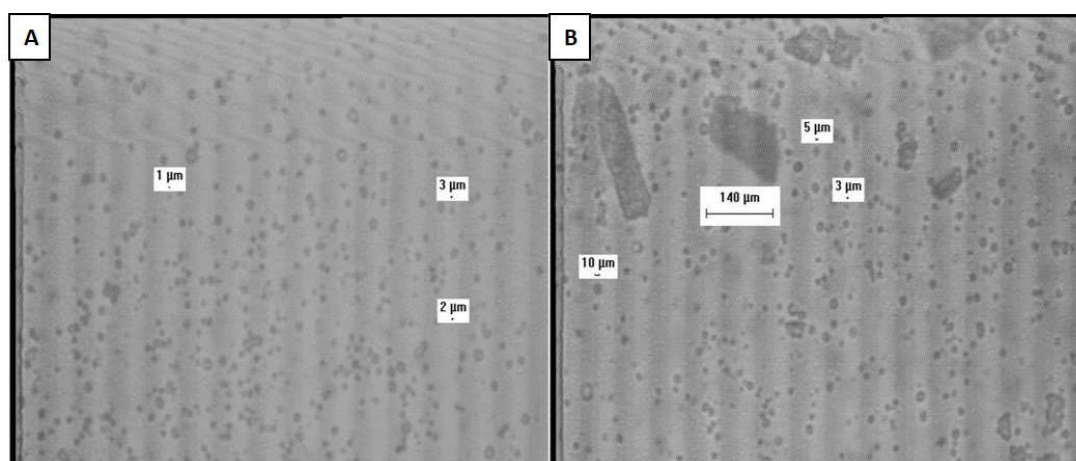
Πίνακας 6.3: Τάσεις ατμών των διαλυτών της οργανικής φάσης των πειραμάτων ΑΛ6, ΑΛ7

ΔΙΑΛΥΤΕΣ	ΤΑΣΗ ΑΤΜΩΝ (20°C)
Χλωροφόρμιο	21 kPa
Μεθανόλη	13 kPa
Ακετόνη	24 kPa

Πίνακας 6.4: Πειράματα ΑΛ6 και ΑΛ7

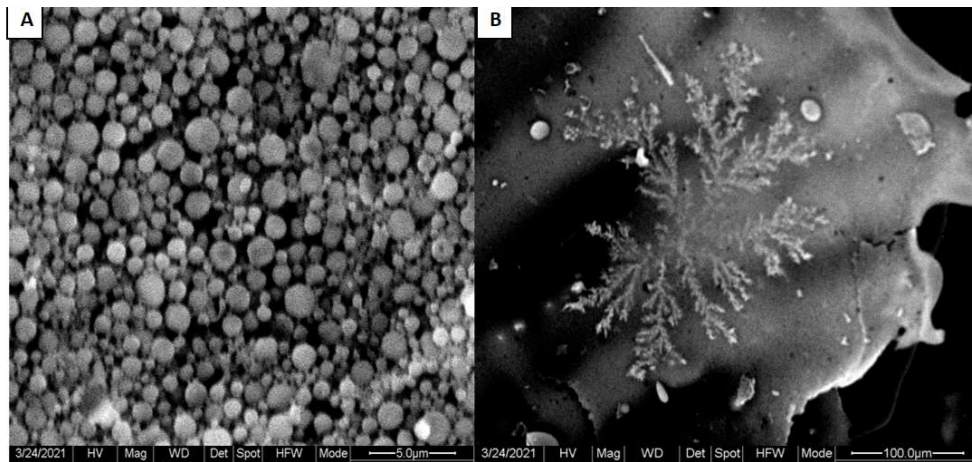
Πείραμα	C (Umb) (g/ml)	Μαζική Απόδοση %	Άμεση Απόδοση Εγκλεισμού %
ΑΛ6	0,0054	58,9	5,1
ΑΛ7	0,0054	65,2	14,4

Η μορφολογία και το μέγεθος των μικροσωματιδίων των πειραμάτων ΑΛ6 και ΑΛ7, ελέγχθηκε με οπτική μικροσκοπία, με την οποία φάνηκε και στα δύο αυτά πειράματα, ο σχηματισμός μικροκαψουλών με μέγεθος γύρω στα 2 μm . Στις εικόνες που ελήφθησαν (εικόνα (6.2)), οι μικροκάψουλες φαίνεται να εμφανίζουν σχετική ομοιομορφία ως προς το μέγεθος τους ενώ στο πείραμα ΑΛ7 εμφανίζονται και ορισμένα συσσωματώματα, τα οποία ωστόσο παρατηρούνται σε περιορισμένο βαθμό.



Εικόνα 6.2: Α) Μικροκάψουλες ΑΛ6 στο οπτικό μικροσκόπιο, Β) Μικροκάψουλες ΑΛ7 στο οπτικό μικροσκόπιο

Η μορφολογία των μικροκαψουλών του πειράματος ΑΛ7 επιβεβαιώθηκε και μέσω ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (SEM) όπου και εκεί το μέγεθος υπολογίστηκε γύρω στα 2 μm . Ωστόσο στις εικόνες από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης, παρατηρήθηκε και η παρουσία ορισμένων κρυσταλλικών δομών στην εξωτερική περιοχή των μικροκαψουλών. Οι κρυσταλλικές αυτές δομές που φαίνονται στην εικόνα (6.3 Β), αποδόθηκαν σε ουσία που δεν έχει εγκλειστεί.



Εικόνα 6.3: Α) Μικροκάψουλες ΑΛ7 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 5 μm , Β) Κρυσταλλικές δομές έξω από τις μικροκάψουλες του πειράματος ΑΛ7 στα 100 μm (δεξιά)

Αφού εξετάστηκε η μορφολογία των μικροκαψουλών των πειραμάτων ΑΛ6 και ΑΛ7, υπολογίστηκε η άμεση απόδοση εγκλεισμού αυτών. Στο πείραμα ΑΛ6 όπου χρησιμοποιήθηκε σαν οργανική φάση μίγμα Χλωροφόρμιο – Αιθανόλη δεν παρουσιάστηκε σημαντική αύξηση της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού σε σχέση με τα αρχικά δοκιμαστικά πειράματα της συμπελλιφερόνης. Συγκεκριμένα για το πείραμα ΑΛ6 η τιμή της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού υπολογίστηκε μόλις σε 5,1%. Όσον αφορά το πείραμα ΑΛ7, όπου σαν οργανική φάση χρησιμοποιήθηκε μίγμα Χλωροφόρμιο – Ακετόνη, η τιμή υπολογίστηκε σε 14,4% παρουσιάζοντας αύξηση σε σχέση με τα αρχικά πειράματα και συγκεκριμένα σε σχέση με το πείραμα ΑΛ2 όπου η άμεση απόδοση εγκλεισμού είχε υπολογιστεί μόλις στο 3,8%. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι διαλύτες Χλωροφόρμιο – Ακετόνη που χρησιμοποιήθηκαν για το πολυμερές και την δραστική ουσία στο πείραμα ΑΛ7 εμφανίζουν τις κοντινότερες τιμές τάσεων ατμών από το σύνολο των διαλυτών που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα της συμπελλιφερόνης και πιθανόν για τον λόγο αυτό το συγκεκριμένο σύστημα οδήγησε στην μεγαλύτερη απόδοση εγκλεισμού. Ωστόσο παρά την αύξηση της απόδοσης στο 14,4%, η τιμή αυτή εξακολουθεί να είναι αρκετά χαμηλή προκειμένου να θεωρηθεί επιτυχής ο εγκλεισμός.

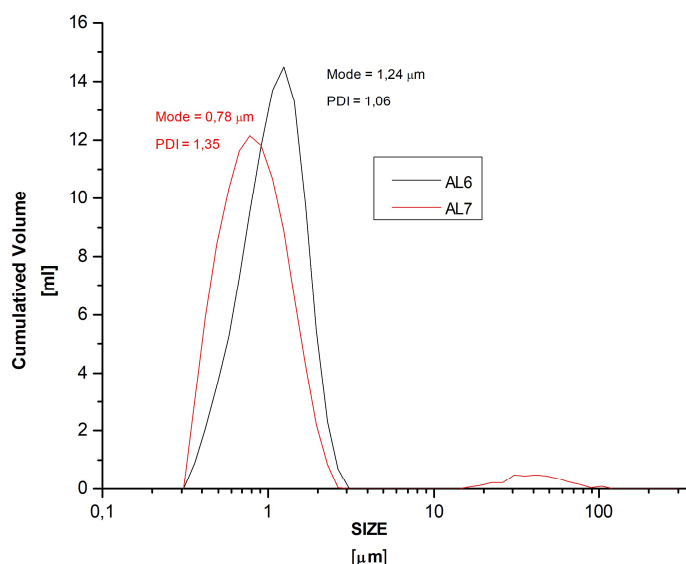
Το ακριβές μέγεθος των μικροκαψουλών ΑΛ6 και ΑΛ7 προσδιορίστηκε στην συνέχεια με μετρήσεις του Mastersizer οι οποίες παρουσιάζονται στον πίνακα (6.6), όπου D(4,3):

η μέση διάμετρος των μικροκαψουλών σταθμισμένη ως προς τον όγκο τους (μέτρηση ευαίσθητη σε ύπαρξη μεγάλων σωματιδίων) και mode: η τιμή της υψηλότερης κορυφής της καμπύλης που αντιστοιχεί στη διάμετρο των μικροκαψουλών με την μεγαλύτερη ένταση.

Πίνακας 6.5: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ6, ΑΛ7

Δείγμα	D [4,3] (μm)	D (v,0.1) (μm)	D (v,0.5) (μm)	D (v,0.9) (μm)
ΑΛ6	1,06	0,55	1,02	1,63
ΑΛ7	2,13	0,43	0,77	1,47

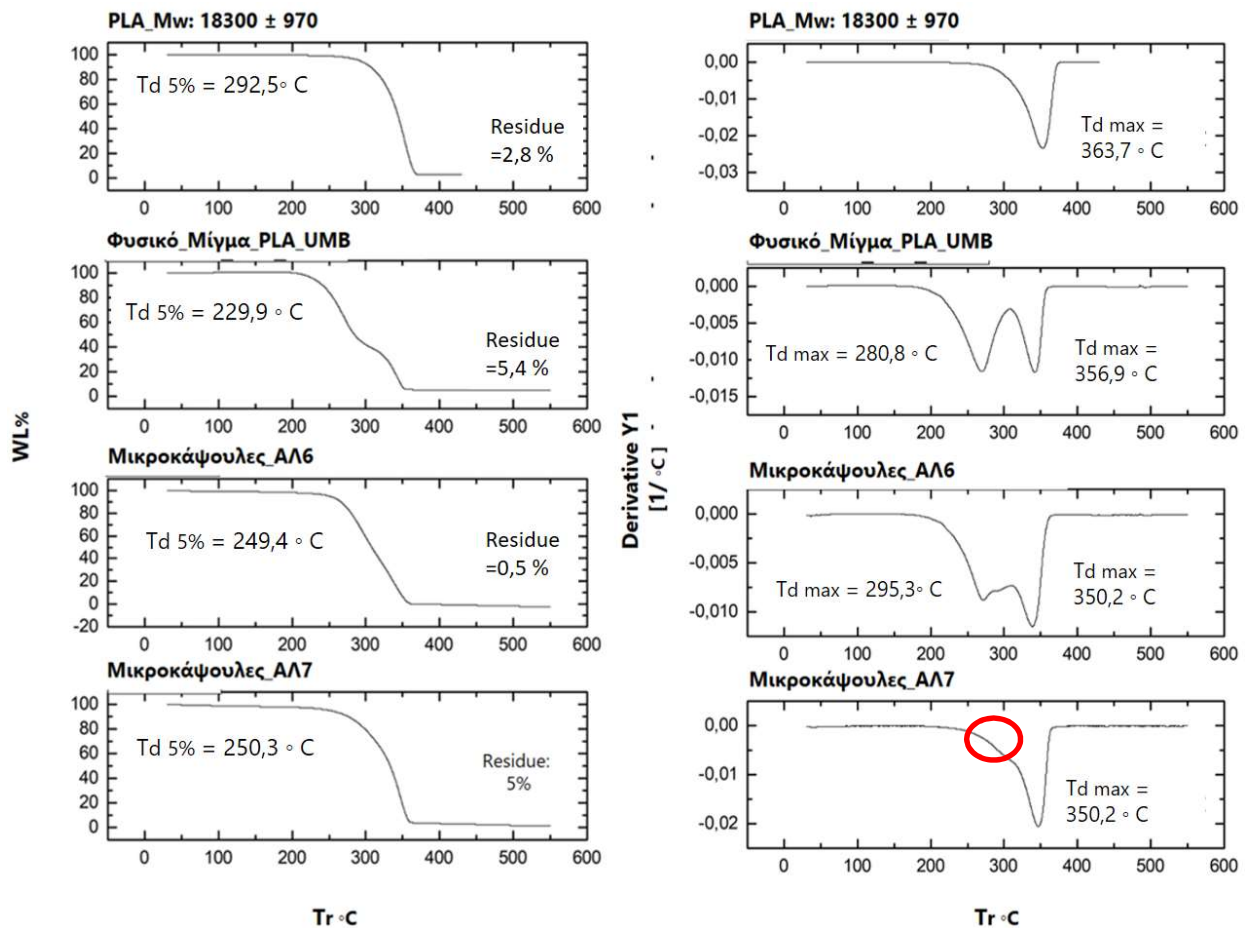
Από τις μετρήσεις του Mastersizer προσδιορίστηκε το μέγεθος των μικροκαψουλών ΑΛ6 και ΑΛ7, στα 1-2 μm , με τις μικροκάψουλες ΑΛ7 να εμφανίζουν ελάχιστα μικρότερο μέγεθος. Ωστόσο η διαφορά στο μέγεθος των μικροσωματιδίων των δύο πειραμάτων δεν εμφανίζεται σημαντική.



Σχήμα 6.1: Μέγεθος μικροκαψουλών ΑΛ6, ΑΛ7 από το Mastersizer

Ακολούθως, μελετήθηκαν οι θερμικές ιδιότητες των μικροκαψουλών ΑΛ6 και ΑΛ7. Τα δύο πειράματα υποβλήθηκαν σε θερμοσταθμική ανάλυση μάζας (TGA) και τα αποτελέσματα παρατίθενται στο σχήμα (6.2). Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων,

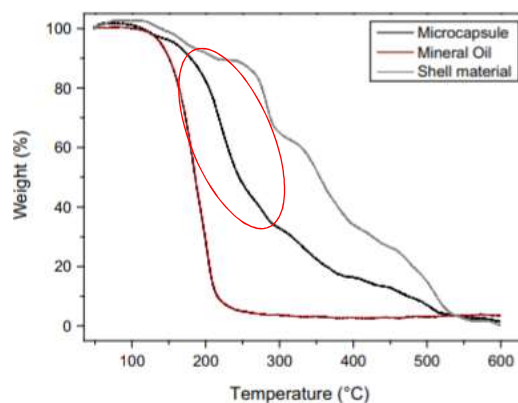
φτιάχτηκε επίσης φυσικό μίγμα συμπελλιφερόνης-PLA (αναλογία μάζας: 200 mg : 200 mg) σε μίγμα Διχλωρομεθάνιο-Μεθανόλη, το οποίο έπειτα από εξάτμιση του διαλύτη υποβλήθηκε και αυτό στις σε ανάλυση TGA. Εκτός από το φυσικό μίγμα, σε TGA μέτρηση υποβλήθηκε για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων και το υδρολυμένο πολυμερές (PLA: $M_v = 18300 \pm 970$) που χρησιμοποιήθηκε σαν πρώτη ύλη στην παραγωγή των μικροκάψουλών της συμπελλιφερόνης.



Σχήμα 6.2: Συγκριτική αναπαράσταση των γραφημάτων TGA του υδρολυμένου αρχικού PLA, του φυσικού μίγματος πολυμερούς-δραστικής ουσίας και των μικροκάψουλών ΑΛ6 και ΑΛ7

Όπως ήταν αναμενόμενο, από τα δύο γραφήματα του TGA για το φυσικό μίγμα (Φυσικό_Μίγμα_PLA_UMB), φάνηκε ξεκάθαρα η παρουσία τόσο της συμπελλιφερόνης όσο και του PLA. Συγκεκριμένα στο γράφημα της ποσοστιαίας μεταβολής της μάζας του δείγματος, εμφανίστηκαν δύο σκαλοπάτια όπου το πρώτο αποδίδεται στη θερμική αποικοδόμηση της δραστικής ουσίας και το δεύτερο στην θερμική αποικοδόμηση του πολυμερούς. Η παρουσία των δύο συστατικών έγινε εμφανή και στο αντίστοιχο γράφημα της πρώτης παραγώγου, όπου εμφανίστηκαν δύο κορυφές μέγιστης θερμικής αποικοδόμησης στους 280,8 οC καθώς και στους 356,9 οC.

Στην ερευνητική εργασία των S. Tzavidi και C. Zotiadi [78], κατά την εφαρμογή TGA ανάλυσης σε μικροκάψουλες ουρίας-φορμαλδεΐδης με εγκλεισμένη εποξειδική ρητίνη, εμφανίστηκαν δύο σκαλοπάτια θερμικής αποικοδόμησης, όπου το πρώτο αποδόθηκε στην αποικοδόμηση του πολυμερούς και το δεύτερο στην αποικοδόμηση της εγκλεισμένης ρητίνης. Στην περίπτωση αυτή ωστόσο ο εγκλεισμένος παράγοντας εμφάνιζε θερμική αποικοδόμηση σε υψηλότερη θερμοκρασία ($T_{dmax} = 371$ oC) από το υλικό του κελύφους (ουρία-φορμαλδεΐδη) ($T_{dmax} = 242$ oC). Στην έρευνα της L. Souza, υποβλήθηκαν σε TGA μέτρηση, κάψουλες πολυμερούς (50 wt% isobornyl acrylate and 50 wt% bisphenol A glycerolate dimethacrylate) με εγκλεισμένο παράγοντα ορυκτέλαιο, στις οποίες η εγκλεισμένη ουσία εμφάνιζε θερμική αποικοδόμηση σε χαμηλότερη θερμοκρασία (150-300 oC) σε σχέση με το πολυμερές του κελύφους (150-500 oC), όπως συμβαίνει και στα συστήματα εγκλεισμού της ουμπελλιφερόνης. Στην περίπτωση αυτή, κατά την θερμική αποικοδόμηση των μικροκαψουλών, η αποικοδόμηση του ορυκτέλαιου φάνηκε να εμφανίζεται σαν ξεχωριστό σκαλοπάτι (κόκκινο κύκλος σχήματος (6.3)) και να ολοκληρώνεται πριν την ολοκλήρωση της θερμικής αποικοδόμησης του πολυμερούς (Σχήμα (6.3)) [79].



Σχήμα 6.3: Μικροκάψουλες όπου η εγκλεισμένη ουσία εμφανίζει θερμική αποικοδόμηση νωρίτερα από το πολυμερές του κελύφους.

Όσον αφορά τις μικροκάψουλες ΑΛ6, στο γράφημα TGA της ποσοστιαίας μεταβολής της μάζας, δεν φάνηκε η παρουσία δύο σκαλοπατιών η οποία θα υποδείκνυε την αποικοδόμηση της δραστικής ουσίας. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε δύο λόγους: α) στο γεγονός ότι η θερμοκρασία μέγιστης θερμικής αποικοδόμησης της ουμπελλιφερόνης ($T_{dmax} = 281$ oC) βρίσκεται αρκετά κοντά σε αυτήν του PLA ($T_{dmax} = 357$ oC), β) στην αρκετά μικρότερη μάζα της εγκλεισμένης δραστικής ουσίας σε σχέση με την μάζα του πολυμερούς (drug load= 10% w/w). Ακόμα, αξίζει να σημειωθεί πως η θερμική αποικοδόμηση των μικροκαψουλών ΑΛ6, παρά το γεγονός ότι δεν εμφανίζεται να πραγματοποιείται σε δύο στάδια, φαίνεται να ξεκινάει αρκετά νωρίτερα ($T_{d 5\%} = 249,4$ oC) σε σχέση με την θερμική αποικοδόμηση του υδρολυμένου αρχικού PLA ($T_{d 5\%} = 292,5$

οC). Τέλος στο γράφημα TGA της πρώτης παραγωγού εμφανίζονται δύο κορυφές θερμικής αποικοδόμησης στους 295,3 οC και στους 350,2 οC, το οποίο πιθανόν υποδηλώνει την παρουσία δύο συστατικών στο δείγμα (του πολυμερούς και της δραστικής ουσίας). Ωστόσο η παρουσία των δύο αυτών ξεκάθαρων κορυφών ίσως υποδεικνύει ότι η ουσία δεν έχει εγκλειστεί άλλα έχει παραμείνει στην επιφάνεια του πολυμερικού κελύφους γεγονός που θα εξηγούσε και την χαμηλή τιμή της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού που υπολογίστηκε στις μικροκάψουλες ΑΛ6.

Για τις μικροκάψουλες ΑΛ7, από το γράφημα TGA της ποσοστιαίας μεταβολής της μάζας, η θερμική αποικοδόμηση και πάλι δεν φάνηκε να πραγματοποιείται σε δύο στάδια όπως θα περιμέναμε. Ωστόσο και στο πείραμα αυτό η θερμική αποικοδόμηση φαίνεται να ξεκινάει πολύ νωρίτερα ($T_{d\ 5\%}=250,3$ οC) σε σχέση με εκείνη του υδρολυμένου αρχικού PLA ($T_{d\ 5\%}=292,5$ οC), γεγονός που πιθανόν δείχνει την παρουσία της δραστικής ουσίας στο μίγμα αλλά ίσως σε πολύ μικρή ποσότητα αναλογικά με την ποσότητα του πολυμερούς προκειμένου να εμφανιστούν τα δύο σκαλοπάτια στην καμπύλη. Το συμπέρασμα αυτό επιβεβαιώνεται και από το την καμπύλη της πρώτης παραγωγού όπου στην αρχή της εμφανιζόμενης κορυφής της μέγιστης θερμικής αποικοδόμησης παρουσιάζεται μια αλλαγή στην κλίση η οποία φανερώνει την παρουσία της συμπελλιφερόνης στις μικροκάψουλες (κόκκινος κύκλος).

Τα πειράματα ΑΛ6 και ΑΛ7 υποβλήθηκαν επίσης σε διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC) και τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρουσιάζονται στον πίνακα (6.6), μαζί με τα αποτελέσματα από την DSC ανάλυση του φυσικού μίγματος συμπελλιφερόνης-PLA (αναλογία μάζας: 200 mg : 200 mg) και του αρχικού υδρολυμένου PLA που χρησιμοποιήθηκε στις μικροκάψουλες.

Πίνακας 6.6: Σημείο τήξης (T_m) και βαθμός κρυσταλλικότητας (x_c) των μικροκαψουλών ΑΛ6ΑΛ6 και ΑΛ7

Πείραμα	T_{c1} (°C)	T_{c2} (°C)	T_{m1} (°C)	T_{m2} (°C)	x_c %
PLA Mv=18300±970	n.d.	n.d.	162,7	n.d	82,8
Φυσικό Μίγμα PLA-συμπελλιφερόνη	n.d.	n.d.	171,1	217,6	n.d.
ΑΛ6	84,9	102,8	153,6	n.d	46,3
ΑΛ7	n.d.	104,4	157,3	n.d.	52,5

Από τον πίνακα (6.6) παρατηρείται ότι το αρχικό PLA που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των μικροκαψουλών, αποτελεί ένα ημικρυσταλλικό πολυμερές με

κρυσταλλικότητα 82,8%. Οι μικροκάψουλες ΑΛ6 και ΑΛ7 ωστόσο φαίνονται να εμφανίζουν αρκετά μειωμένη κρυσταλλικότητα σε σχέση με εκείνη του αρχικού πολυμερούς. Αυτή η μειωμένη κρυσταλλικότητα του πολυμερικού κελύφους των μικροκαψουλών, αποδίδεται στον τρόπο παρασκευής τους. Ακόμα, τόσο στις μικροκάψουλες ΑΛ7 όσο και στις μικροκάψουλες ΑΛ6, εμφανίστηκε μόνο ένα σημείο τήξης (153,6 οC και 157,3 οC αντίστοιχα), πολύ κοντά στο σημείο τήξης του αρχικού υδρολυμένου PLA (162,7 οC). Η μη εμφάνιση δεύτερου σημείου τήξης, το οποίο θα υποδείκνυε την τήξη της δραστικής ουσίας, πιθανόν να οφείλεται στις πολύ χαμηλές αποδόσεις εγκλεισμού που υπολογίστηκαν για τις μικροκάψουλες ΑΛ6 (5,1 %) και ΑΛ7 (14,4 %) και άρα στην πολύ μικρή ποσότητα της περιεχόμενης ουσίας σε αυτές.

Ολοκληρώνοντας τους χαρακτηρισμούς των μικροκαψουλών ΑΛ6 και ΑΛ7, φάνηκε πως η προσπάθεια εγκλεισμού της συμπελλιφερόνης σε μικροκάψουλες πολυ(γαλακτικού οξέος) δεν οδήγησε σε ικανοποιητικά αποτελέσματα. Οι μικροκάψουλες ΑΛ6 και ΑΛ7 παρά τα καλά μορφολογικά χαρακτηριστικά που παρουσίασαν δεν κατάφεραν να δώσουν ικανοποιητικές τιμές άμεσης απόδοσης εγκλεισμού. Οι χαμηλές αυτές τιμές της απόδοσης εγκλεισμού σε συνδυασμό με τις κρυσταλλικές δομές που παρατηρήθηκαν στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης του πειράματος ΑΛ7, στην εξωτερική περιοχή των μικροκαψουλών, οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι ίσως ο εγκλεισμός της συμπελλιφερόνης να μην μπορεί να επιτευχθεί εξαιτίας της ίδιας της φύσης του μορίου της ουσίας (μεγάλο μέγεθος μορίου). Για τον σκοπό αυτό η μελέτη του εγκλεισμού σε μικροκάψουλες πολυ(γαλακτικού οξέος), αποφασίστηκε να μην συνεχιστεί με την συγκεκριμένη δραστική ουσία.

Κεφάλαιο 7: Παραγωγή μικροκαψουλών PLA - κουμαρίνης-6: Αποτελέσματα-Συζήτηση

Καθώς η μελέτη του εγκλεισμού σε μικροκάψουλες PLA αποφασίστηκε να μην συνεχιστεί με την δραστική ουσία της συμπελλιφερόνης, επιχειρήθηκε ο εγκλεισμός μιας δεύτερης κουμαρίνης, της κουμαρίνης-6. Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται και ερμηνεύεται το σύνολο των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν κατά την παρούσα διπλωματική εργασία με στόχο την δημιουργία μικροκαψουλών πολυ(γαλακτικού οξέος) με εγκλεισμένη δραστική ουσία την κουμαρίνη αυτή.

Για την παραγωγή μικροκαψουλών με εγκλεισμένη κουμαρίνη-6 δοκιμάστηκαν δύο πειραματικές διαδικασίες. Αρχικά παρουσιάζονται τα πειράματα ΑΛ8, ΑΛ9 τα οποία πραγματοποιήθηκαν με την πρώτη πειραματική διαδικασία, με αναλογία EWP:PE=4:1 και χρόνο ανάδευσης EWP-PE: 10 min. Έπειτα έγινε τροποποίηση της συγκεκριμένης πειραματικής διαδικασίας από βιβλιογραφικά δεδομένα και παρουσιάζονται τα πειράματα ΑΛ10-ΑΛ20 που πραγματοποιήθηκαν με μεταβολή της αναλογίας EWP:PE σε 2:1 άλλα και του χρόνου ανάδευσης EWP-PE από 10 min σε 30 s. Η νέα αυτή τροποποιημένη πειραματική μέθοδος οδήγησε σε μικροκάψουλες με καλύτερα χαρακτηριστικά και επιλέχθηκε προκειμένου να εξεταστεί η επίδραση διάφορων πειραματικών παραμέτρων στην μορφολογία, στις ιδιότητες καθώς και στην άμεση απόδοση εγκλεισμού των μικροκαψουλών PLA.

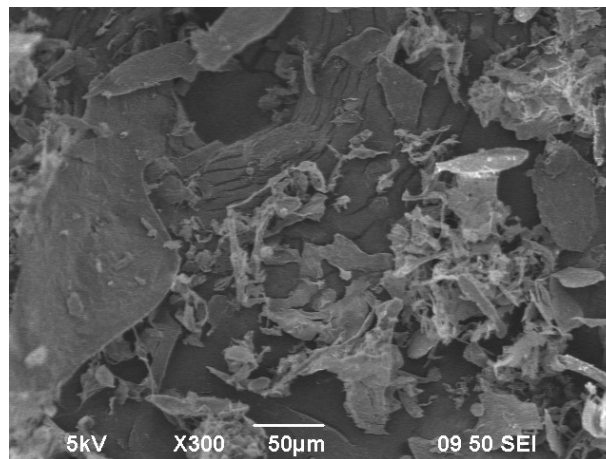
7.1. Πειράματα κουμαρίνης-6 με αναλογία EWP:PE (4:1)

Με την πειραματική διαδικασία (Α) που περιγράφεται στην παράγραφο 5.4.2 και η οποία χαρακτηρίζεται από αναλογία EWP:PE=4:1 και από χρόνο ανάδευσης EWP-PE: 10 min, παρασκευάστηκε το πείραμα ΑΛ8 όπου έγινε προσπάθεια εγκλεισμού 0,05 g της κουμαρίνης-6 σε 0,5 g PLA. Στην συνέχεια, παρασκευάστηκε με την ίδια μέθοδο το πείραμα ΑΛ9, το οποίο πραγματοποιήθηκε μόνο με την κουμαρίνη-6 και χωρίς το πολυμερές. Το πείραμα αυτό έγινε με σκοπό να παρατηρηθεί η μορφολογία της δραστικής ουσίας, όπως αυτή εμφανίζεται μετά το τέλος της πειραματικής διαδικασίας της παρασκευής των μικροκαψουλών. Τα πειράματα ΑΛ8 και ΑΛ9 παρουσιάζονται στον πίνακα (7.1).

Πίνακας 7.1: Πειράματα κουμαρίνης-6 με αναλογία EWP:PE (4:1)

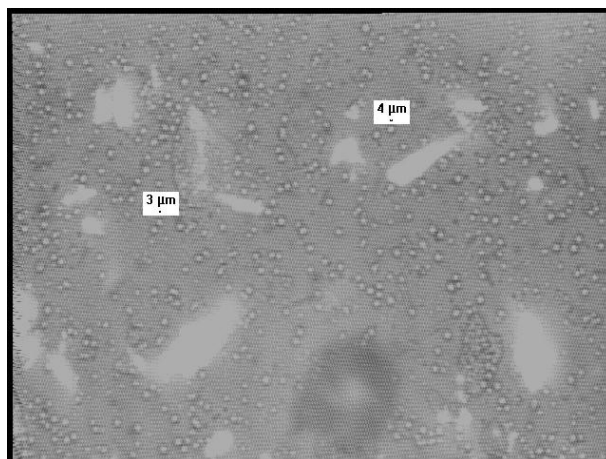
Πείραμα	C (κουμαρίνης-6) (g/ml)	Μαζική Απόδοση %	Άμεση Απόδοση Εγκλεισμού %
ΑΛ8-C6	0,0023	78,6	71,2± 8,6%
ΑΛ9-C6 (Μόνο κουμαρίνη)	0,0025	34,3	-

Στην εικόνα (7.1), φαίνεται η μορφή της κουμαρίνης-6 του πειράματος ΑΛ9, όπως αυτή παρατηρήθηκε από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM). Η εικόνα αποτελεί χρήσιμο εργαλείο καθώς γνωρίζοντας την μορφή της ουσίας στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας, είναι δυνατή η διάκριση της στις εικόνες του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου, στα μετέπειτα πειράματα σε περίπτωση που δεν έχει εγκλειστεί.



Εικόνα 7.1: πείραμα ΑΛ9-κουμαρίνη-6 χωρίς το πολυμερές, μετά την πειραματική διαδικασία παρασκευής των μικροκαψουλών στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης

Όσον αφορά το πείραμα ΑΛ8, από την παρατήρηση της εικόνας του στο οπτικό μικροσκόπιο, φάνηκε ο σχηματισμός μικροκαψουλών με μέγεθος γύρω στα 3-4 µm. Στην εικόνα φάνηκαν ακόμα και ορισμένα περιορισμένα συσσωματώματα.



Εικόνα 7.2: Πείραμα ΑΛ8 στο οπτικό μικροσκόπιο

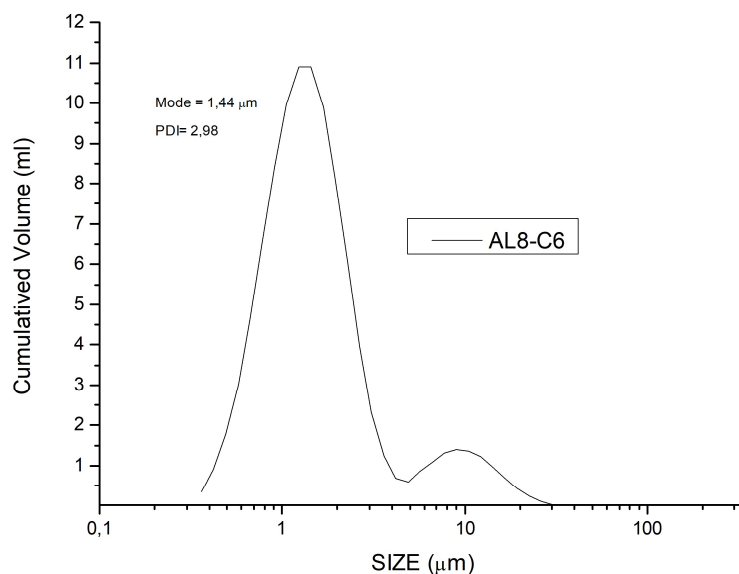
Στην συνέχεια υπολογίστηκε η τιμή της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού για το πείραμα ΑΛ8 η οποία προσδιορίστηκε σε $71,2 \pm 8,6$ %. Η τιμή αυτή υποδηλώνει ότι στις μικροκάψουλες ΑΛ8, φαίνεται να έχει πραγματοποιηθεί με επιτυχία ο εγκλεισμός της δραστικής ουσίας.

Το ακριβές μέγεθος των μικροκαψουλών ΑΛ8 προσδιορίστηκε με μετρήσεις του Mastersizer και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα (7.2). Όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα των μετρήσεων, το μέγεθος των μικροκαψουλών εμφανίζεται στο μεγαλύτερο μέρος του πληθυσμού γύρω στα 1-2 μm . Ωστόσο φαίνεται να υπάρχει και ένα μικρό μέρος του πληθυσμού με μεγαλύτερη διάμετρο, γύρω στα 9 μm .

Αξίζει να σημειωθεί ότι οι μικροκαψουλές ΑΛ8, παρουσιάζουν μέγεθος παρόμοιο με τις μικροκάψουλες των πειραμάτων ΑΛ6 και ΑΛ7 του εγκλεισμού της συμπελλιφερόνης με τις οποίες παρασκευάστηκαν με την ίδια πειραματική διαδικασία (mode: 1,24 και 0,78 αντίστοιχα).

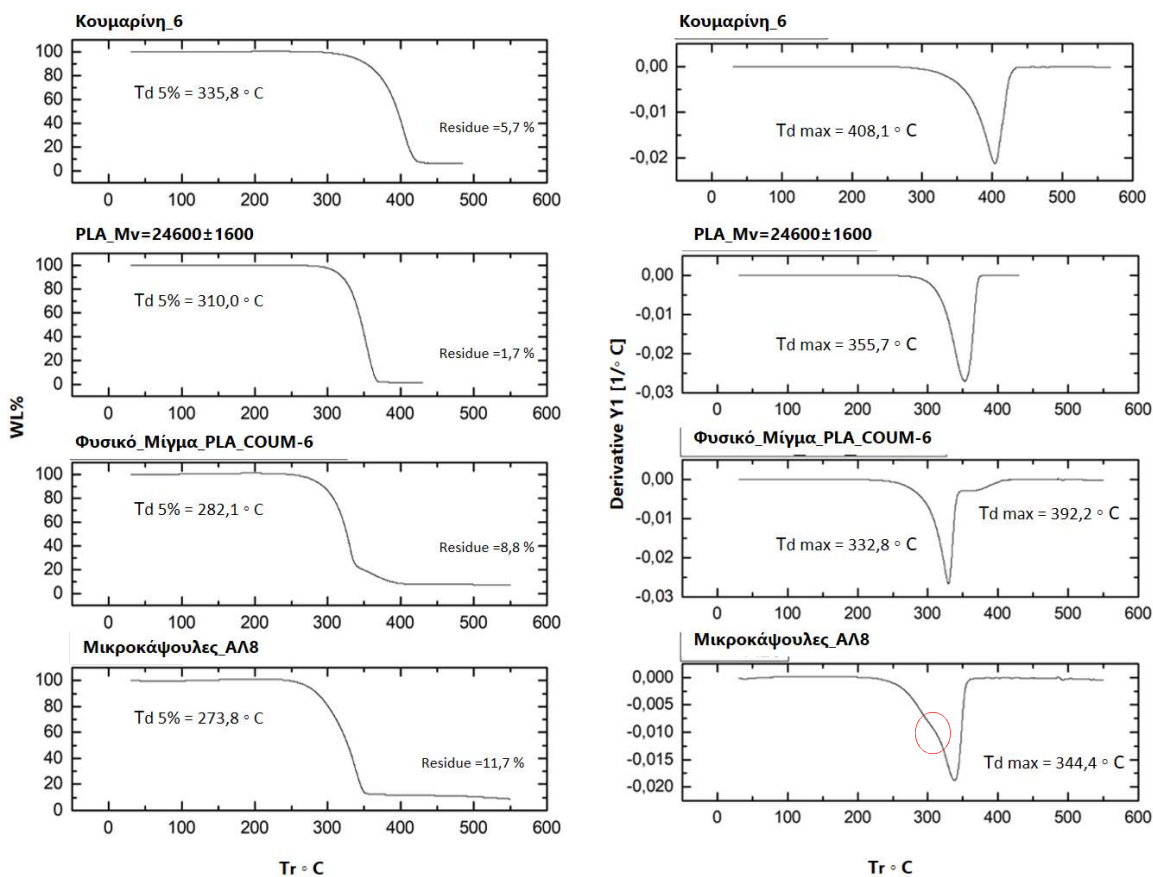
Πίνακας 7.2: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ8

Δείγμα	D[4,3] (μm)	D(v,0.1) (μm)	D(v,0.5) (μm)	D(v,0.9) (μm)
ΑΛ8	2,21	0,66	1,30	4,54



Σχήμα 7.1: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών AL8 από το mastersizer

Έχοντας μελετήσει την μορφολογία των μικροκαψουλών AL8 και έχοντας υπολογίσει το μέγεθος και την τιμή της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού τους, έγινε προσδιορισμός των θερμικών τους ιδιοτήτων. Συγκεκριμένα οι μικροκάψουλες AL8 υποβλήθηκαν σε TGA ανάλυση και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο σχήμα (7.2). Για την σύγκριση και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων παρατίθενται και τρεις ακόμα μετρήσεις TGA: της καθαρής κουμαρίνης-6, του υδρολυμένου αρχικού πολυμερούς (PLA: $M_v=24600\pm 1600$) που χρησιμοποιήθηκε για τις μικροκάψουλες καθώς και ενός φυσικού μίγματος Κουμαρίνης-6 / αρχικού PLA (αναλογία μάζας 107 mg : 42 mg) που φτιάχτηκε σε διχλωρομεθάνιο και υποβλήθηκε σε μέτρηση αφού εξατμίστηκε ο διαλύτης.

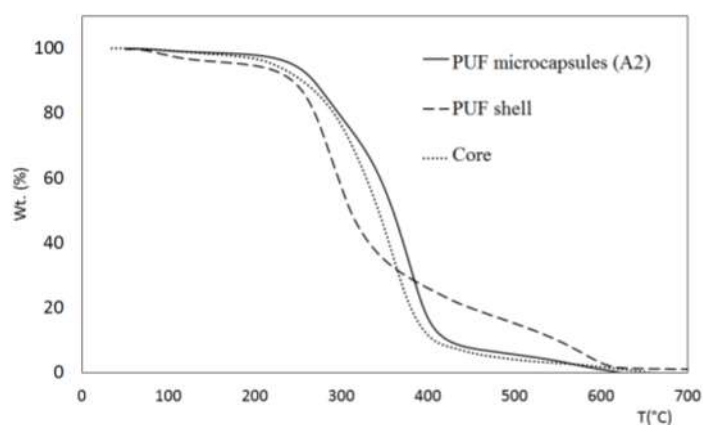


Σχήμα 7.2: Συγκριτική αναπαράσταση των γραφημάτων TGA της δραστικής ουσίας, του υδρολυμένου αρχικού PLA, του φυσικού μίγματος και των μικροκαψουλών AL8

Από τα γραφήματα του TGA, η μέγιστη θερμική αποικοδόμηση της δραστικής ουσίας, δηλαδή της καθαρής κουμαρίνη-6, παρατηρείται στους 408,1 οC. Η θερμοκρασία αυτή εμφανίζεται υψηλότερη από εκείνη της μέγιστης θερμική αποικοδόμησης του πολυμερούς, δηλαδή του υδρολυμένου αρχικού PLA, η οποία παρουσιάζεται στους 355,7 οC. Στο γράφημα του TGA για το φυσικό μίγμα, εμφανίζονται δύο στάδια θερμικής αποικοδόμησης, με το πρώτο να κυμαίνεται από τους 274 οC έως περίπου τους 340 οC και επομένως να αποδίδεται στην αποικοδόμηση του PLA και με το δεύτερο να κυμαίνεται από τους 340 οC έως τους 420 οC και κατά αυτόν τον τρόπο να αποδίδεται στην κουμαρίνη.

Εφόσον η μέγιστη θερμική αποικοδόμηση της δραστικής ουσίας παρατηρείται σε μεγαλύτερη θερμοκρασία από την θερμική αποικοδόμηση του πολυμερούς, σύμφωνα με την βιβλιογραφία που αναφέρθηκε και στην ανάλυση TGA των μικροκαψουλών της συμπελλιφερόνης [78], η συμπεριφορά θερμικής διάσπασης που αναμένεται να παρουσιάσουν οι μικροκάψουλες PLA με την εγκλεισμένη κουμαρίνη-6, είναι αυτή της εμφάνισης δύο σταδίων, με το πρώτο να υποδηλώνει την θερμική αποικοδόμηση του πολυμερούς και το δεύτερο της ουσίας. Ωστόσο στην έρευνα της N. Shahabudin, όπου εφαρμόστηκε ανάλυση TGA σε μικροκάψουλες πολυ(ουρίας-φορμαλδεΰδης) με

εγκλεισμένο παράγοντα κάποια ρητίνη, το φαινόμενο αυτό δεν παρατηρήθηκε. Στην περίπτωση αυτή η θερμική αποικοδόμηση του πολυμερούς του κελύφους εμφανιζόταν στους 220-300 οC, πολύ κοντά στην θερμική αποικοδόμηση της καθαρής ρητίνης η οποία ξεκινούσε στους 250 οC. Για τον λόγο αυτό κατά την TGA ανάλυση των μικροκαψουλών δεν παρουσιάστηκαν δύο καθαρά στάδια θερμικής αποικοδόμησης, καθώς η αποικοδόμηση του πολυμερούς και της ουσίας εμφανίστηκαν σε επικαλυπτόμενα θερμοκρασιακά εύρη (Σχήμα (7.3)) [80].



Σχήμα 7.3: TGA γράφημα μικροκαψουλών όπου η θερμική αποικοδόμηση του πολυμερούς και της ουσίας εμφανίζονται σε επικαλυπτόμενα θερμοκρασιακά εύρη [80].

Όσον αφορά τις μικροκάψουλες ΑΛ8, από την παρατήρηση των γραφημάτων του TGA φαίνεται ότι δεν παρουσιάζονται δύο στάδια θερμικής διάσπασης γεγονός που θα υποδείκνυε αρχικά την αποικοδόμηση του πολυμερούς και έπειτα την αποικοδόμηση της εγκλεισμένης ουσίας. Αυτό μπορεί να συμβαίνει και στην περίπτωση αυτή, εξαιτίας των κοντινών θερμοκρασιών στις οποίες εμφανίζεται η θερμική διάσπαση του PLA και της κουμαρίνης-6. Ένας άλλος λόγος μπορεί να είναι και η μικρή αναλογία της μάζας της ουσίας ως προς την μάζα του πολυμερούς (10%). Αξίζει να σημειωθεί ότι στο γράφημα του TGA της πρώτης παραγωγού των μικροκαψουλών ΑΛ8, στην αρχή της κορυφής της μέγιστης θερμικής αποικοδόμησης (κόκκινος κύκλος) παρατηρείται μία μεταβολή της κλίσης, η οποία θα μπορούσε να υποδηλώνει την έναρξη της θερμικής διάσπασης της κουμαρίνης. Ακόμα, αξίζει να σημειωθεί ότι η θερμοκρασία μέγιστης θερμικής αποικοδόμησης των μικροκαψουλών ΑΛ8 παρατηρείται αρκετά νωρίτερα ($T_{dmax} = 344,4$ οC) σε σχέση με την θερμοκρασία στην οποία παρουσιάζεται η μέγιστη θερμική διάσπαση του πολυμερούς ($T_{dmax} = 355,7$ οC).

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης DSC για τις μικροκάψουλες ΑΛ8, παρουσιάζονται στον πίνακα (7.3), Μαζί, παρατίθενται και οι απαραίτητες για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων DSC αναλύσεις, του φυσικού μίγματος Κουμαρίνης-6 - αρχικού PLA

(αναλογία μάζας 107 mg:42 mg), της καθαρής δραστικής ουσίας καθώς και του σκέτου αρχικού PLA.

Πίνακας 7.3: Σημείο τήξης (T_m) και βαθμός κρυσταλλικότητας (χ_c) των μικροκαψουλών ΑΛ8

Πείραμα	T_{c1} (°C)	T_{m1} (°C)	T_{m2} (°C)	χ_c %
PLA $M_n=24600\pm 1600$	n.d.	159,1	n.d.	47,3
Κουμαρίνη-6	n.d.	n.d.	214,2	n.d.
Φυσικό Μίγμα PLA-συμπελλιφερόνη	n.d.	148,5	194,7	n.d.
ΑΛ8	n.d.	158,3	190,2	38,6

Το πείραμα ΑΛ8 φάνηκε να εμφανίζει δύο σημεία τήξης με το πρώτο (158,3 οC) να εμφανίζεται πολύ κοντά στο σημείο τήξης του PLA (159,1 οC) και επομένως να αποδίδεται στην τήξη του πολυμερούς και το δεύτερο (190,2 οC) να παρουσιάζεται πολύ κοντά στο σημείο τήξης της κουμαρίνης-6 (214,2 οC) και επομένως να αποδίδεται στην τήξη της εγκλεισμένης δραστικής ουσίας. Η παρουσία της ουσίας επομένως στις μικροκάψουλες επιβεβαιώθηκε κατά αυτόν τον τρόπο και μέσω της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC). Όσον αφορά την κρυσταλλικότητα των μικροκαψουλών, αξίζει να σημειωθεί ότι αυτή παρατηρήθηκε χαμηλότερη (38,6 %) από εκείνη του αρχικού υδρολυμένου PLA (47,3 %), όπως είχε παρατηρηθεί και στις μικροκάψουλες PLA με την εγκλεισμένη συμπελλιφερόνη.

Ολοκληρώνοντας τον χαρακτηρισμό των μικροκαψουλών του, το πείραμα ΑΛ8 αποδείχτηκε ένα πείραμα με καλά μορφολογικά χαρακτηριστικά, μικροσωματίδια επιθυμητού μεγέθους και υψηλή τιμή άμεσης απόδοσης εγκλεισμού. Ωστόσο παρά τα καλά χαρακτηριστικά των μικροκαψουλών του, το πείραμα ΑΛ8 παρουσίαζε ανομοιόμορφες υδατικές διασπορές. Για τον λόγο αυτό αποφασίστηκε η τροποποίηση της πειραματικής διαδικασίας της παραγωγής των μικροκαψουλών στα επόμενα πειράματα της κουμαρίνης-6.

7.2. Πειράματα κουμαρίνης-6 με αναλογία EWP: PE (2:1)

Στην υποενότητα αυτή παρουσιάζονται τα πειράματα μελέτης του εγκλεισμού της κουμαρίνης-6, τα οποία πραγματοποιήθηκαν με την πειραματική διαδικασία (B) που περιγράφεται στην παράγραφο 5.4.2. Η πειραματική διαδικασία αυτή χαρακτηρίζεται από αναλογία EWP:PE=2:1 και από χρόνο ανάδευσης EWP-PE: 30 s.

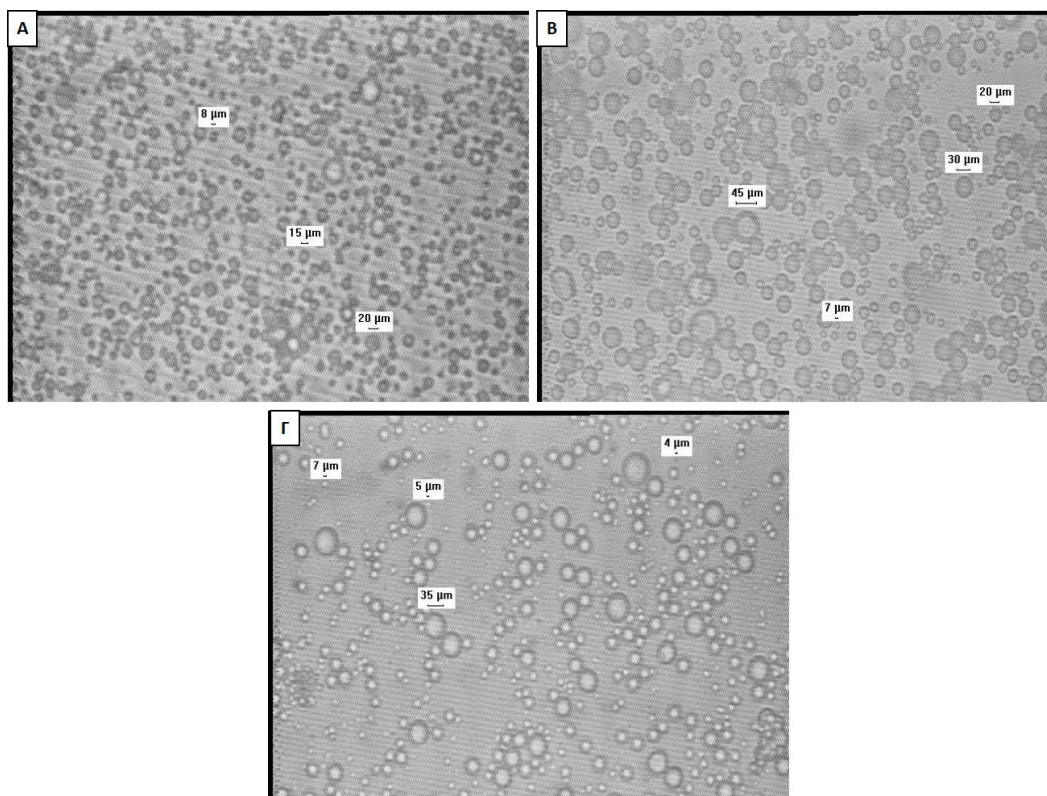
7.2.1. Διερεύνηση του τύπου του Γαλακτωματοποιητή

Τρία πειράματα, τα ΑΛ10, ΑΛ11 και ΑΛ12, πραγματοποιήθηκαν με σκοπό να διερευνηθεί η επίδραση του τύπου του γαλακτωματοποιητή στις τελικές ιδιότητες των μικροκαψουλών. Στα πειράματα αυτά έγινε προσπάθεια εγκλεισμού 0,014 g κουμαρίνης-6 σε 1,79 g PLA, με τρεις διαφορετικούς γαλακτωματοποιητές-σταθεροποιητές (πίνακας (7.4)):

Πίνακας 7.4: Πειράματα κουμαρίνης-6: διερεύνηση του τύπου του γαλακτωματοποιητή

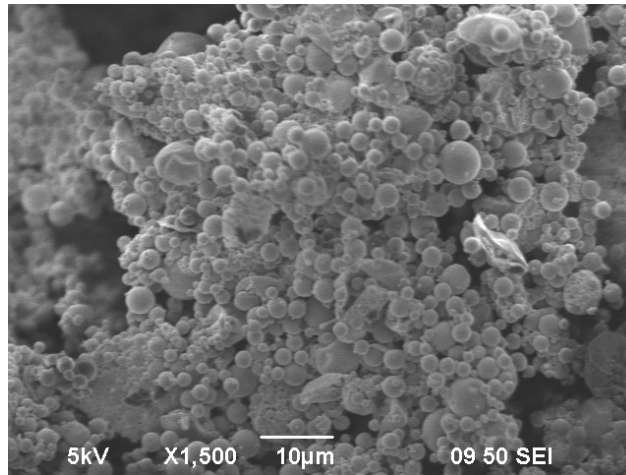
Πείραμα	Σταθεροποιητής-Γαλακτωματοποιητής	C (κουμαρίνης-6) (g/ml)	Μαζική Απόδοση %	Άμεση Απόδοση Εγκλεισμού %
ΑΛ10-C6	PVA 87-90% υδρολυμένο Mw= 30000-70000	0,007	91,3	87,7± 1,5%
ΑΛ11-C6	Mowiol 88% υδρολυμένο MW= 130000	0,007	79,8	46,0± 4,9%
ΑΛ12-C6	PVA 98-98,8% υδρολυμένο Mw= 146000-180000)	0,007	83,6	46,7± n.d.

Οι εικόνες που λήφθηκαν από το οπτικό μικροσκόπιο για τα πειράματα ΑΛ10, ΑΛ11 και ΑΛ12, παρατίθενται παρακάτω (εικόνες (7.3)). Στις εικόνες αυτές φαίνεται ο σχηματισμός μικροκαψουλών, χωρίς συσσωματώματα και για τα τρία πειράματα. Από την παρατήρηση τους, προκύπτει ότι οι μικροκάψουλες ΑΛ10 παρουσιάζουν μικρότερο μέγεθος και μεγαλύτερη ομοιομορφία σε σχέση με τις μικροκάψουλες των άλλων δύο πειραμάτων. Συγκεκριμένα τόσο οι μικροκάψουλες ΑΛ11 όσο και οι μικροκάψουλες ΑΛ12 φαίνονται να εμφανίζουν αρκετά μεγάλο εύρος μεγεθών. Με βάση την οπτική μικροσκοπία, το μέγεθος των μικροκαψουλών του πειράματος ΑΛ10 εκτιμήθηκε γύρω στα 5 μm ενώ εκείνο των μικροκαψουλών ΑΛ11 και ΑΛ12 γύρω στα 10 μm.



Εικόνα 7.3: Α) Μικροκάψουλες AL10 στο οπτικό μικροσκόπιο, Β) Μικροκάψουλες AL11 στο οπτικό μικροσκόπιο, Γ) Μικροκάψουλες AL12 στο οπτικό μικροσκόπιο

Η μορφολογία των μικροκαψουλών AL10 ελέγχθηκε και με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) σε λεπτού πάχους επιχρυσώσεις και με πολύ γρήγορες λήψεις διότι η ακτίνα έλιωνε το υλικό. Από την εικόνα που παρουσιάζεται (εικόνα (7.4)), φαίνεται ο σχηματικός λείων σφαιρικών μικροκαψουλών μεγέθους γύρω στα 3 μm, το οποίο είναι μικρότερο από την αρχική εκτίμηση που είχε πραγματοποιηθεί για το μέγεθος των μικροκαψουλών AL10 από τις εικόνες του οπτικού μικροσκοπίου. Επιπλέον οι μικροκάψουλες AL10 φαίνονται να παρουσιάζουν αρκετή ανομοιομορφία ως προς το μέγεθος τους. Παρόμοια ωστόσο ανομοιομορφία μεγέθους έχει παρουσιαστεί και σε προηγούμενες ερευνητικές εργασίες κατά την παρασκευή μικροκαψουλών, όπου χρησιμοποιείται PVA ως σταθεροποιητής[81].



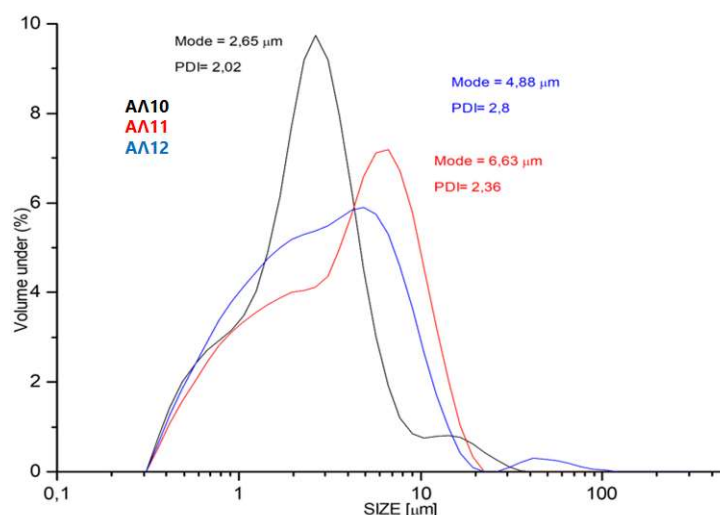
Εικόνα 7.4: Πείραμα AL10 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM)

Από τον υπολογισμό της τιμής της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού, οι μικροκάψουλες AL10 παρουσίασαν σχεδόν διπλάσια τιμή ($87,7 \pm 1,5$ %) σε σχέση με τις τιμές που εμφάνισαν οι μικροκάψουλες AL11 και AL12 ($46,0 \pm 4,9\%$ και $46,7$ % αντίστοιχα). Στα πειράματα AL11 και AL12 χρησιμοποιήθηκαν γαλακτωματοποιητές PVA αρκετά υψηλότερου μοριακού βάρους ($M_w=130000$ και $146000-180000$ αντίστοιχα) σε σχέση με τον γαλακτωματοποιητή PVA που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα AL10 ($M_w= 30000-70000$). Από την βιβλιογραφία έχει φανεί ότι η χρήση PVA με μοριακό βάρος πάνω από 105000 , οδηγεί σε λιγότερο αποτελεσματική δράση του γαλακτωματοποιητή όσον αφορά την σταθεροποίηση των σταγόνων εξαιτίας της μεγάλης αύξησης του ιξώδους του διαλύματός του [82]. Ακόμα στο πείραμα AL12, χρησιμοποιήθηκε PVA πολύ υψηλού βαθμού υδρόλυσης το οποίο βιβλιογραφικά έχει φανεί ότι οδηγεί στον σχηματισμό ασταθών διασπορών και σε χαμηλές αποδόσεις. Για τους λόγους αυτούς πιθανόν τα πειράματα AL11 και AL12 εμφάνισαν αρκετά χαμηλότερες αποδόσεις εγκλεισμού [83].

Το μέγεθος των μικροκαψουλών για τα τρία πειράματα: AL10, AL11 και AL12, υπολογίστηκε με μετρήσεις του Mastersizer και τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρατίθενται στον πίνακα (7.5). Από τις μετρήσεις αυτές οι μικροκάψουλες AL10 φαίνονται να εμφανίζουν μέγεθος γύρω στα $3 \mu\text{m}$ ενώ οι μικροκάψουλες AL11 και AL12, παρουσιάζουν μέγεθος γύρω στα 5 και $7 \mu\text{m}$ αντίστοιχα. Ωστόσο τόσο οι μικροκάψουλες AL11 όσο και οι μικροκάψουλες AL12 εμφανίζουν μεγάλους πληθυσμούς σε αρκετά μικρότερα άλλα και μεγαλύτερα μεγέθη γύρω από την τιμή mode που υπολογίστηκε.

Πίνακας 7.5: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ10, ΑΛ11 και ΑΛ12

Δείγμα	D[4,3] (μm)	D(v,0.1) (μm)	D(v,0.5) (μm)	D(v,0.9) (μm)
ΑΛ10	3	0,70	2,24	5,24
ΑΛ11	4,42	0,76	3,64	9,33
ΑΛ12	4,18	0,7	2,62	8,04



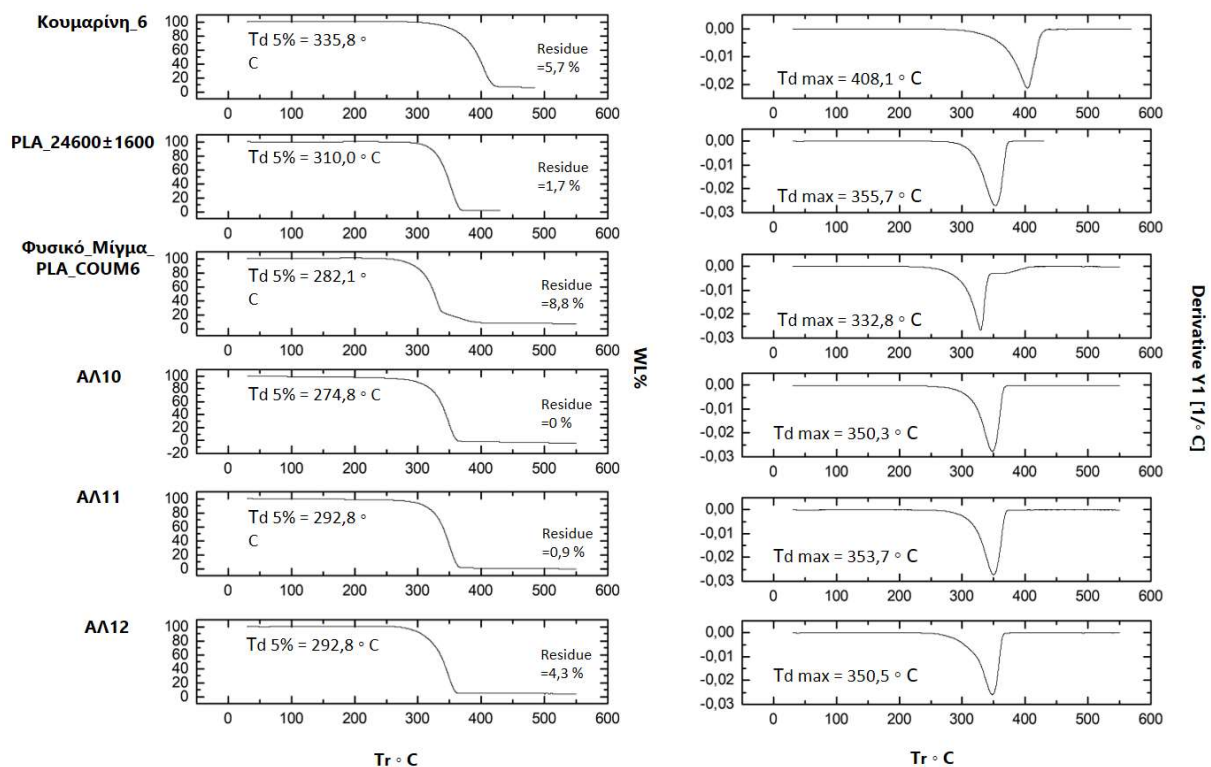
Σχήμα 7.4: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ10, ΑΛ11 και ΑΛ12 από το mastersizer

Δεδομένου ότι οι μικροκάψουλες ΑΛ11 και ΑΛ12 παρασκευάστηκαν με PVA υψηλότερου μοριακού βάρους και βαθμού υδρόλυσης, τα αποτελέσματα αυτά του μεγέθους των μικροκαψουλών βρίσκονται σε συμφωνία με την βιβλιογραφία, αφού τόσο η αύξηση του μοριακού βάρους του PVA, όσο και του βαθμού υδρόλυσης αυτού έχει βρεθεί ότι οδηγούν σε μεγαλύτερο μέγεθος μικροσωματιδίων και σε ταυτόχρονη αύξηση του δείκτη πολυδιασποράς (PDI). Αυτό συμβαίνει διότι η αύξηση του βαθμού υδρόλυσης οδηγεί στην αύξηση των δεσμών υδρογόνου του PVA ενώ η αύξηση του μοριακού βάρους όπως προαναφέρθηκε οδηγεί σε αύξηση του ιξώδους του υδατικού διαλύματος [83].

Αξίζει ακόμα να αναφερθεί ότι οι μικροκάψουλες και των τριών πειραμάτων ΑΛ10, ΑΛ11 και ΑΛ12, που παρασκευάστηκαν με την πειραματική διαδικασία Β εγκλεισμού

της κουμαρίνης-6, παρουσίασαν μεγαλύτερο μέγεθος σε σχέση με τις μικροκάψουλες ΑΛ8 (Mode: 1,44) οι οποίες παρασκευάστηκαν με την πειραματική διαδικασία Α. Αυτό αποδίδεται κυρίως στην μείωση του χρόνου ανάδευσης EWP-PE που πραγματοποιήθηκε κατά την μετάβαση από την πειραματική διαδικασία Α στην Β. Η μείωση του χρόνου ανάδευσης οδηγεί στην αύξηση του πληθυσμού των μικροκαψουλών που εμφανίζεται σε μεγαλύτερα μεγέθη [84]. Επιπλέον με την μεταβολή της αναλογίας EWP-PE από 4:1 σε 2:1 στην πειραματική διαδικασία Β, αυξήθηκε το κλάσμα όγκου της οργανικής προς την εξωτερική υδατική φάση. Με την αύξηση του λόγου αυτού έχει αποδειχτεί πως μεγαλώνει το μέγεθος των σωματιδίων, εξαιτίας της αύξησης της συγκέντρωσης των σταγόνων της οργανικής φάσης και επομένως της πιθανότητας οι σταγόνες να ενωθούν μεταξύ τους πριν την απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη [51].

Για τον προσδιορισμό των θερμικών ιδιοτήτων των πειραμάτων ΑΛ10, ΑΛ11 και ΑΛ12 εφαρμόστηκε ανάλυση TGA και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο σχήμα (7.5). Για την σύγκριση και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων παρατίθενται επιπρόσθετα αναλύσεις TGA της καθαρής κουμαρίνης-6, του υδρολυμένου αρχικού πολυμερούς (PLA: $M_v=24600\pm 1600$) που χρησιμοποιήθηκε για τις μικροκάψουλες καθώς και ενός φυσικού μίγματος Κουμαρίνης-6 / αρχικού PLA (αναλογία μάζας 107mg : 42mg) που φτιάχτηκε με διάλυση των συστατικών σε διχλωρομεθάνιο και εξάτμιση του διαλύτη.



Σχήμα 7.5: Συγκριτική αναπαράσταση των γραφημάτων TGA της δραστικής ουσίας, του υδρολυμένου αρχικού PLA, του φυσικού μίγματος και των μικροκαψουλών ΑΛ10, ΑΛ11 και ΑΛ12

Στα πειράματα ΑΛ10, ΑΛ11 και ΑΛ12 η θερμική αποικοδόμηση των μικροκαψουλών έλαβε χώρα σε ένα στάδιο και όχι σε δύο ξεχωριστά που θα υποδείκνυαν πρώτα την διάσπαση του πολυμερικού κελύφους και στην συνέχεια την διάσπαση της εγκλεισμένης κουμαρίνης-6. Το φαινόμενο αυτό είχε παρατηρηθεί και στο πείραμα ΑΛ8, δηλαδή στις μικροκάψουλες PLA με εγκλεισμένη κουμαρίνη-6 που είχαν παρασκευαστεί με την πειραματική διαδικασία Α. Ένας λόγος για τον οποίο μπορεί να συμβαίνει αυτό είναι τα κοντινά εύρη θερμοκρασιών της θερμικής αποικοδόμησης των δύο συστατικών, όπως παρατηρήθηκε και στην περίπτωση της N. Shahabudin, κατά την εφαρμογή TGA ανάλυσης σε μικροκάψουλες πολυουρίας φορμαλδεΰδης, όπου ο εγκλεισμένος παράγοντας και το πολυμερές παρουσίαζαν κοντινά σημεία μέγιστης θερμικής αποικοδόμησης [80]. Ο κυριότερος όμως λόγος στον οποίο αποδίδεται το ένα στάδιο θερμικής αποικοδόμησης των τριών πειραμάτων είναι η πολύ μικρή τιμή του λόγου $M_{\text{ουσίας}} / M_{\text{πολυμερούς}}$ (drug load) που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία για την παραγωγή των μικροκαψουλών (0,8%). Ο χαμηλός αυτός λόγος οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η ποσότητα της δραστικής ουσίας, που περιέχεται στο δείγμα μικροκαψουλών (2-15mg) που υποβάλλεται για ανάλυση TGA, είναι πάρα πολύ μικρή με αποτέλεσμα ενδεχομένως να βρίσκεται στα όρια ανιχνευσιμότητας του οργάνου. Παρά το γεγονός αυτό, στο γράφημα TGA του πειράματος ΑΛ10 (το οποίο εμφάνισε την υψηλότερη απόδοση εγκλεισμού από τα τρία πειράματα), η έναρξη της θερμικής αποικοδόμησης (T_d 5%) παρατηρείται στους 274,8 οC, αρκετά νωρίτερα από

την θερμοκρασία στην οποία ξεκινάει η αποικοδόμηση του υδρολυμένου πολυμερούς (310,0 οC) και πολύ κοντά στην θερμοκρασία που ξεκινάει η αποικοδόμηση του φυσικού μίγματος (282,2 οC). Ακόμα, αξίζει να παρατηρηθεί ότι τα σημεία της μέγιστης θερμικής αποικοδόμησης και για τα τρία πειράματα ΑΛ10, ΑΛ11 και ΑΛ12 (T_{dmax} = 350,3, 353,7 και 350,8 οC αντίστοιχα), παρουσιάζονται λίγο νωρίτερα από την μέγιστη θερμική διάσπαση του πολυμερούς (T_{dmax} = 355,7 οC).

Πίνακας 7.6: Σημείο τήξης (T_m) και βαθμός κρυσταλλικότητας (x_c) των μικροκαψουλών ΑΛ10, ΑΛ11 και ΑΛ12

Πείραμα	T_{c1} (°C)	T_{m1} (°C)	T_{m2} (°C)	X_c %
PLA $M_n=24600 \pm 1600$	n.d.	159,1	n.d.	47,3
Κουμαρίνη-6	n.d.	n.d.	214,2	n.d.
Φυσικό Μίγμα PLA-κουμαρίνη-6	n.d.	148,5	194,7	n.d.
ΑΛ10	89,0	155,3	n.d.	12,8
ΑΛ11	86,7	156,2	n.d.	18,3
ΑΛ12	90,9	155,6	n.d.	14,9

Στον πίνακα (7.6) εμφανίζονται ακόμα οι θερμικές ιδιότητες μέσω του DSC και παρατηρείται ότι οι μικροκάψουλες ΑΛ10, ΑΛ11 και ΑΛ12 εμφανίζονται να είναι άμορφες, με πολύ χαμηλή κρυσταλλικότητα (12,8 %, 18,3 % και 14,9 % αντίστοιχα). Το φαινόμενο αυτό είχε παρατηρηθεί και στην περίπτωση των μικροκαψουλών της ουμπελιφερόνης καθώς και στις μικροκάψουλες ΑΛ8 της κουμαρίνης-6, που παρασκευάστηκαν με την πειραματική διαδικασία Α. Επιπλέον και τα τρία πειράματα μικροκαψουλών, παρουσιάζουν ένα μοναδικό σημείο τήξης (155,3 οC , 156,2 οC και 155,6 οC αντίστοιχα). Η εμφάνιση σημείου τήξεως που να αντιστοιχεί στην τήξη της δραστικής ουσίας δεν παρατηρείται σε κανένα από τα τρία πειράματα και το φαινόμενο αυτό αποδίδεται και εδώ, στον πολύ χαμηλό λόγο $M_{ουσίας}/ M_{πολυμερούς}$ ($drug\ load=0,8\ %$) που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή τους.

Τέλος για τα πειράματα ΑΛ10 και ΑΛ11, υπολογίστηκε το μέσο κατά ιξώδες μοριακό βάρος (M_v) του πολυμερικού κελύφους των μικροκαψουλών και οι τιμές που προσδιορίστηκαν παρατίθενται στον πίνακα (7.7). Από την σύγκριση των τιμών αυτών με το M_v του αρχικού υδρολυμένου PLA, φάνηκε ότι ο σχηματισμός των μικροκαψουλών δεν οδήγησε σε σημαντική μεταβολή του μοριακού βάρους του πολυμερούς. Η μικρή αύξηση του μοριακού βάρους που παρατηρείται στις

μικροκάψουλες ΑΛ10 και ΑΛ11 βρίσκεται μέσα στα όρια των υπολογιζόμενων σφαλμάτων και δεν θεωρείται σημαντική.

Πίνακας 7.7: Μοριακό βάρος των μικροκαψουλών ΑΛ10 και ΑΛ11

Δείγμα	Μέσο κατά ιξώδες μοριακό βάρος (M_v) (g/mol)
PLA (172 h υδρόλυσης)	24600±1600
Μικροκάψουλες ΑΛ10	26100± n.d.
Μικροκάψουλες ΑΛ11	26200± n.d.

Από τα πειράματα ΑΛ10, ΑΛ11 και ΑΛ12, οι μικροκάψουλες ΑΛ10 εμφάνισαν τις καλύτερες ιδιότητες παρουσιάζοντας καλή μορφολογία και ομοιομορφία, μικρό σχετικά μέγεθος με μικρό δείκτη πολυδιασποράς και υψηλή τιμή άμεσης απόδοσης εγκλεισμού. Για τον λόγο αυτό, το PVA με βαθμό υδρόλυσης 87-90% και μοριακό βάρος 30000-70000 αναδείχτηκε ως ο πιο κατάλληλος σταθεροποιητής για την παρασκευή των μικροκαψουλών της κουμαρίνης-6. Το αποτέλεσμα αυτό ήταν και αυτό που αναμενόταν με βάση προηγούμενες ερευνητικές εργασίες καθώς έχει αποδειχτεί ότι το PVA μεγάλου σχετικά μοριακού βάρους και χαμηλού βαθμού υδρόλυσης οδηγεί στο σχηματισμό καλύτερων μικροσωματιδίων, και για αυτό προτιμάται συνήθως ως σταθεροποιητής [83].

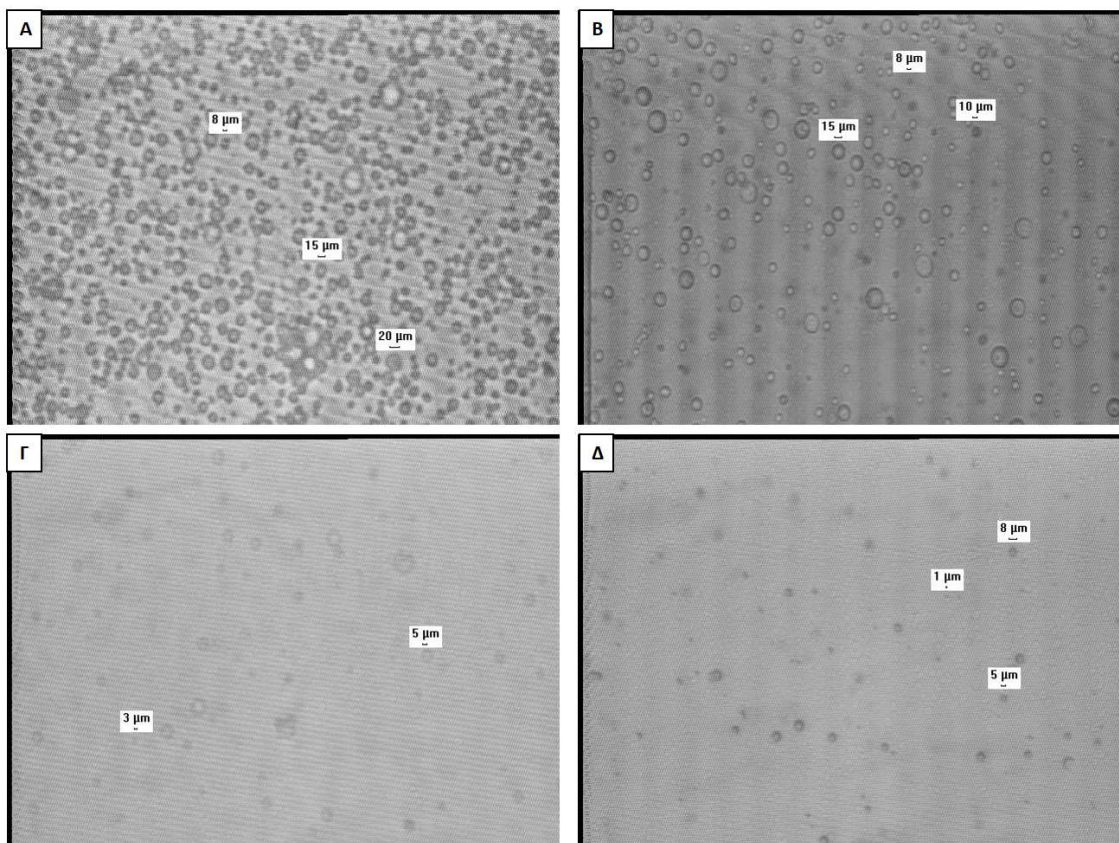
7.2.2. Μείωση της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας

Με βάση το πείραμα ΑΛ10, παρασκευάστηκαν τα πειράματα ΑΛ13, ΑΛ14 και ΑΛ15, τα οποία αποτέλεσαν επαναλήψεις του ΑΛ10 με μείωση της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας από 0,007 g/ml σε 0,001 g/ml. Η κουμαρίνη-6 αποτελεί μία σχετικά ακριβή δραστική ουσία. Η μείωση της συγκέντρωσης στα πειράματα ΑΛ13, ΑΛ14 και ΑΛ15, πραγματοποιήθηκε λόγω της περιορισμένης ποσότητας της κουμαρίνης-6 που υπήρχε σε διάθεση και προκειμένου να συνεχιστούν τα πειράματα διερεύνησης διάφορων παραμέτρων της πειραματική διαδικασία στις τελικές ιδιότητες των παραγόμενων μικροκαψουλών. Τα πειράματα ΑΛ13, ΑΛ14 και ΑΛ15 παρουσιάζονται στον πίνακα (7.8):

Πίνακας 7.8: Πειράματα κουμαρίνης-6 με μείωση της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας

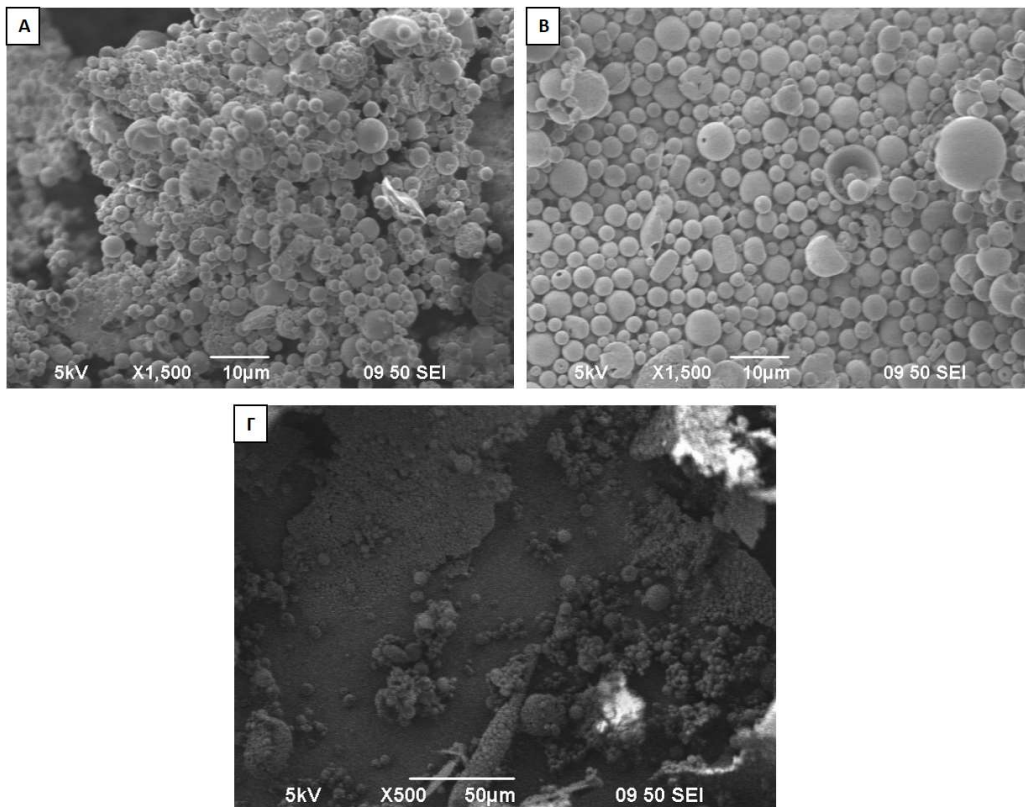
Πείραμα	C Κουμαρίνης-6 (g/ml)	Μουσίας/ Μπολυμερούς %	Μαζική απόδοση %	Άμεση Απόδοση Εγκλεισμού %
ΑΛ10-C6	0,007	0,8	91,3	87,7± 1,5 %
ΑΛ13-C6	0,001	0,1	71,9	42,8± 6,8 %
ΑΛ14-C6 (Επανάληψη ΑΛ13)	0,001	0,1	92,0	52,0± 7,0 %
ΑΛ15-C6 (Επανάληψη ΑΛ13)	0,001	0,1	83,8	58,1± 1,6%

Τα πειράματα ΑΛ13, ΑΛ14 και ΑΛ15 εξετάστηκαν με το οπτικό μικροσκόπιο και οι εικόνες που λήφθηκαν παρουσιάζονται παρακάτω (εικόνα (7.5) Β, Γ και Δ). Μαζί με τις εικόνες αυτές παρατίθεται και η εικόνα του οπτικού μικροσκοπίου για το πείραμα ΑΛ10 (εικόνα (7.5) Α) προκειμένου να γίνει σύγκριση της μορφής των μικροσωματιδίων. Στις εικόνες παρουσιάζεται ο σχηματισμός μικροκαψουλών και για τα τρία πειράματα ΑΛ13, ΑΛ14 και ΑΛ15 χωρίς την εμφάνιση συσσωματωμάτων. Από την σύγκριση των εικόνων προκύπτει ότι τα πειράματα ΑΛ13 και ΑΛ14 εμφανίζουν μέγεθος μικροκαψουλών παρόμοιο με εκείνων του πειράματος ΑΛ10, ενώ το πείραμα ΑΛ15 εμφανίζει μικροκάψουλες ελάχιστα μικρότερου μεγέθους. Από την οπτική μικροσκοπία, το μέγεθος των μικροσωματιδίων ΑΛ13 και ΑΛ14 εκτιμήθηκε γύρω στα 3-5 μm ενώ εκείνων του πειράματος ΑΛ15 εκτιμήθηκε στα 3-4 μm. Οι εικόνες για τα πειράματα ΑΛ14 και ΑΛ15 παρουσιάζονται λιγότερο καθαρές εξαιτίας της αραιότερης διασποράς που παρασκευάστηκε για τα πειράματα αυτά, προκειμένου να εξεταστούν στο οπτικό μικροσκόπιο.



Εικόνα 7.5: Α) Μικροκάψουλες ΑΛ10 στο οπτικό μικροσκόπιο, Β) Μικροκάψουλες ΑΛ13 στο οπτικό μικροσκόπιο, Γ) Μικροκάψουλες ΑΛ14 στο οπτικό μικροσκόπιο, Δ) Μικροκάψουλες ΑΛ15 στο οπτικό μικροσκόπιο

Η μορφολογία των μικροκαψουλών των πειραμάτων ΑΛ13 και ΑΛ14 επιβεβαιώθηκε και με ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM). Οι εικόνες που λήφθηκαν από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο παρουσιάζονται στην συνέχεια, μαζί με την εικόνα της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας του πειράματος ΑΛ10 (εικόνα (7.6) Α), για σύγκριση της μορφολογίας. Στην εικόνα του πειράματος ΑΛ14 (εικόνα (7.6) Β) φαίνεται ο σχηματισμός λείων σφαιρικών μικροκαψουλών, παρόμοιας μορφολογίας με εκείνων του πειράματος ΑΛ10 και μέγεθος γύρω στα 3-5 μm . Όσον αφορά το πείραμα ΑΛ13 (εικόνα (7.6) Γ), από την εικόνα που λήφθηκε στα 50 μm φαίνεται ο σχηματισμός σφαιρικών μικροκαψουλών. Ωστόσο δεν ήταν δυνατή η λήψη καθαρότερης εικόνας καθώς το δείγμα δεν είχε επιχρυσωθεί καλά και έτσι η ακτίνα έλιωνε το υλικό πλησιάζοντας σε κοντινότερη απόσταση.



Εικόνα 7.6: Α) Πείραμα ΑΛ10 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 10 μm Β) Πείραμα ΑΛ14 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 10 μm, Γ) Πείραμα ΑΛ13 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 50 μm

Η άμεση απόδοση εγκλεισμού, υπολογίστηκε για τα πειράματα ΑΛ13, ΑΛ14 και ΑΛ15 και προέκυψαν οι τιμές $42,8 \pm 6,8\%$, $52,0 \pm 7,0\%$ και $58,1 \pm 1,6\%$ αντίστοιχα. Οι τιμές αυτές εμφανίζονται αρκετά χαμηλότερες από εκείνη που είχε υπολογιστεί για τις μικροκάψουλες ΑΛ10 ($87,7 \pm 1,5\%$). Η μείωση της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας, οδήγησε επομένως σε μείωση της τιμής της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού. Το αποτέλεσμα αυτό ήταν το αναμενόμενο καθώς η συγκέντρωση μειώθηκε, μειώνοντας την ποσότητα της κουμαρίνης-6 που χρησιμοποιήθηκε στις μικροκάψουλες (από 14 mg σε 1 mg). Σύμφωνα με την βιβλιογραφία οι απώλειες της δραστικής ουσίας στην συνεχή εξωτερική φάση παραμένουν σταθερές όταν δεν μεταβάλλονται οι υπόλοιπες συνθήκες της διεργασίας. Έτσι όταν μειώνεται η ποσότητα της ουσίας που χρησιμοποιείται για εγκλεισμό, οι ίδιες συστηματικές απώλειες έχουν μεγαλύτερη επιρροή ενώ η αύξηση της ποσότητας της ουσίας μειώνει την επιρροή των απωλειών, αυξάνοντας το ποσοστό του φαρμάκου που ενθυλακώνεται [47].

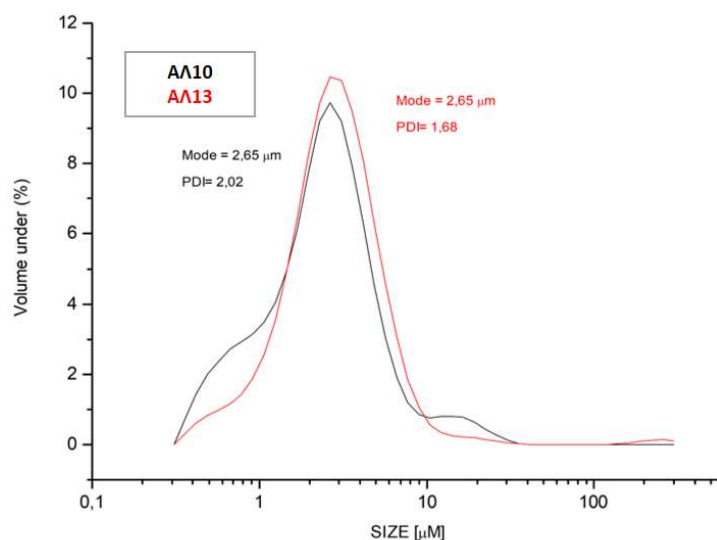
Αξίζει να σημειωθεί ακόμα πως τα πειράματα ΑΛ13, ΑΛ14 και ΑΛ15 παρουσίασαν μεταξύ τους, αρκετά κοντινές τιμές άμεσης απόδοσης εγκλεισμού.

Με μετρήσεις του mastersizer υπολογίστηκε το ακριβές μέγεθος των μικροκαψουλών ΑΛ13 και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα (7.9) μαζί με τα αποτελέσματα

των μετρήσεων του πειράματος ΑΛ10. Από τις μετρήσεις αυτές φαίνεται πως τα δύο πειράματα παρουσιάζουν μικροκάψουλες ίδιου μεγέθους, γύρω στα 3 μm . Ωστόσο οι μικροκάψουλες ΑΛ10, όπως φαίνεται στο σχήμα (7.6), εμφανίζουν μεγάλους πληθυσμούς και σε αρκετά μικρότερα μεγέθη από την τιμή mode, κάτι το οποίο δεν παρατηρείται στις μικροκάψουλες ΑΛ13.

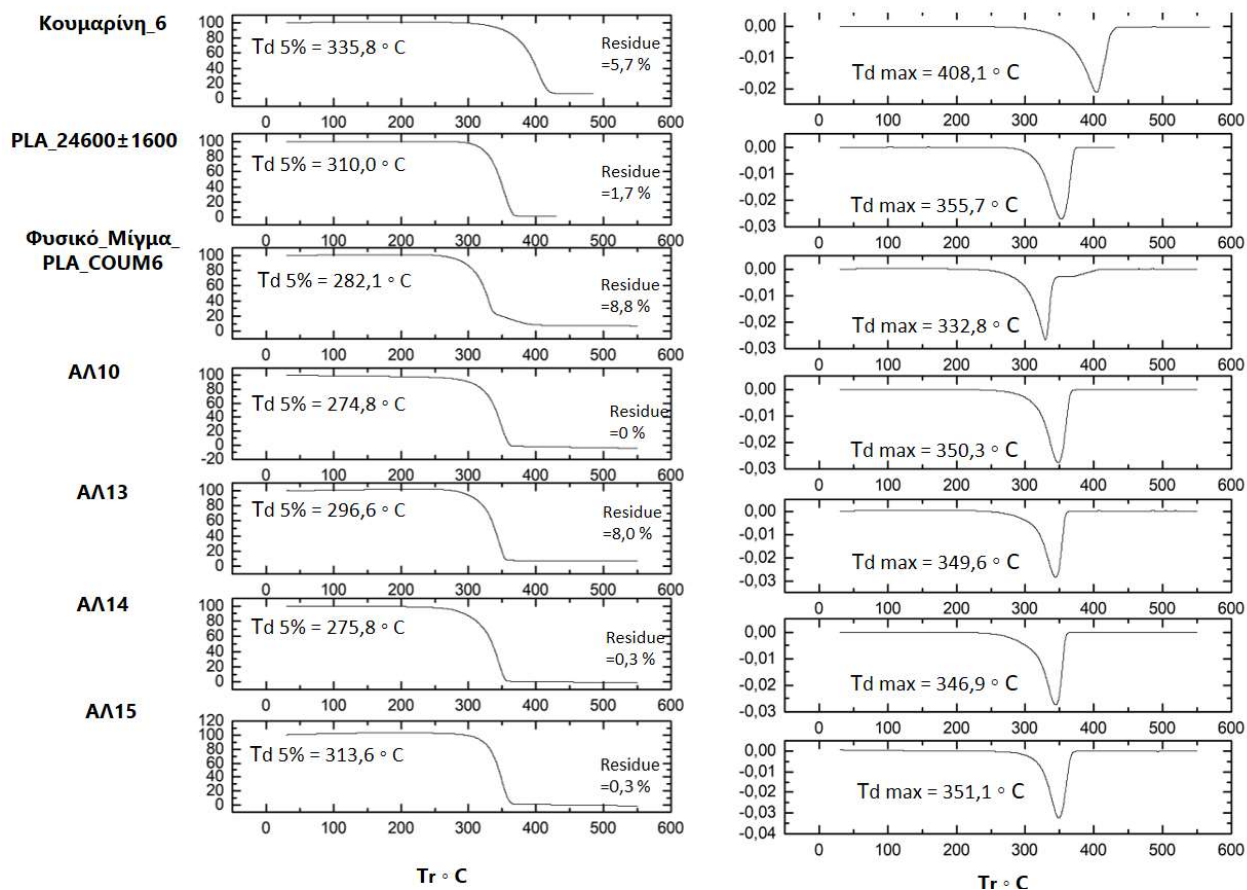
Πίνακας 7.9: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ13 και σύγκριση με του με το πείραμα ΑΛ10

Sample	D[4,3] (μm)	D(v,0.1) (μm)	D(v,0.5) (μm)	D(v,0.9) (μm)
ΑΛ10	3	0,70	2,24	5,24
ΑΛ13	5,61	1,08	2,54	5,34



Σχήμα 7.6: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ13 από το mastersizer

Στην συνέχεια τα πειράματα ΑΛ13, ΑΛ14 και ΑΛ15, υποβλήθηκαν σε ανάλυση TGA και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο σχήμα (7.7). Μαζί παρατίθενται και τα επιπλέον γραφήματα τα οποία κρίνονται απαραίτητα για την ερμηνεία και την σύγκριση των αποτελεσμάτων.



Σχήμα 7.7: Συγκριτική αναπαράσταση των γραφημάτων TGA της δραστικής ουσίας, του υδρολυμένου αρχικού PLA, του φυσικού μίγματος και των μικροκαψουλών ΑΛ10, ΑΛ13, ΑΛ14 και ΑΛ15

Όπως έχει προαναφερθεί και στις αναλύσεις TGA των προηγούμενων πειραμάτων της κουμαρίνης-6, με βάση την βιβλιογραφία θα περιμέναμε η θερμική αποικοδόμηση των μικροκαψουλών ΑΛ13, ΑΛ14 και ΑΛ15 να πραγματοποιείται σε δύο στάδια, με το πρώτο να αποδίδεται στην έναρξη της αποικοδόμησης του πολυμερούς και το δεύτερο στην έναρξη της θερμικής αποικοδόμησης της ουσίας [78]. Ωστόσο στην ανάλυση TGA του πειράματος ΑΛ10 το φαινόμενο αυτό δεν είχε παρατηρηθεί. Συγκεκριμένα οι μικροκάψουλες ΑΛ10 παρουσίασαν θερμική διάσπαση σε ένα μόνο στάδιο. Την ίδια συμπεριφορά φαίνεται να εμφανίζουν με βάση τα γραφήματα του TGA και οι μικροκάψουλες ΑΛ13, ΑΛ14 και ΑΛ15. Η θερμική αποικοδόμηση τους παρατηρείται σε ένα ενιαίο στάδιο. Το φαινόμενο αυτό αποδίδεται κυρίως στον πολύ μικρό λόγο της μάζας της ουσίας προς την μάζα του πολυμερούς που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των μικροσωματιδίων ($drug\ load=0,1\%$) με αποτέλεσμα η μάζα της ουσίας που περιέχεται στο δείγμα των μικροκαψουλών που τίθεται για ανάλυση (2-15 mg) πιθανότατα να βρίσκεται στα όρια της ανιχνευσιμότητας του οργάνου. Ένας άλλος λόγος στον οποίο μπορεί να οφείλεται η θερμική αποικοδόμηση σε ένα στάδιο είναι το γεγονός ότι η κουμαρίνη-6 ($T_{d\ max}=408,1\ oC$) και το υδρολυμένο αρχικό PLA ($T_{d\ max}=355,7$

οC), παρουσιάζουν θερμική διάσπαση σε κοντινά εύρη θερμοκρασιών οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι μπορεί τα δύο στάδια να επικαλύπτονται. Αξίζει ωστόσο να αναφερθεί ότι στις μικροκάψουλες ΑΛ14, όπως συνέβη και στις μικροκάψουλες ΑΛ10, η έναρξη της θερμικής αποικοδόμησης ξεκινάει αρκετά νωρίτερα ($T_{d\ 5\%} = 275,8$ οC) σε σχέση με την θερμοκρασία στην οποία αρχίζει η θερμική διάσπαση του υδρολυμένου PLA ($T_d\ 5\% = 310$ οC).

Στις μικροκάψουλες ΑΛ13, ΑΛ14 και ΑΛ15, εφαρμόστηκε επιπρόσθετα DSC ανάλυση και οι μετρήσεις που λήφθηκαν παρατίθενται στον πίνακα (7.10) Από τον πίνακα φαίνεται ότι οι μικροκάψουλες και των τριών αυτών πειραμάτων, όπως ακριβώς παρατηρήθηκε και σε όλα τα προηγούμενα πειράματα μικροκαψουλών, εμφανίζουν αρκετά μειωμένη κρυσταλλικότητα (19,7 %, 30,2 % και 8,2% αντίστοιχα) σε σχέση με εκείνη του αρχικού υδρολυμένου πολυμερούς (47,3 %). Όσον αφορά τα σημεία τήξης, και στα τρία πειράματα εμφανίζεται μία μόνο ενδόθερμη κορυφή, σε θερμοκρασία λίγο χαμηλότερη από εκείνη στην οποία εμφανίζεται η τήξη του αρχικού PLA. Όπως συνέβη και στα προηγούμενα πειράματα μικροκαψουλών της κουμαρίνης-6 που παρασκευάστηκαν με την πειραματική διαδικασία Β, η εμφάνιση σημείου τήξης που να υποδηλώνει την τήξη της δραστικής ουσίας δεν παρατηρείται ούτε στην περίπτωση αυτή.

Πίνακας 7.10: Σημείο τήξης (T_m) και βαθμός κρυσταλλικότητας (x_c) των μικροκαψουλών ΑΛ13, ΑΛ14 και ΑΛ15

Πείραμα	T_{c1} (°C)	T_{m1} (°C)	T_{m2} (°C)	x_c %
PLA $M_v=24600\pm 1600$	n.d.	159,1	n.d.	47,3
Κουμαρίνη-6	n.d.	n.d.	214,2	n.d.
Φυσικό Μίγμα PLA-κουμαρίνη-6	n.d.	148,5	194,7	n.d.
ΑΛ13	n.d.	153,7	n.d.	19,7
ΑΛ14	82,5	154,8	n.d.	30,2
ΑΛ15	91,3	154,4	n.d.	8,2

Για τις μικροκάψουλες ΑΛ13, μετρήθηκε τέλος το μέσο κατά ξήωδες μοριακό βάρος του πολυμερούς και το αποτέλεσμα παρουσιάζεται στον πίνακα (7.11). Συγκρίνοντας την τιμή αυτή με το μέσο κατά ξήωδες μοριακό βάρος του αρχικού υδρολυμένου PLA, προκύπτει ότι ο σχηματισμός των μικροκαψουλών οδήγησε σε μικρή μείωση του μοριακού βάρους του πολυμερούς. Παρόμοια μικρή μείωση είχε παρατηρηθεί και στην

ερευνητική εργασία της Κ. Chronaki κατά την παρασκευή κενών μικροκαψουλών πολυ(γαλακτικού οξέος) [85].

Πίνακας 7.11: Μοριακό βάρος μικροκαψουλών ΑΛ13

Δείγμα	Μέσο κατά ιξώδες μοριακό βάρος (M_v) (g/mol)
PLA (172 h υδρόλυσης)	24600±1600
Μικροκάψουλες ΑΛ13	19000± n.d.

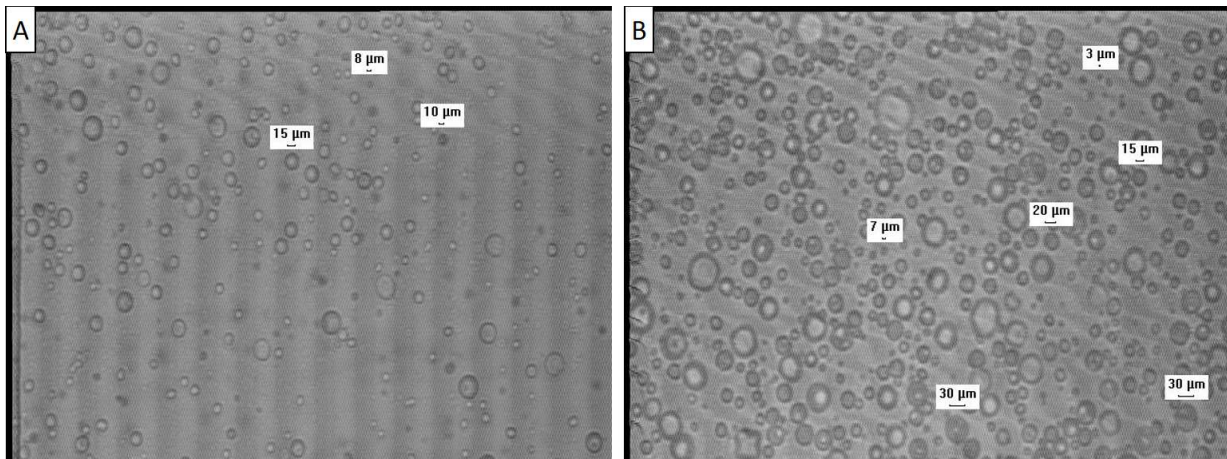
7.2.3. Επίδραση PLA υψηλότερου μοριακού βάρους

Προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση του μοριακού βάρους του πολυμερούς στις τελικές ιδιότητες των μικροκαψουλών, παρασκευάστηκε το πείραμα ΑΛ16. Το πείραμα ΑΛ16 αποτέλεσε επανάληψη των συνθηκών του πειράματος ΑΛ13, άλλα με την χρησιμοποίηση PLA υψηλότερου μοριακού βάρους ($M_v=50000 \pm 472$). Το πείραμα ΑΛ16 μαζί με το πείραμα ΑΛ13 παρουσιάζονται στον πίνακα (7.12).

Πίνακας 7.12: Πείραμα ΑΛ16-Αύξηση του μοριακού βάρους του πολυμερούς

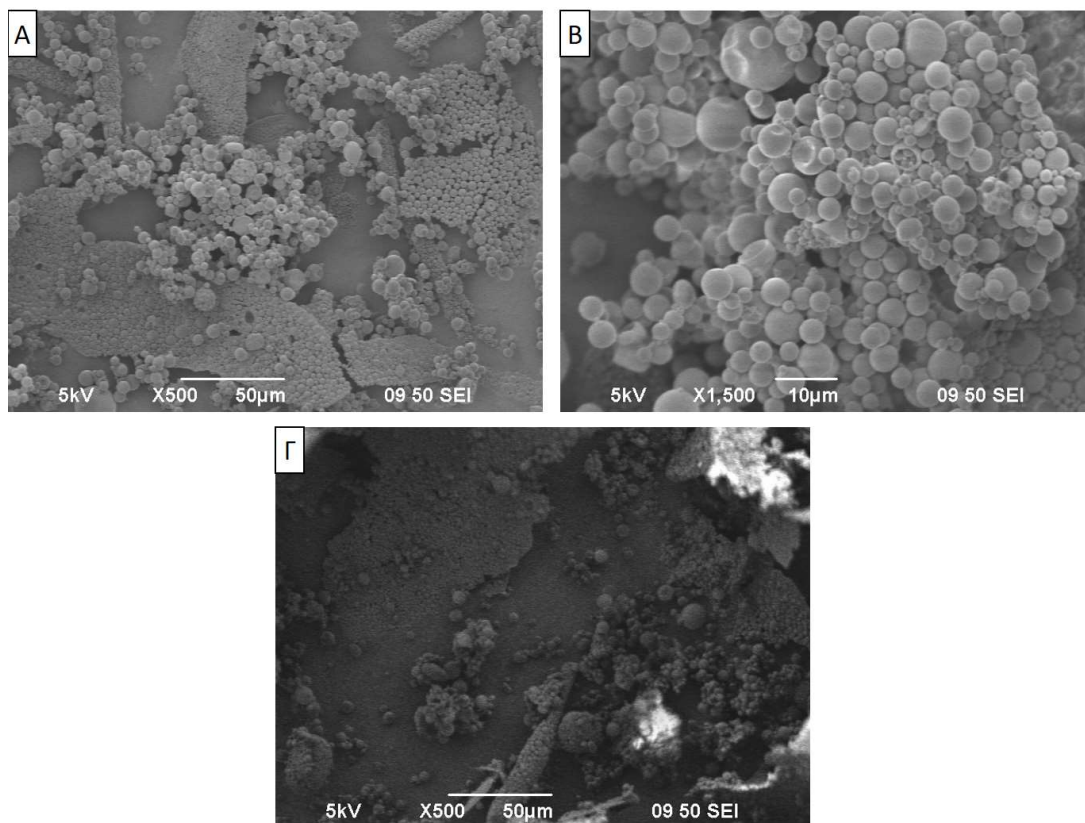
Πείραμα	M_v	C Κουμαρίνης-6 (g/ml)	Μουσίας / Μπολυμερούς %	Μαζική απόδοση %	Άμεση Απόδοση Εγκλεισμού %
ΑΛ13-C6	24600±1600	0,001	0,1	71,5	42,8± 6,8%
ΑΛ16-C6	50000±472	0,001	0,1	87,2	44,5± 3,5%

Η μορφολογία των μικροκαψουλών ΑΛ16 εξετάστηκε με το οπτικό μικροσκόπιο και η εικόνα που λήφθηκε παρουσιάζεται στην συνέχεια (εικόνα (7.7)). Μαζί με την εικόνα του πειράματος ΑΛ16 παρατίθεται και η εικόνα που είχε ληφθεί για το πείραμα ΑΛ13 προκειμένου να πραγματοποιηθεί σύγκριση των δύο πειραμάτων. Στην εικόνα του ΑΛ16 (εικόνα (7.7) Β), παρουσιάζεται ο σχηματισμός καθαρών μικροκαψουλών χωρίς την παρουσία συσσωματωμάτων. Το μέγεθος των μικροκαψουλών αυτών, προσδιορίζεται από τις εικόνες γύρω στα 5-7 μm και εμφανίζεται μεγαλύτερο από εκείνο των μικροκαψουλών ΑΛ13. Ακόμα από τα δύο αυτά πειράματα οι μικροκάψουλες ΑΛ16, φαίνονται να εμφανίζουν μεγαλύτερη ανομοιομορφία ως προς το μέγεθος τους.



Εικόνα 7.7: Α) Μικροκάψουλες ΑΛ13 στο οπτικό μικροσκόπιο, Β) Μικροκάψουλες ΑΛ16 στο οπτικό μικροσκόπιο

Τα μικροσωματίδια του ΑΛ16 παρατηρήθηκαν και με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM). Στις εικόνες που προέκυψαν από τις μετρήσεις του οργάνου (εικόνα (7.8,)) οι μικροκάψουλες ΑΛ16 εμφανίζουν λείο σφαιρικό σχήμα και μέγεθος 4-7 μm. Μαζί με την εικόνα του των μικροκαψουλών ΑΛ16, παρατίθεται και η εικόνα των μικροκαψουλών ΑΛ13 για σύγκριση της μορφολογίας. Από την σύγκριση των δύο εικόνων παρατηρείται και πάλι ότι τα μικροσωματίδια του πειράματος ΑΛ16 παρουσιάζουν λίγο μεγαλύτερο μέγεθος σε σχέση με εκείνα του ΑΛ13. Αξίζει να σημειωθεί ότι η διαφορά στην ευκρίνεια, που εμφανίζει η εικόνα του ΑΛ16 στα 50μm (εικόνα (7.8 Α)) με εκείνη του ΑΛ13 στα 50 μm (εικόνα (7.8 Β)), οφείλεται στο ότι οι μετρήσεις για τα δύο πειράματα λήφθηκαν από διαφορετικά ηλεκτρονικά μικροσκόπια σάρωσης.



Εικόνα 7.8: Α) Πείραμα ΑΛ16 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 50 μm (SEM), Β) Πείραμα ΑΛ16 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 10 μm, Γ) Πείραμα ΑΛ13 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 50 μm

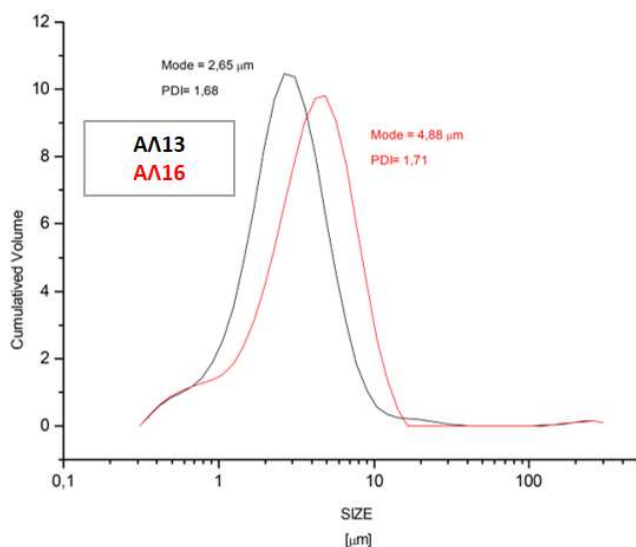
Στην συνέχεια υπολογίστηκε η άμεση απόδοση εγκλεισμού για το πείραμα ΑΛ16, και η τιμή της προσδιορίστηκε σε $44,5 \pm 3,5\%$. Συγκρίνοντας την τιμή αυτή με την άμεση απόδοση εγκλεισμού που παρουσιάζει το πείραμα ΑΛ13 ($42,8 \pm 6,8\%$), προκύπτει το συμπέρασμα ότι οι μικροκάψουλες ΑΛ16 και οι μικροκάψουλες ΑΛ13 παρουσιάζουν αρκετά κοντινές τιμές άμεσης απόδοσης εγκλεισμού με την τιμή του πειράματος ΑΛ16 να παρουσιάζεται λίγο υψηλότερη. Από προηγούμενες έρευνες έχει βρεθεί ότι η αύξηση του μοριακού βάρους του πολυμερούς ανεβάζει την τιμή της απόδοσης εγκλεισμού. Αυτό συμβαίνει γιατί η αύξηση του μοριακού βάρους του PLA, αυξάνει το ιξώδες της οργανική φάσης, το οποίο με την σειρά του έχει αποδειχτεί ότι βελτιώνει την απόδοση εγκλεισμού [47], [86]. Ωστόσο η αύξηση που παρατηρείται στην τιμή των μικροκαψουλών ΑΛ16 σε σχέση με εκείνη των μικροκαψουλών ΑΛ13 είναι πολύ μικρή (μόλις 5%). Ακόμα, μολονότι το πείραμα ΑΛ16 παρουσιάζει μεγαλύτερη απόδοση εγκλεισμού σε σχέση με το πείραμα ΑΛ13, παρουσιάζει χαμηλότερη σε σχέση με τα δύο πειράματα-επαναλήψεις του ΑΛ13, το ΑΛ14 και το ΑΛ15, τα οποία εμφανίζουν αποδόσεις εγκλεισμού $52,0 \pm 7,0\%$ και $58,1 \pm 1,6\%$ αντίστοιχα. Αξίζει να σημειωθεί όμως, ότι και οι τιμές των πειραμάτων ΑΛ14 και ΑΛ15 παρουσιάζονται αρκετά κοντινές με εκείνη του ΑΛ16.

Το μέγεθος των μικροκαψουλών ΑΛ16, μετρήθηκε με Mastersizer και τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρουσιάζονται στον πίνακα (7.13). Στον ίδιο πίνακα παρατίθενται και τα αποτελέσματα του Mastersizer που λήφθηκαν για το πείραμα ΑΛ13, προκειμένου να συγκριθεί το μέγεθος των μικροσωματιδίων των δύο πειραμάτων.

Πίνακας 7.13: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ16 και σύγκριση με του με το πείραμα ΑΛ13

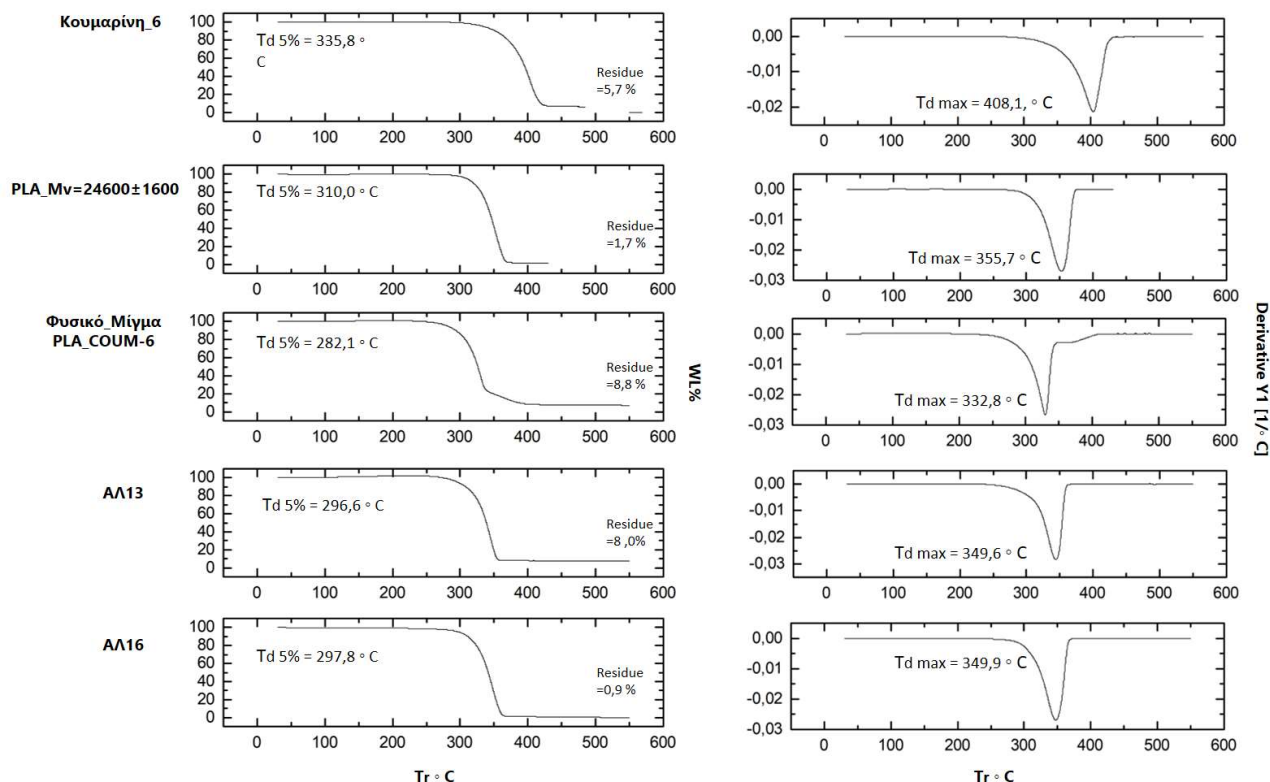
Δείγμα	D[4,3] (μm)	D(v,0.1) (μm)	D(v,0.5) (μm)	D(v,0.9) (μm)
ΑΛ13	5,61	1,08	2,54	5,34
ΑΛ16	5,28	1,23	3,70	7,55

Από τις μετρήσεις αυτές όπως και από το σχήμα (7.8), φαίνεται ξεκάθαρα πως οι μικροκάψουλες ΑΛ16, με το πολυμερές υψηλότερου μοριακού βάρους, εμφανίζουν μεγαλύτερο μέγεθος (mode=4,88 μm), σε σχέση με τις μικροκάψουλες ΑΛ13 (mode=2,65 μm). Με άλλα λόγια η αύξηση του μοριακού βάρους του πολυμερούς, οδήγησε σε αύξηση του μεγέθους των μικροσωματιδίων. Σε προηγούμενη ερευνητική εργασία της Κ. Chronaki, κατά την παρασκευή κενών μικροκαψουλών από PLA διαφορετικών μοριακών βαρών, προέκυψε το ίδιο συμπέρασμα, ότι δηλαδή η αύξηση του μοριακού βάρους του πολυμερούς οδηγεί σε αύξηση του μεγέθους [85]. Το φαινόμενο αυτό αποδίδεται στην αύξηση του ιξώδους της οργανικής φάσης, η οποία προκύπτει από την χρήση πολυμερούς υψηλότερου μοριακού βάρους, και η οποία οδηγεί τελικά στον σχηματισμό μικκυλίων μεγαλύτερου μεγέθους στο διπλό γαλάκτωμα [47].



Σχήμα 7.8: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ16 από το mastersizer

Στο πείραμα ΑΛ16, εφαρμόστηκε θερμοσταθμική ανάλυση μάζας (TGA) και τα αποτελέσματα παρατίθενται στο σχήμα (7.9).



Σχήμα 7.9: Συγκριτική αναπαράσταση των γραφημάτων TGA της δραστικής ουσίας, του υδρολυμένου αρχικού PLA, του φυσικού μίγματος και των μικροκαψουλών ΑΛ13 και ΑΛ16

Και στο πείραμα ΑΛ16, όπως συνέβη και στα προηγούμενα πειράματα της κουμαρίνης-6, η θερμική διάσπαση των μικροκαψουλών παρατηρείται σε ένα ενιαίο στάδιο αρκετά παρόμοιο με την θερμική αποικοδόμηση του υδρολυμένου αρχικού PLA. Η θερμική διάσπαση του ΑΛ16 ωστόσο φαίνεται να ξεκινάει νωρίτερα ($T_{d\ 5\%} = 297,8\text{ oC}$) σε σχέση με εκείνη του PLA ($T_{d\ 5\%} = 310\text{ oC}$), ενώ και η θερμοκρασία της μέγιστης θερμικής αποικοδόμησης των μικροκαψουλών ΑΛ16 ($T_{d\ max} = 349,9\text{ oC}$) παρουσιάζεται χαμηλότερη από εκείνη του αρχικού υδρολυμένου πολυμερούς ($T_{d\ max} = 355,7\text{ oC}$).

Οι μικροκάψουλες ΑΛ16 υποβλήθηκαν ακολούθως σε DSC ανάλυση και τα αποτελέσματα παρατίθενται παρακάτω (πίνακας (7.14)).

Πίνακας 7.14: Σημείο τήξης (T_m) και βαθμός κρυσταλλικότητας (x_c) των μικροκαψουλών ΑΛ16

Πείραμα	T_{c1} (°C)	T_{m1} (°C)	T_{m2} (°C)	x_c %
PLA $M_n=24600\pm 1600$	n.d.	159,1	n.d	47,3
Κουμαρίνη-6	n.d.	n.d	214,2	n.d.
Φυσικό Μίγμα PLA-κουμαρίνη-6	n.d.	148,5	194,7	n.d.
ΑΛ13	n.d.	153,7	n.d	19,7
ΑΛ16	94,5	158,0	n.d	21,2

Από την παρατήρηση των αποτελεσμάτων, οι μικροκάψουλες ΑΛ16, εμφανίζονται να είναι άμορφες και να παρουσιάζουν κρυσταλλικότητα 21,2 %. Ακόμα, αξίζει να σημειωθεί ότι η κρυσταλλικότητα των μικροκαψουλών ΑΛ16 παρουσιάζεται αρκετά κοντά στην κρυσταλλικότητα που εμφάνισαν οι μικροκάψουλες ΑΛ13. Το σημείο τήξης των μικροκαψουλών ΑΛ16, εμφανίζεται στους 158,0 °C, αρκετά κοντά στο σημείο τήξης του αρχικού πολυμερούς (159,1 °C), ενώ δεν εμφανίζεται σημείο τήξης που να υποδεικνύει την τήξη της δραστικής ουσίας. Το τελευταίο αυτό φαινόμενο, οφείλεται όπως έχει προαναφερθεί, στον πολύ μικρό λόγο $M_{\text{ουσίας}}/M_{\text{πολυμερούς}}$ (drug load = 0,8 %) που χρησιμοποιήθηκε για τις μικροκάψουλες.

Για τις μικροκάψουλες ΑΛ16, υπολογίστηκε το μέσο κατά ιξώδες μοριακό βάρος του πολυμερικού κελύφους και η τιμή που προσδιορίστηκε παρουσιάζεται στον πίνακα (7.15). Από την σύγκριση αυτού με το μέσο κατά ιξώδες μοριακό βάρος του αρχικού PLA, προέκυψε ότι ο σχηματισμός των μικροκαψουλών, οδήγησε σε μικρή μείωση του μοριακού βάρους του πολυμερούς. Το φαινόμενο αυτό της μικρής μείωσης του μοριακού βάρους του πολυμερικού κελύφους, έχει παρατηρηθεί και σε προηγούμενες ερευνητικές εργασίες [85].

Πίνακας 7.15: Μοριακό βάρος μικροκαψουλών ΑΛ16

Δείγμα	Μέσο κατά ιξώδες μοριακό βάρος (M_n) (g/mol)
PLA (122 h υδρόλυσης)	50000±472
Μικροκάψουλες ΑΛ16	38800±n.d.

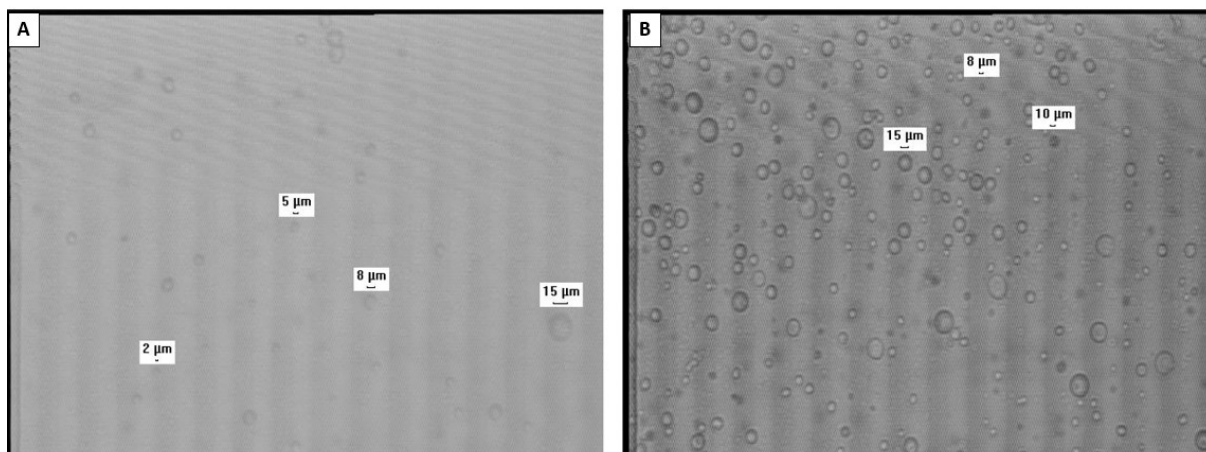
7.2.4. Μελέτη της ύπαρξης PVA στην εσωτερική υδατική φάση

Στην ερευνητική εργασία των Wei Lu και Yan Zhang [72], πραγματοποιήθηκε παρασκευή νανοκαψουλών (Cationic albumin-conjugated pegylated nanoparticles) για τον εγκλεισμό Κουμαρίνης-6, χωρίς την χρήση σταθεροποιητή στην εσωτερική υδατική φάση (IWP). Για τον λόγο αυτό, αποφασίστηκε να μελετηθεί η επίδραση της ύπαρξης ή όχι σταθεροποιητή στην εσωτερική υδατική φάση, στα τελικά χαρακτηριστικά των μικροκαψουλών. Έτσι παρασκευάστηκε το πείραμα ΑΛ17. Το πείραμα ΑΛ17 δημιουργήθηκε χωρίς PVA στην εσωτερική υδατική φάση και παρουσιάζεται στον πίνακα (7.16), μαζί με το πείραμα ΑΛ13, ώστε να είναι δυνατή η μεταξύ τους σύγκριση.

Πίνακας 7.16: Πείραμα ΑΛ17-μελέτη της ύπαρξης σταθεροποιητή στην εσωτερική υδατική φάση

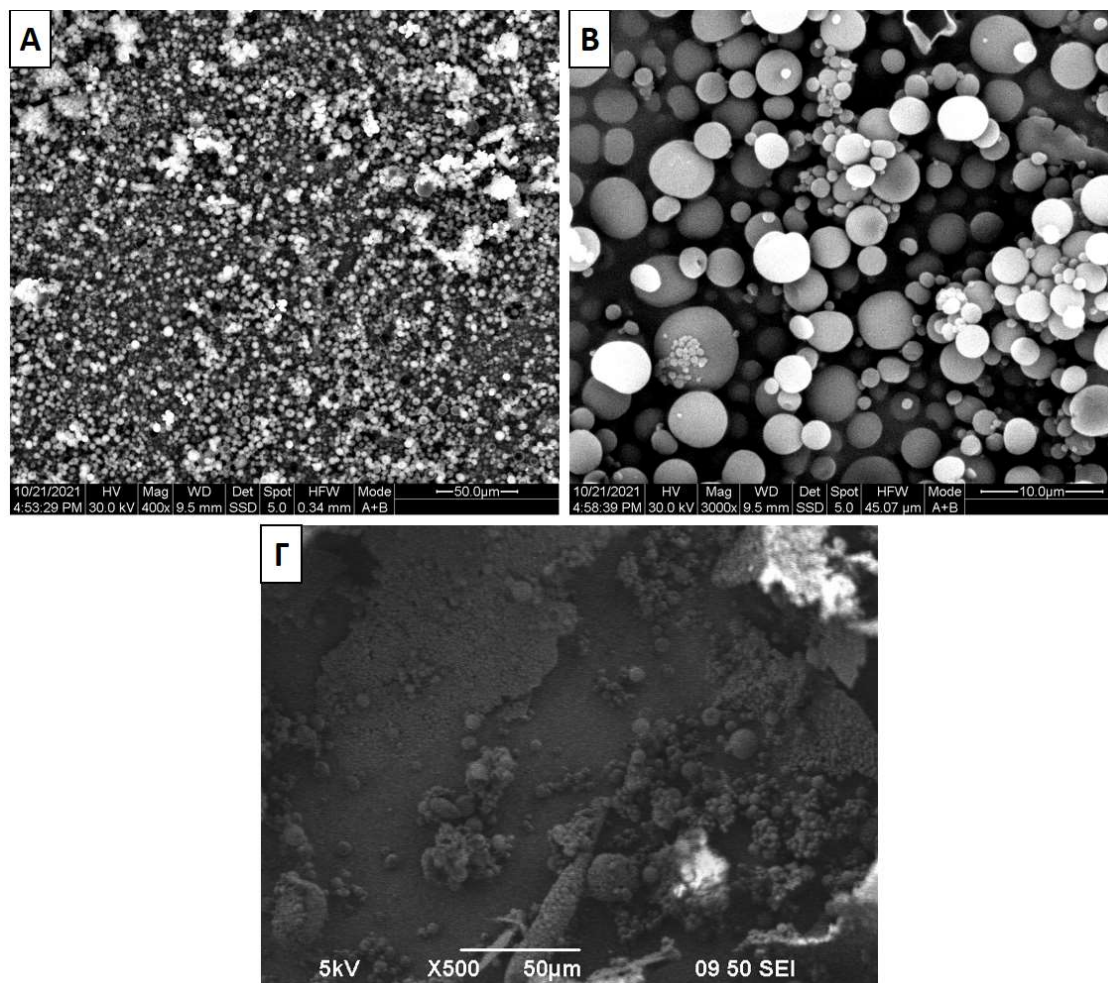
Πείραμα	IWP	C κουμαρίνης-6 (g/ml)	Μουσίας / Μπολυμερούς %	Μαζική απόδοση %	Άμεση Απόδοση Εγκλεισμού %
ΑΛ13-C6	Υδατικό διάλυμα PVA 1%	0,001	0,1	71,9	42,8± 6,8 %
ΑΛ17-C6	Απιονισμένο νερό	0,001	0,1	84,0	76,7± 9,3%

Η μορφολογία των μικροκαψουλών ΑΛ17 ελέγχθηκε με το οπτικό μικροσκόπιο και η εικόνα που λήφθηκε παρουσιάζεται παρακάτω (εικόνα (7.9)). Μαζί παρατίθεται και η εικόνα της οπτικής μικροσκοπίας των μικροκαψουλών ΑΛ13, προκειμένου να συγκριθεί η μορφολογία των δύο πειραμάτων. Δυστυχώς η εικόνα που λήφθηκε για το πείραμα ΑΛ17, εμφανίζεται λιγότερο καθαρή από εκείνη του ΑΛ13 εξαιτίας αραιότερης διασποράς που παρασκευάστηκε στο ΑΛ17 για το οπτικό μικροσκόπιο. Ωστόσο με προσεκτική παρατήρηση, φαίνεται και στις δύο εικόνες, ο σχηματισμός μικροκαψουλών παρόμοιου μεγέθους γύρω στα 3 μm, χωρίς την παρουσία συσσωματωμάτων.



Εικόνα 7.9: A) Μικροκάψουλες ΑΛ17 στο οπτικό μικροσκόπιο, Β) Μικροκάψουλες ΑΛ13 στο οπτικό μικροσκόπιο

Οι μικροκάψουλες ΑΛ17 παρατηρήθηκαν και στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) και οι εικόνες που λήφθηκαν στα 10 μm και στα 50 μm παρουσιάζονται παρακάτω (εικόνα (7.10) Α και Β). Μαζί παρουσιάζεται για λόγους σύγκρισης και η εικόνα που λήφθηκε από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης για τις μικροκάψουλες ΑΛ13 στα 50 μm (εικόνα (7.10) Γ). Από την παρατήρηση των εικόνων του πειράματος ΑΛ17, φαίνεται ο σχηματισμός λείων σφαιρικών μικροκαψουλών με μέγεθος γύρω στα 3-5 μm. Ακόμα το μέγεθος των μικροκαψουλών ΑΛ17, φαίνεται να εμφανίζεται λίγο μεγαλύτερο από το μέγεθος των μικροκαψουλών ΑΛ13. Αξίζει να σημειωθεί ότι η διαφορά στην φωτεινότητα και στην καθαρότητα μεταξύ της εικόνας του ΑΛ17 στα 50 μm και της αντίστοιχης του ΑΛ13, οφείλεται στο ότι οι μετρήσεις για τα δύο πειράματα λήφθηκαν από διαφορετικά όργανα SEM.



Εικόνα 7.10: Α) Πείραμα ΑΛ17 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 50 μm (SEM), Β) Πείραμα ΑΛ17 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 10 μm, Γ) Πείραμα ΑΛ13 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 50 μm

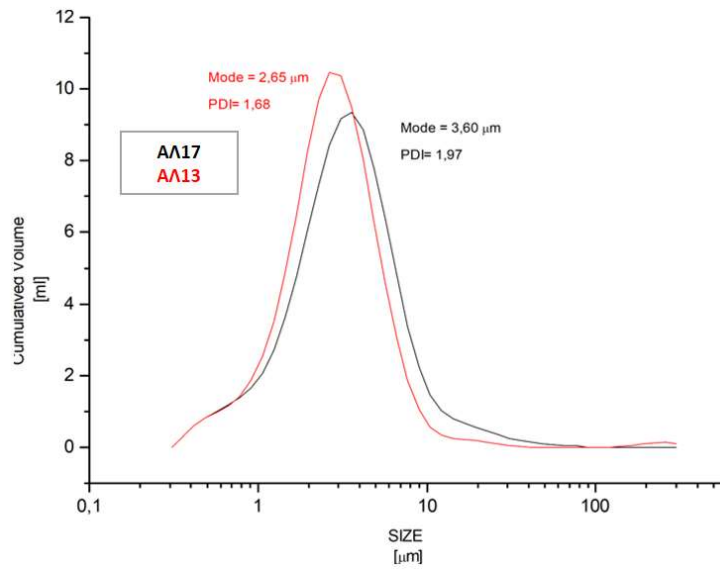
Ακολούθως, υπολογίστηκε η άμεση απόδοση εγκλεισμού των μικροκαψουλών ΑΛ17 και η τιμή της προσδιορίστηκε σε $76,7 \pm 9,3\%$. Η τιμή αυτή παρουσιάστηκε αρκετά υψηλότερη από εκείνη των μικροκαψουλών ΑΛ13, η οποία είχε υπολογιστεί σε $42,8 \pm 6,8\%$. Η αφαίρεση του σταθεροποιητή επομένως από την εσωτερική υδατική φάση οδήγησε σε σημαντική αύξηση της απόδοσης εγκλεισμού. Το φαινόμενο αυτό έρχεται σε αντίθεση με την έρευνα των Y. A. Haggaga και M. A. Osama, όπου είχε φανεί ότι η χρήση του PVA στην εσωτερική υδατική φάση, κατά την παραγωγή μικροκαψουλών PLGA με εγκλεισμένο παράγοντα, βελτίωνε την απόδοση εγκλεισμού, ενώ η μη χρησιμοποίηση σταθεροποιητή σε αυτή οδηγούσε σε χαμηλότερες τιμές [87]. Ωστόσο στην συγκεκριμένη έρευνα χρησιμοποιούνταν για εγκλεισμό μία υδρόφιλη ένωση, ενώ η κουμαρίνη-6 αποτελεί μία υδρόφοβη ουσία. Στην ερευνητική εργασία των Xiaohong Li και Xianmo Deng, εξηγείται ότι η χρήση σταθεροποιητή στην εσωτερική υδατική φάση αυξάνει την σταθερότητα του πρωταρχικού γαλακτώματος μειώνοντας ωστόσο παράλληλα το μέγεθος των πρωταρχικών σταγονιδίων νερού που βρίσκονται

διεσπαρμένα στην οργανική φάση. Η μείωση αυτή του μεγέθους των σταγονιδίων του νερού στο πρωταρχικό γαλάκτωμα (w/o), οδηγεί στην αύξηση της διεπιφάνειας των δύο φάσεων (υδατικής-οργανικής), αυξάνοντας τα φαινόμενα μεταφοράς [88]. Ενδεχομένως το γεγονός αυτό να αυξάνει τις απώλειες της δραστικής ουσίας προς την εξωτερική υδατική φάση κατά την παρασκευή του διπλού γαλακτώματος και για τον λόγο αυτό η χρήση του PVA στο πείραμα ΑΛ13 να οδηγεί σε αρκετά μειωμένη απόδοση εγκλεισμού σε σχέση με το πείραμα ΑΛ17. Σε κάθε περίπτωση η κατανόηση του μηχανισμού λειτουργίας του σταθεροποιητή στην εσωτερική υδατική φάση, είναι αρκετά δύσκολη και απαιτεί την εξέταση πολλών άλλων παραμέτρων, με αποτέλεσμα και το φαινόμενο της αύξησης της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού που παρατηρείται απουσία του γαλακτωματοποιητή στην συγκεκριμένη πειραματική εργασία να χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση.

Το μέγεθος των μικροκαψουλών ΑΛ17, υπολογίστηκε με Mastersizer και οι μετρήσεις παρατίθενται στο πίνακα (7.17). Στον ίδιο πίνακα παρατίθενται και οι μετρήσεις που λήφθηκαν από το Mastersizer για το πείραμα ΑΛ13 προκειμένου να γίνει σύγκριση του μεγέθους των μικροκαψουλών των δύο πειραμάτων. Όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα των μετρήσεων, οι μικροκάψουλες ΑΛ17 παρουσιάζουν μέγεθος γύρω στα 3 μm (mode=3,6 μm) και εμφανίζονται μεγαλύτερες σε σχέση με τις μικροκάψουλες του πειράματος ΑΛ13 (mode=2,65 μm). Με άλλα λόγια η απουσία του γαλακτωματοποιητή στην εσωτερική υδατική φάση, φάνηκε να οδηγεί σε αύξηση του μεγέθους των μικροσωματιδίων. Τα αποτελέσματα αυτά εμφανίζονται σύμφωνα με την βιβλιογραφία, όπου η μη χρησιμοποίηση PVA στη εξωτερική υδατική φάση έχει φανεί να οδηγεί σε μεγαλύτερο μέγεθος μικροσωματιδίων και σε αύξηση του δείκτη πολυδιασποράς [87].

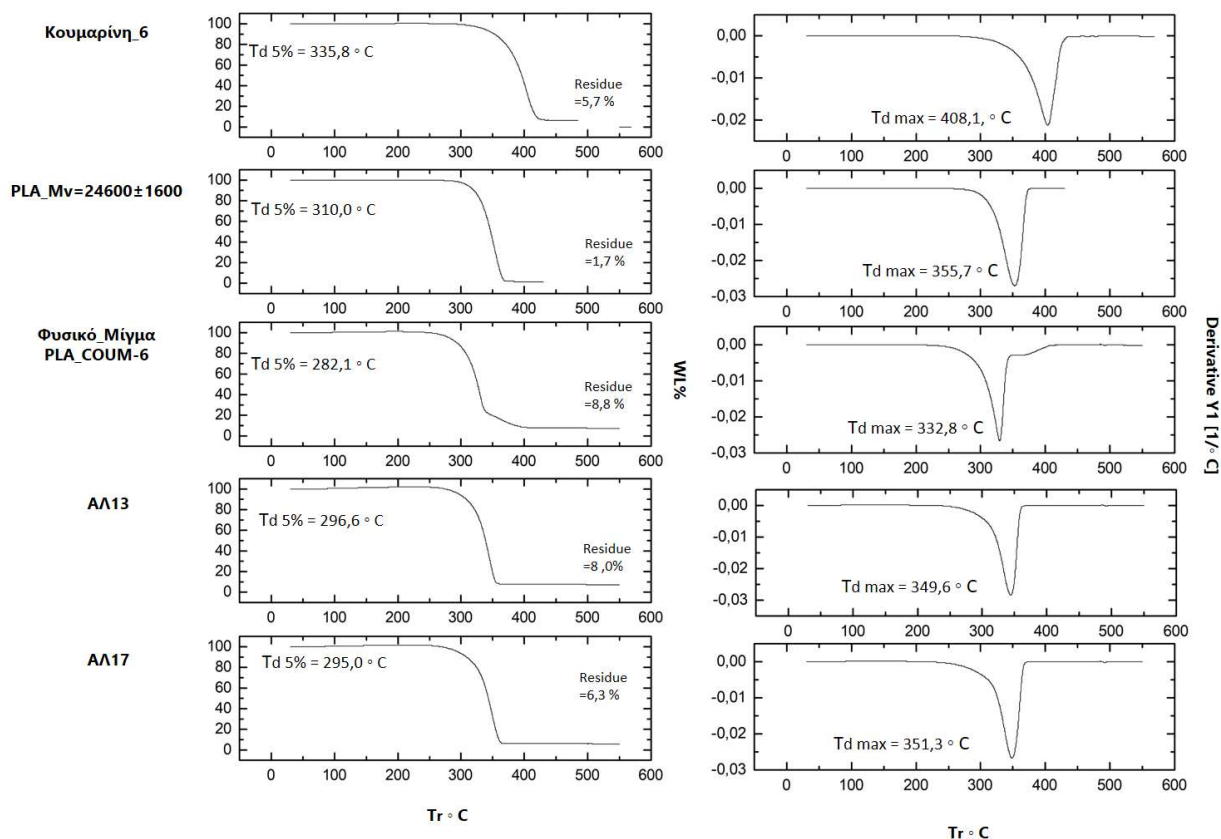
Πίνακας 7.17: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ17 και σύγκριση με του με το πείραμα ΑΛ13

Δείγμα	D[4,3] (μm)	D(v,0.1) (μm)	D(v,0.5) (μm)	D(v,0.9) (μm)
ΑΛ17	4,09	1,13	3,04	7,13
ΑΛ13	5,61	1,08	2,54	5,34



Σχήμα 7.10: Μέτρηση μεγέθους μικροκαψουλών ΑΛ17 από το mastersizer

Οι μικροκάψουλες ΑΛ17 υποβλήθηκαν σε θερμοσταθμική ανάλυση μάζας (TGA) και τα αποτελέσματα της ανάλυσης παρουσιάζονται στο σχήμα (7.11).



Σχήμα 7.11: Συγκριτική αναπαράσταση των γραφημάτων TGA της δραστικής ουσίας, του υδρολυμένου αρχικού PLA, του φυσικού μίγματος και των μικροκαψουλών AL13 και AL17

Από την παρατήρηση των γραφημάτων TGA των μικροκαψουλών AL17, καθίσταται φανερό ότι η θερμική αποικοδόμηση αυτών πραγματοποιείται σε ένα συνεχές στάδιο και όχι σε δύο χωριστά όπως έχει προαναφερθεί ότι θα αναμενόταν με βάση την βιβλιογραφία [78]. Οι μικροκάψουλες AL17 εμφάνισαν παρόμοια συμπεριφορά θερμικής διάσπασης με εκείνη των προηγούμενων πειραμάτων της κουμαρίνης-6, εμφανίζοντας αποικοδόμηση σε ένα σκαλοπάτι, και εμφανίζοντας μέγιστη θερμική αποικοδόμηση ($T_{d \max} = 351,3 \text{ }^\circ\text{C}$), ελάχιστα χαμηλότερη από την θερμική αποικοδόμηση του υδρολυμένου αρχικού PLA ($T_{d \max} = 355,7 \text{ }^\circ\text{C}$). Ωστόσο αξίζει να σημειωθεί πως η θερμική διάσπαση των μικροσωματιδίων του AL17, ξεκινάει αρκετά νωρίτερα ($T_{d 5\%} = 295,0 \text{ }^\circ\text{C}$) από εκείνη του αρχικού PLA ($T_{d 5\%} = 310 \text{ }^\circ\text{C}$), όπως ακριβώς συμβαίνει και στις μικροκάψουλες AL13 ($T_{d 5\%} = 296,6 \text{ }^\circ\text{C}$) και σε όλα τα προηγούμενα πειράματα των μικροκαψουλών με εγκλεισμένη κουμαρίνη-6.

Στην συνέχεια οι μικροκάψουλες AL17 υποβλήθηκαν σε διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC) (πίνακας (7.18)). Από τις μετρήσεις που λήφθηκαν, παρατηρείται και πάλι το φαινόμενο της μειωμένης κρυσταλλικότητας των μικροκαψουλών σε σχέση με την κρυσταλλικότητα του αρχικού πολυμερούς. Συγκεκριμένα οι μικροκάψουλες AL17, παρουσιάζονται να είναι άμορφες, εμφανίζοντας σημείο κρυστάλλωσης στους $80,8 \text{ }^\circ\text{C}$ και βαθμό κρυσταλλικότητας $30,8 \%$. Η κρυσταλλικότητα αυτή των μικροκαψουλών

ΑΛ17 παρατηρείται αρκετά ψηλότερη από εκείνη του πειράματος ΑΛ13. Όσον αφορά το σημείο τήξης, το πείραμα ΑΛ17, όπως ακριβώς και το πείραμα ΑΛ13, εμφανίζει θερμοκρασία τήξης λίγο χαμηλότερη (153,9 °C) από εκείνη του αρχικού υδρολυμένου PLA (159,1 °C), ενώ δεν εμφανίζεται δεύτερη ενδόθερμη κορυφή που να υποδεικνύει την τήξη της δραστικής ουσίας.

Πίνακας 7.18: Σημείο τήξης και κρυσταλλικότητα των μικροκαψουλών ΑΛ17

Πείραμα	T _{c1} (°C)	T _{m1} (°C)	T _{m2} (°C)	X _c %
PLA M _v =24600±1600	n.d.	159,1	n.d	47,3
Κουμαρίνη-6	n.d.	n.d	214,2	n.d.
Φυσικό Μίγμα PLA-κουμαρίνη-6	n.d.	148,5	194,7	n.d.
ΑΛ13	n.d.	153,7	n.d	19,7
ΑΛ17	80,8	153,9	n.d	30,8

Το πείραμα ΑΛ17, αποδείχτηκε ένα καλό πείραμα που οδήγησε στην παραγωγή μικροκαψουλών επιθυμητής μορφολογίας, μεγέθους παρόμοιου με εκείνου του πειράματος ΑΛ13, και υψηλής τιμής άμεσης απόδοσης εγκλεισμού. Συγκεκριμένα, το πείραμα ΑΛ17 αποτέλεσε το μόνο από τα πειράματα της κουμαρίνης-6 με την χαμηλότερη συγκέντρωση, που παρουσίασε υψηλή τιμή απόδοσης εγκλεισμού (78± 9%). Η απουσία του PVA στην εσωτερική φάση επομένως, φάνηκε να βελτιώνει τα χαρακτηριστικά των παραγόμενων μικροκαψουλών.

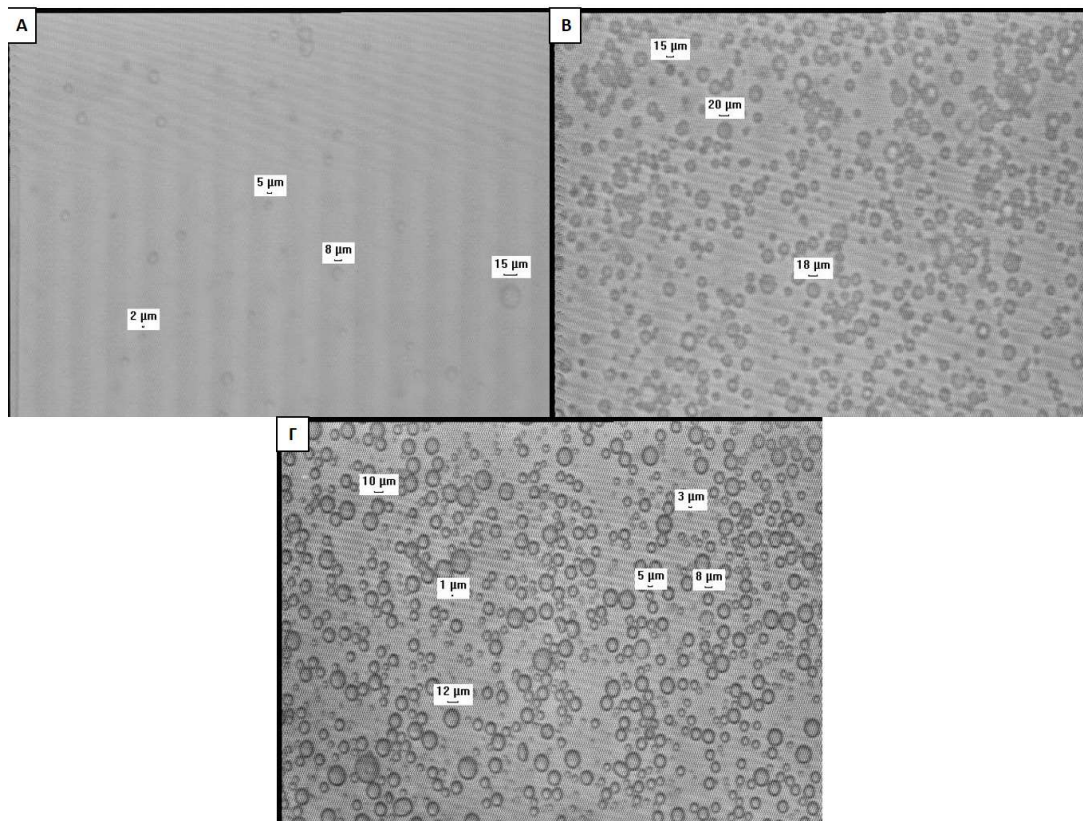
7.2.5. Εφαρμογή των βέλτιστων παραμέτρων

Έχοντας ολοκληρώσει την μελέτη της επίδρασης των διάφορων παραμέτρων στις τελικές ιδιότητες των παραγόμενων μικροκαψουλών, προέκυψε ότι το πείραμα ΑΛ10 που παρασκευάστηκε με την υψηλότερη συγκέντρωση της κουμαρίνης-6 (0,007 g/ml) καθώς και το πείραμα ΑΛ17, το οποίο παρασκευάστηκε με την χαμηλότερη συγκέντρωση (0,001 g/ml) και χωρίς την χρήση σταθεροποιητή στην εσωτερική υδατική φάση, παρουσίασαν τα καλύτερα χαρακτηριστικά. Και τα δύο αυτά πειράματα, οδήγησαν στον σχηματισμό μικροκαψουλών καλής μορφολογίας και υψηλής τιμής άμεσης απόδοσης εγκλεισμού (88± 2 % και 78± 9% αντίστοιχα). Για τον σκοπό αυτό αποφασίστηκε να πραγματοποιηθεί το πείραμα ΑΛ18, το οποίο δημιουργήθηκε με την υψηλότερη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας και χωρίς την χρήση PVA στην εσωτερική υδατική φάση. Το ΑΛ18, μαζί με τα πειράματα ΑΛ10 και ΑΛ17 για λόγους σύγκρισης των αποτελεσμάτων, παρουσιάζονται στον πίνακα (7.19):

Πίνακας 7.19: Πείραμα ΑΛ18-εφαρμογή των βέλτιστων παραμέτρων που παρατηρήθηκαν για την παρασκευή των μικροκαψουλών

Πείραμα	IWP	C Κουμαρίνης-6 (g/ml)	Μουσίας / Μπολυμερούς %	Μαζική απόδοση %	Άμεση Απόδοση Εγκλεισμού %
ΑΛ10-С6	Υδατικό διάλυμα PVA 1%	0,007	0,8	91	87,7± 1,5 %
ΑΛ17-С6	Απιονισμένο νερό	0,001	0,1	84	76,7± 9,3%
ΑΛ18-С6	Απιονισμένο νερό	0,007	0,8	84	83,5± 9,0%

Το πείραμα ΑΛ18 υποβλήθηκε σε οπτική μικροσκοπία και οι εικόνες που λήφθηκαν παρουσιάζονται παρακάτω (εικόνα (7.11)). Μαζί παρατίθενται και εκείνες των πειραμάτων ΑΛ10 και ΑΛ17 από το οπτικό μικροσκόπιο έτσι ώστε να είναι δυνατή η σύγκριση της μορφολογίας των σχηματιζόμενων μικροσωματιδίων. Στην εικόνα του πειράματος ΑΛ18 (εικόνα (7.11) Γ) φαίνεται ο σχηματισμός μικροκαψουλών χωρίς την εμφάνιση συσσωματωμάτων. Το μέγεθος των μικροκαψουλών ΑΛ18 υπολογίζεται γύρω στα 3-5 μm και παρουσιάζεται μεγαλύτερο από εκείνο των μικροκαψουλών ΑΛ10 και ΑΛ17 ενώ φαίνεται να εμφανίζει και μεγαλύτερη ανομοιομορφία. Αξίζει και πάλι να αναφερθεί ότι η εικόνα που λήφθηκε για το πείραμα ΑΛ17 (εικόνα (7.12) Α), εμφανίζεται λιγότερο καθαρή από εκείνες των ΑΛ10 και ΑΛ18, εξαιτίας αραιότερης διασποράς που παρασκευάστηκε στο ΑΛ17 προκειμένου αυτό να εξεταστεί στο οπτικό μικροσκόπιο.

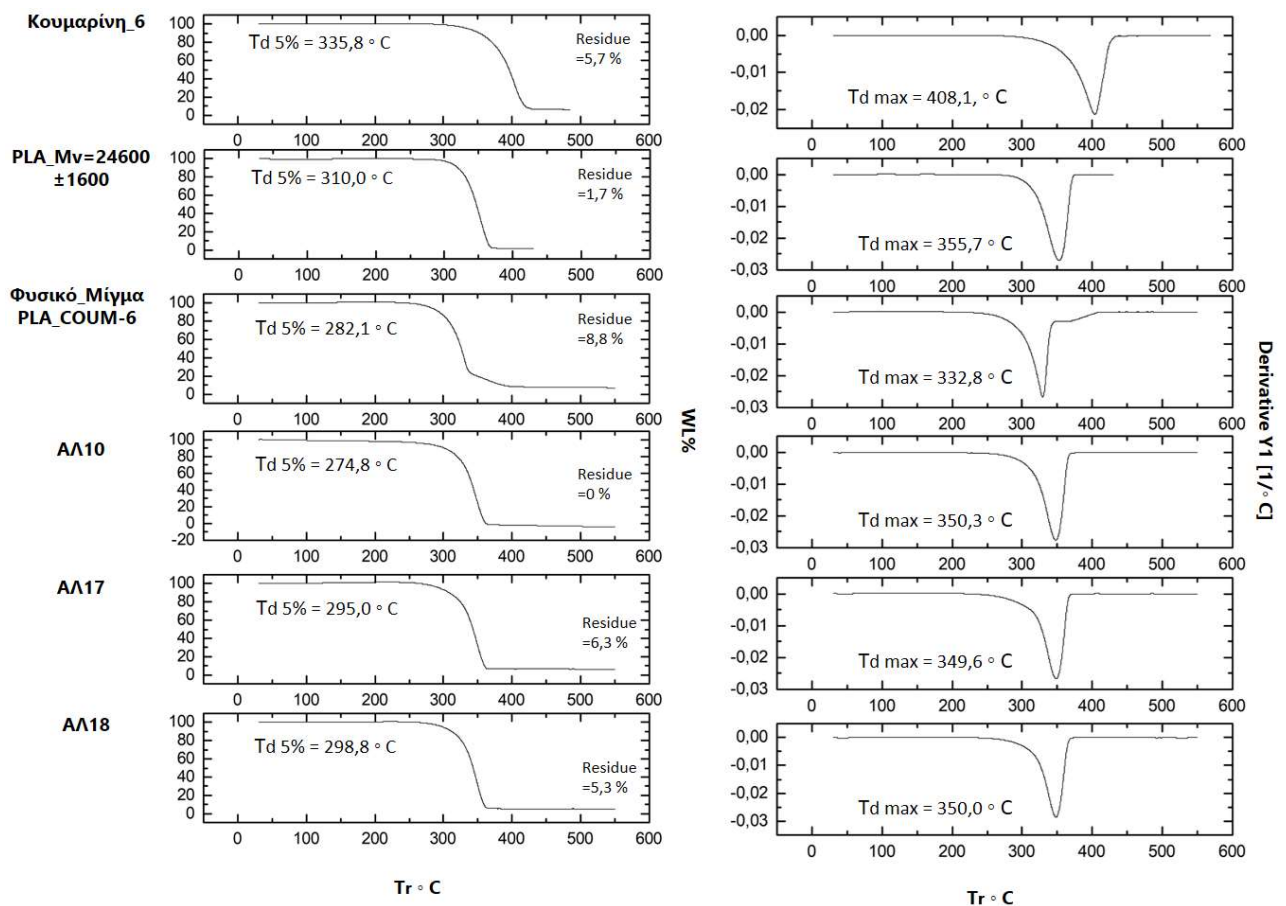


Εικόνα 7.11: Α) Μικροκάψουλες ΑΛ17 στο οπτικό μικροσκόπιο, Β) Μικροκάψουλες ΑΛ10 στο οπτικό μικροσκόπιο, Γ) Μικροκάψουλες ΑΛ18 στο οπτικό μικροσκόπιο

Κατόπιν, υπολογίστηκε η άμεση απόδοση εγκλεισμού των μικροκαψουλών ΑΛ18, και η τιμή της προσδιορίστηκε σε $83,5 \pm 9,0\%$. Η τιμή αυτή εμφανίστηκε υψηλότερη από την τιμή της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού του πειράματος ΑΛ17 $76,7 \pm 9,3\%$. Αυτό οφείλεται στο ότι το πείραμα ΑΛ18 παρασκευάστηκε με την υψηλότερη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας, και για να επιτευχθεί αυτό, στις μικροκάψουλες ΑΛ18 χρησιμοποιήθηκε μεγαλύτερη ποσότητα κουμαρίνης-6 σε σχέση με εκείνη που χρησιμοποιήθηκε στις μικροκάψουλες ΑΛ17. Η αύξηση της ουσίας, σύμφωνα με την βιβλιογραφία, ανεβάζει την τιμή της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού [47]. Ωστόσο η απόδοση εγκλεισμού που εμφάνισαν οι μικροκάψουλες ΑΛ18 παρουσιάζεται χαμηλότερη από εκείνη των μικροκαψουλών ΑΛ10 ($87,7 \pm 1,5\%$). Το αποτέλεσμα αυτό έρχεται σε αντίθεση με τα πειράματα που είχαν πραγματοποιηθεί στην χαμηλότερη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας (ΑΛ13 και ΑΛ17), όπου η αφαίρεση του PVA από την εσωτερική υδατική φάση είχε φανεί ότι οδηγεί σε σημαντική άνοδο της απόδοσης εγκλεισμού. Συμπεραίνεται λοιπόν, ότι η απουσία του σταθεροποιητή στην εσωτερική υδατική φάση, δεν φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά την απόδοση εγκλεισμού όταν χρησιμοποιείται υψηλότερη συγκέντρωση του εγκλεισμένου παράγοντα. Στην χαμηλότερη συγκέντρωση, η αύξηση της απόδοσης εγκλεισμού απουσίας του PVA στην εσωτερική υδατική φάση, αποδόθηκε στο μεγαλύτερο μέγεθος των σταγονιδίων του νερού στο πρωταρχικό γαλάκτωμα που οδηγεί σε μικρότερη συνολική διεπιφάνεια

ανάμεσα στην εσωτερική υδατική φάση και την οργανική μειώνοντας τα φαινόμενα μεταφοράς. Κατά αυτόν τον τρόπο έγινε η υπόθεση ότι μειώθηκαν και οι απώλειες της δραστικής ουσίας προς την εξωτερική υδατική φάση [88]. Ωστόσο όταν αυξάνεται η ποσότητα της δραστικής ουσίας που χρησιμοποιείται για εγκλεισμό, οι απώλειες αυτές προς την εξωτερική υδατική φάση εξαιτίας των φαινομένων μεταφοράς μπορεί να έχουν μικρότερη επίδραση στην τελική τιμή της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού και για τον λόγο αυτό ίσως, στο πείραμα ΑΛ18 που χρησιμοποιήθηκε η υψηλότερη συγκέντρωση, η αφαίρεση του PVA από την εσωτερική υδατική φάση δεν φάνηκε να οδηγεί σε περεταίρω αύξηση της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού σε σχέση με το πείραμα ΑΛ10.

Οι μικροκάψουλες ΑΛ18, υποβλήθηκαν στην συνέχεια σε θερμοσταθμική ανάλυση μάζας (TGA), και τα γραφήματα που λήφθηκαν από την ανάλυση παρουσιάζονται στο σχήμα (7.12):



Σχήμα 7.12: Συγκριτική αναπαράσταση των γραφημάτων TGA της δραστικής ουσίας, του υδρολυμένου αρχικού PLA, του φυσικού μίγματος και των μικροκαψουλών ΑΛ10, ΑΛ17 και ΑΛ18

Από τα γραφήματα αυτά, η θερμική αποικοδόμηση των μικροκαψουλών ΑΛ18 φαίνεται να πραγματοποιείται σε ένα ενιαίο στάδιο ($T_{d \max} = 350,0 \text{ }^\circ\text{C}$), παρόμοιο με εκείνο της θερμικής διάσπασης των μικροκαψουλών ΑΛ10 ($T_{d \max} = 350,3 \text{ }^\circ\text{C}$) και ΑΛ17 ($T_{d \max} = 349,6 \text{ }^\circ\text{C}$) και αρκετά παρόμοιο και με την θερμική διάσπαση του αρχικού υδρολυμένου PLA ($T_{d \max} = 355,7 \text{ }^\circ\text{C}$). Όπως συνέβη και στα προηγούμενα πειράματα μικροκαψουλών της κουμαρίνης-6, που παρασκευάστηκαν με την πειραματική διαδικασία Β, η θερμική αποικοδόμηση της δραστικής ουσίας δεν μπορεί να διακριθεί στα γραφήματα TGA εξαιτίας του πολύ μικρού λόγου $M_{\text{ουσία}}/M_{\text{πολυμερούς}}$ ($\text{drug load}=0,8 \text{ } \%$) που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των μικροκαψουλών. Ωστόσο και οι μικροκάψουλες ΑΛ18, όπως παρατηρήθηκε και στα πειράματα ΑΛ10 και ΑΛ17, εμφανίζουν έναρξη της θερμικής αποικοδόμησης ($T_{d \ 5\%} = 298,8 \text{ }^\circ\text{C}$) αρκετά νωρίτερα σε σχέση με την έναρξη της θερμικής διάσπασης του αρχικού υδρολυμένου πολυμερούς ($T_{d \ 5\%} = 310,0 \text{ }^\circ\text{C}$).

Οι μικροκάψουλες ΑΛ18, υποβλήθηκαν επιπλέον σε διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC) και τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρατίθενται στον πίνακα (7.20).

Πίνακας 7.20: Σημείο τήξης και κρυσταλλικότητα μικροκαψουλών ΑΛ18

Πείραμα	T _{c1} (°C)	T _{m1} (°C)	T _{m2} (°C)	X _c %
PLA M _n =24600±1600	n.d.	159,1	n.d	47,3
Κουμαρίνη-6	n.d.	n.d	214,2	n.d.
Φυσικό Μίγμα PLA-κουμαρίνη-6	n.d.	148,5	194,7	n.d.
ΑΛ10	89,0	155,3	n.d.	12,8
ΑΛ17	80,8	153,9	n.d	30,8
ΑΛ18	98,4	154,1	n.d	0

Από τα αποτελέσματα της ανάλυσης DSC, οι μικροκάψουλες ΑΛ18 εμφανίζονται να είναι άμορφες σε αντίθεση με τις μικροκάψουλες των προηγούμενων πειραμάτων. Όσον αφορά το σημείο τήξης, για τις μικροκάψουλες ΑΛ18, αυτό φαίνεται να παρουσιάζεται πολύ κοντά στο σημείο τήξης των μικροκαψουλών ΑΛ17 και ΑΛ10. Ακόμα, από τα αποτελέσματα του πίνακα, δεν παρατηρείται η εμφάνιση δεύτερης ενδόθερμης κορυφής που να υποδεικνύει την τήξη της δραστικής ουσίας, όπως ακριβώς παρατηρήθηκε να συμβαίνει και κατά την DSC ανάλυση των μικροκαψουλών ΑΛ10 και ΑΛ17.

Τέλος, για τις μικροκάψουλες ΑΛ18, υπολογίστηκε το μέσο κατά ιξώδες μοριακό βάρος (M_v) του πολυμερικού κελύφους και η τιμή που προσδιορίστηκε παρουσιάζεται στον πίνακα (7.21), μαζί με το μέσο κατά ιξώδες μοριακό βάρος του αρχικού υδρολυμένου PLA. Από την σύγκριση των δύο τιμών, προκύπτει ότι ο σχηματισμός των μικροκαψουλών οδήγησε σε μικρή μείωση του μοριακού βάρους του πολυμερούς (από 24600±1600 σε 17800). Το φαινόμενο αυτό της μείωσης του μοριακού βάρους του πολυμερικού κελύφους είχε παρατηρηθεί και στα πειράματα των μικροκαψουλών ΑΛ13 και ΑΛ16.

Πίνακας 7.21: Μοριακό βάρος μικροκαψουλών ΑΛ18

Δείγμα	Μέσο κατά ιξώδες μοριακό βάρος (M _v) (g/mol)
PLA (172 h υδρόλυσης)	24600±1600
Μικροκάψουλες ΑΛ18	17800±n.d.

Ολοκληρώνοντας τα πειράματα εγκλεισμού της κουμαρίνης-6 σε μικροκάψουλες πολυ(γαλακτικού οξέος), προέκυψαν τα εξής βασικά συμπεράσματα: α) το PVA με βαθμό υδρόλυσης 87-90% και μοριακό βάρος 30000-70000 αποδείχτηκε ως κατάλληλος σταθεροποιητής για την παρασκευή των μικροκαψουλών, οδηγώντας σε μικροκάψουλες σφαιρικής μορφολογίας, μικρού μεγέθους, μικρού δείκτη πολυδιασποράς και υψηλής άμεσης απόδοσης εγκλεισμού, β) η αύξηση της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας οδήγησε σε σημαντική αύξηση της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού γ) η μη χρησιμοποίηση PVA στην εσωτερική υδατική φάση οδήγησε σε σημαντική αύξηση της απόδοσης εγκλεισμού στα πειράματα όπου χρησιμοποιήθηκε η χαμηλότερη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας, ενώ στα πειράματα που χρησιμοποιήθηκε η υψηλότερη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας δεν φάνηκε να έχει σημαντική επίδραση στην απόδοση εγκλεισμού.

Κεφάλαιο 8: Μεταπολυμερισμός στερεάς κατάστασης: αποτελέσματα-συζήτηση

Στο κεφάλαιο αυτό, μελετάται η διεργασία του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης (SSP), σαν μία τεχνική για την αναβάθμιση των ιδιοτήτων (κρυσταλλικότητα, μοριακό βάρος, θερμικές ιδιότητες) του πολυμερούς των μικροκάψουλών. Αρχικά παρασκευάζονται οι αντίστοιχες κενές μικροκάψουλες του πειράματος ΑΛ18 που επιλέχθηκε για να υποβληθεί στην διεργασία του SSP, και μελετάται σε αυτές το στάδιο της προκρυστάλλωσης. Στην συνέχεια παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης, στις μικροκάψουλες με εγκλεισμένη κουμαρίνη-6 που υποβλήθηκαν στην διεργασία αυτή. Τέλος πραγματοποιείται μελέτη του χρόνου αποδέσμευσης της εγκλεισμένης δραστικής ουσίας από τα μικροσωματίδια, πριν και μετά την διεργασία του SSP.

8.1. Κενές μικροκάψουλες

8.1.1. Παρασκευή κενών μικροκάψουλών

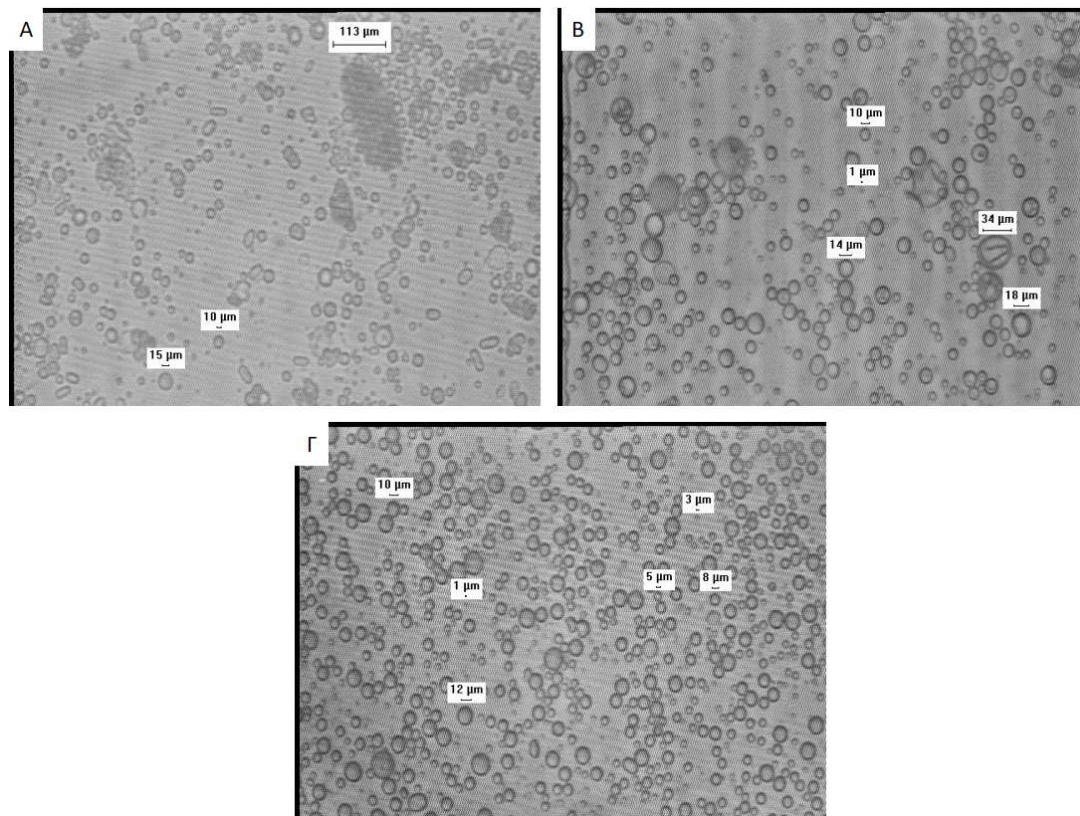
Οι μικροκάψουλες ΑΛ18, επιλέχθηκαν να χρησιμοποιηθούν ως δείγματα με εγκλεισμένη δραστική ουσία, προκειμένου να μελετηθεί η διεργασία του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης σαν μία τεχνική για την αναβάθμιση πολυμερικών συστημάτων εγκλεισμού. Το πείραμα αυτό επιλέχθηκε λόγω των καλών ιδιοτήτων που παρουσίασαν οι μικροκάψουλες του (καλή μορφολογία και υψηλή τιμή άμεσης απόδοσης εγκλεισμού) καθώς και λόγω του ότι παρασκευάστηκε με την υψηλότερη συγκέντρωση της κουμαρίνης-6 (μεγαλύτερη ποσότητα κουμαρίνης-6). Υπενθυμίζεται ότι στην χαμηλότερη συγκέντρωση, η ποσότητα της κουμαρίνης-6 που χρησιμοποιήθηκε για εγκλεισμό ήταν πολύ μικρή, μόλις 1 mg, γεγονός που θα δημιουργούσε προβλήματα ανιχνευσιμότητας της ουσίας με το φασματόμετρο UV-Vis, στην μελέτη του ρυθμού αποδέσμευσής της, πριν και μετά την διεργασία του μεταπολυμερισμού.

Για το πείραμα ΑΛ18, παρασκευάστηκε το πείραμα ΑΛ19, το οποίο αποτελεί τις αντίστοιχες κενές μικροκάψουλες καθώς και μία επανάληψη αυτού, το πείραμα ΑΛ20.

Πίνακας 8.1: Πειράματα ΑΛ19, ΑΛ20-κενές μικροκάψουλες πειράματος ΑΛ18

Πείραμα	C κουμαρίνης-6 (g/ml)	Μαζική απόδοση%	Άμεση Απόδοση Εγκλεισμού %
ΑΛ18-C6	0,007	84	83± 10%
ΑΛ19 (κενές κάψουλες)	-	90	-
ΑΛ20 (κενές κάψουλες)	-	77	-

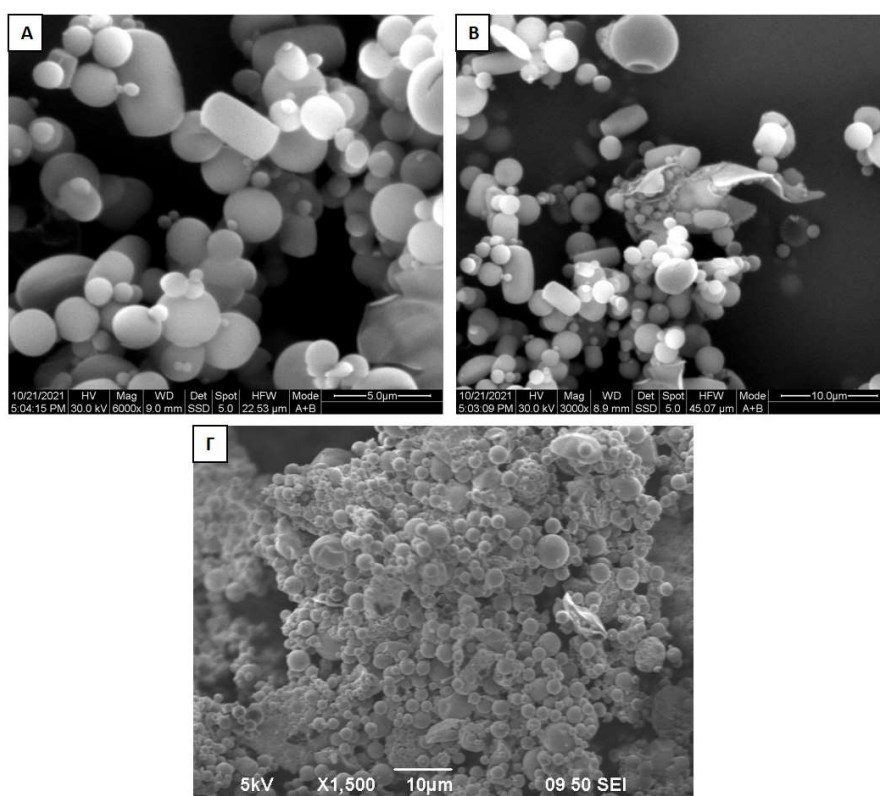
Η μορφολογία των κενών μικροκάψουλων ΑΛ19, ΑΛ20 παρατηρήθηκε με το οπτικό μικροσκόπιο και οι εικόνες που λήφθηκαν παρουσιάζονται παρακάτω (εικόνα (8.1)), μαζί με τις αντίστοιχες εικόνες του πειράματος ΑΛ18 με την εγκλεισμένη κουμαρίνη-6. Στις εικόνες των πειραμάτων ΑΛ19 (εικόνα (8.1 Α)) και ΑΛ20 (εικόνα (8.1 Β)), παρατηρείται ο σχηματισμός μικροκάψουλων, οι οποίες ωστόσο δεν εμφανίζουν καθαρά σφαιρικό σχήμα ενώ εντοπίζονται και αρκετά συσσωματώματα. Οι κενές μικροκάψουλες ΑΛ19 και ΑΛ20, παρουσιάζουν ακόμα ανομοιομορφία ως προς το μέγεθος των μικροσωματιδίων τους, παρόμοια ωστόσο με εκείνη που εμφανίζουν και οι μικροκάψουλες ΑΛ18. Από την οπτική μικροσκοπία, το μέγεθος των μικροκάψουλων ΑΛ19 εκτιμήθηκε στα 3-5 μm , ενώ το μέγεθος των μικροκάψουλων ΑΛ20 εκτιμήθηκε λίγο μεγαλύτερο, γύρω στα 4-6 μm .



Εικόνα 8.1: Α) Μικροκάψουλες ΑΛ19 στο οπτικό μικροσκόπιο, Β) Μικροκάψουλες ΑΛ20 στο οπτικό μικροσκόπιο, Γ) Μικροκάψουλες ΑΛ18 στο οπτικό μικροσκόπιο

Οι κενές μικροκάψουλες ΑΛ19 εξετάστηκαν επίσης με ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) και οι εικόνες που λήφθηκαν παρουσιάζονται στην συνέχεια (εικόνα (8.2 Α και Β)). Μαζί παρατίθεται και η εικόνα από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM για το πείραμα ΑΛ10 που διαθέτει εγκλεισμένη την κουμαρίνη (εικόνα (8.2 Γ)), για συγκριτικούς λόγους. Από την παρατήρηση των εικόνων, συμπεραίνεται ότι τόσο οι

κενές μικροκάψουλες ΑΛ19 όσο και οι μικροκάψουλες ΑΛ10 με εγκλεισμένη κουμαρίνη, παρουσιάζουν περίπου ίδιο μέγεθος, γύρω στα 3-5 μm . Ωστόσο οι κενές μικροκάψουλες παρουσιάζονται να έχουν χάσει το καθαρά σφαιρικό τους σχήμα και εμφανίζουν κυλινδρικές μορφές. Το γεγονός οφείλεται στην απουσία της δραστικής ουσίας από αυτές. Η παρουσία της δραστικής ουσίας στο εσωτερικό των μικροκαψουλών βοηθάει στο σχηματισμό καλύτερου πυρήνα με αποτέλεσμα οι μικροκάψουλες με εγκλεισμένη δραστική ουσία να εμφανίζουν πιο σφαιρικό σχήμα. Σημειώνεται ακόμα ότι η διαφορά στην ευκρίνεια που παρουσιάζουν οι εικόνες (8.2) Α και Β σε σχέση με την Γ, οφείλεται στο ότι οι μετρήσεις για τα δύο πειράματα ΑΛ19 και ΑΛ10, έχουν ληφθεί από διαφορετικά όργανα SEM.



Εικόνα 8.2: Α) Πείραμα ΑΛ19 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 5 μm (SEM), Β) Πείραμα ΑΛ19 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 10 μm , Γ) Πείραμα ΑΛ10 στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) στα 10 μm

Οι θερμικές ιδιότητες των κενών μικροκαψουλών ΑΛ19 και ΑΛ20, προσδιορίστηκαν με DSC και TGA ανάλυση και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται παρακάτω. Από τον πίνακα (8.2) μπορεί να παρατηρηθεί ότι οι κενές μικροκάψουλες ΑΛ19 και ΑΛ20, εμφανίζονται να είναι άμορφες με πολύ μικρή κρυσταλλικότητα (8,8% και 1% αντίστοιχα), αρκετά χαμηλότερη σε σχέση με εκείνη του αρχικού υδρολυμένου πολυμερούς (47,5%). Η μείωση αυτή της κρυσταλλικότητας ανάμεσα στην πούδρα και

στις παραγόμενες μικροκάψουλες αποδίδεται στο τρόπο παραγωγής των τελευταίων. Επιπλέον παρατηρείται μία μικρή μείωση του σημείου τήξης στις κενές μικροκάψουλες σε σχέση με το σημείο τήξης του υδρολυμένου αρχικού PLA. Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν και στην ερευνητική εργασία της Κ. Chronaki [85], όπου κατά την παραγωγή μικροκαψουλών πολύ(γαλακτικού οξέος), τα μικροσωματίδια εμφάνισαν αρκετά χαμηλότερη κρυσταλλικότητα σε σχέση με το αρχικό πολυμερές και μικρή μείωση του σημείου τήξης. Αξίζει να σημειωθεί ότι η μικρή αυτή μείωση του σημείου τήξης παρατηρήθηκε και στις μικροκάψουλες με την εγκλεισμένη κουμαρίνη-6.

Πίνακας 8.2: Θερμικές ιδιότητες των κενών μικροκαψουλών ΑΛ19 και ΑΛ20

Πείραμα	T _c (°C)	T _m (°C)	X _c %	T _{d 5%} (°C)	T _{d max} (°C)	Υπόλειμμα%
PLA M _v =24600±1600	n.d.	159,0	47,5	310,0	355,7	1,7
ΑΛ19	88,6	154,8	8,8	270,2	348,9	1,2
ΑΛ20	94,0	154,5	1,0	301,5	349,0	0,0

Όσον αφορά στην θερμική αποικοδόμηση των μικροκαψουλών ΑΛ19 και ΑΛ20, από τον πίνακα (8.2) παρατηρούνται τα εξής: Η θερμική αποικοδόμηση των μικροκαψουλών (T_{d 5%}=270,2 °C και 301,5 °C αντίστοιχα) φαίνεται να ξεκινάει σε χαμηλότερη θερμοκρασία σε σχέση με την αποικοδόμηση του πρωταρχικού πολυμερούς (T_{d 5%}=310,0 °C), ενώ σε χαμηλότερη θερμοκρασία παρατηρείται και η μέγιστη θερμική διάσπαση των μικροσωματιδίων (T_{d max}=348,9 °C και 349,0 °C αντίστοιχα) σε σχέση με εκείνη του υδρολυμένου αρχικού PLA (T_{d max}=355,7 °C). Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, οι ιδιότητες των πολυμερικών υλικών που σχετίζονται με επιφανειακές επιδράσεις και με το πόσο περιορισμένες είναι οι μακροαλυσίδες ή πόση κινητικότητα αυτές παρουσιάζουν, έχει βρεθεί ότι εμφανίζονται αρκετά διαφορετικές στο πρωταρχικό πολυμερές και στα παραγόμενα από αυτό μικρο και νανοσωματίδια [85]. Το φαινόμενο της έναρξης της θερμικής διάσπασης σε χαμηλότερες θερμοκρασίες παρατηρήθηκε και στις μικροκάψουλες με την εγκλεισμένη κουμαρίνη.

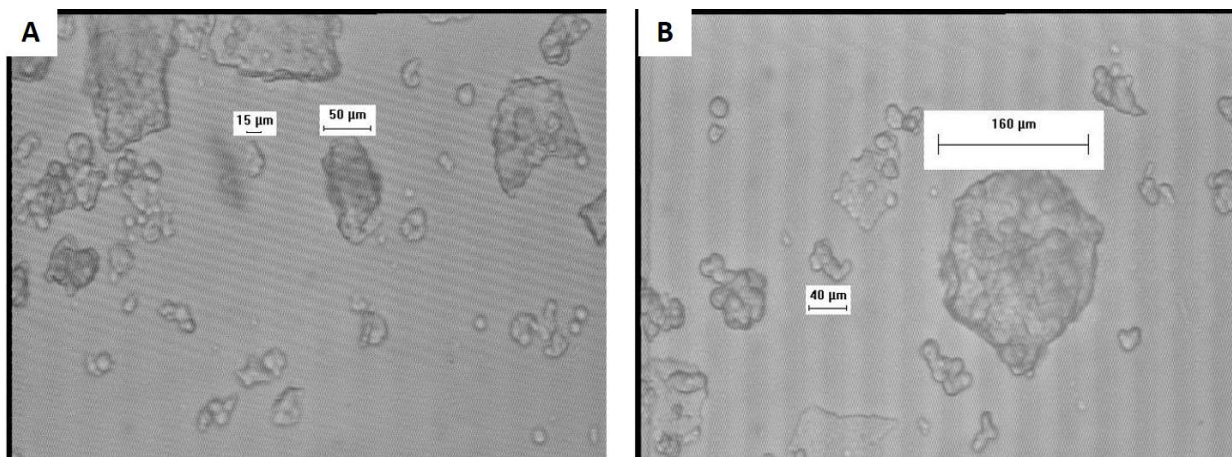
8.1.2. Προκρυστάλλωση κενών μικροκαψουλών

Προκειμένου να αποφευχθεί η συσσωμάτωση κατά τον πολυμερισμό στερεάς κατάστασης, κρίθηκε αναγκαία η προσθήκη ενός σταδίου προκρυστάλλωσης, ώστε να αυξηθεί η τιμή της κρυσταλλικότητας ή/και του σημείου τήξεως, δηλαδή να βελτιωθούν οι θερμικές ιδιότητες του υλικού, γεγονός που συμβάλλει θετικά και στο πολυμερισμό. Σημειώνεται πως μετέπειτα, στην εφαρμογή της διεργασίας του SSP σε μικροκάψουλες με εγκλεισμένη κουμαρίνη, δεν πραγματοποιήθηκαν πειράματα μεταπολυμερισμού

στερεάς κατάστασης χωρίς βήμα προκρυστάλλωσης διότι βιβλιογραφικά και σε παλαιότερες μελέτες του Εργαστηρίου δεν υπήρξε απόπειρα χωρίς βήμα προκρυστάλλωσης που να μην παρατηρήθηκε συσσωμάτωση του υλικού [85].

Το στάδιο της προκρυστάλλωσης μελετήθηκε στις κενές μικροκάψουλες ΑΛ19 και ΑΛ20. Κατά κανόνα η προκρυστάλλωση πραγματοποιείται κοντά στη μέγιστη θερμοκρασία κρυστάλλωσης, θερμοκρασία στην οποία το πολυμερές εμφανίζει μέγιστο ρυθμό κρυστάλλωσης. Για το πολυ(γαλακτικό οξύ) σε πολλές μελέτες η θερμοκρασία προκρυστάλλωσης που χρησιμοποιήθηκε κυμαινόταν ανάμεσα στους 100 °C και στους 115 °C [89],[90]. Σε προηγούμενη μελέτη της ισόθερμης κρυστάλλωσης νανοσύνθετων με πολυ(γαλακτικό οξύ) από τους 85 μέχρι του 115 °C, ως βέλτιστη ισόθερμη κρυστάλλωση βρέθηκε αυτή των 100 °C [90]. Επίσης σε προηγούμενη έρευνα του εργαστηρίου για τον πολυμερισμό στερεάς κατάστασης σε μικροκάψουλες πολυ(γαλακτικού οξέος) έγινε προκρυστάλλωση στους 100 °C.

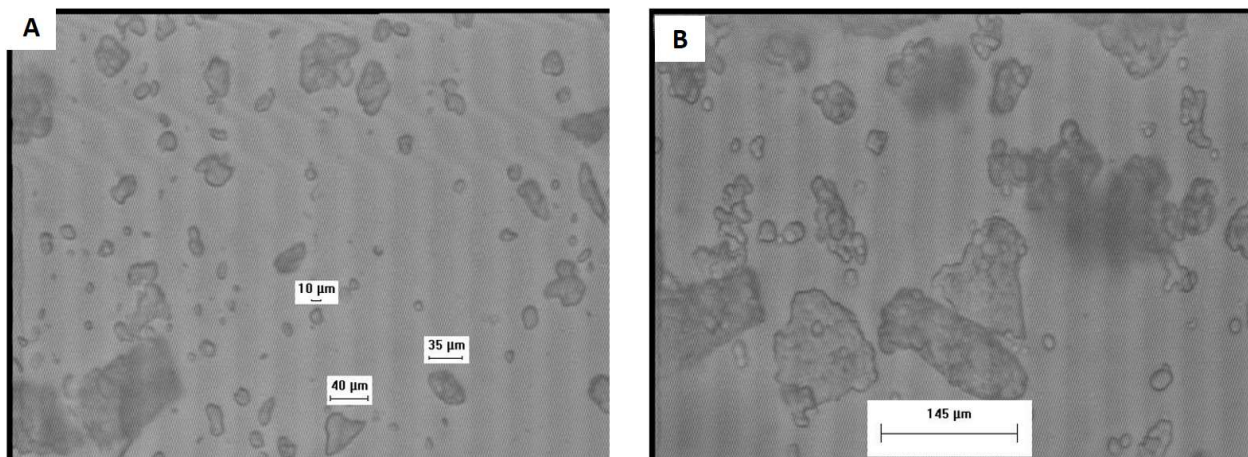
Με βάση τα δεδομένα αυτά, οι δύο πρώτες δοκιμές πραγματοποιήθηκαν στους 100 °C για διάρκεια 1 h και με ροή φέροντος αερίου 0,5 L/min και 1 L/min. Ωστόσο, μετά το τέλος της διεργασίας και κατά την εξέταση των δειγμάτων με το οπτικό μικροσκόπιο, παρατηρήθηκε η εμφάνιση μεγάλων συσσωματωμάτων και στις δύο αυτές περιπτώσεις (εικόνα 8.3).



Εικόνα 8.3 : Α) Προκρυστάλλωση ΑΛ19 στους 100 οC με ροή αζώτου 1L/min, Β) Προκρυστάλλωση ΑΛ19 στους 100 οC με ροή αζώτου 0,5 L/min

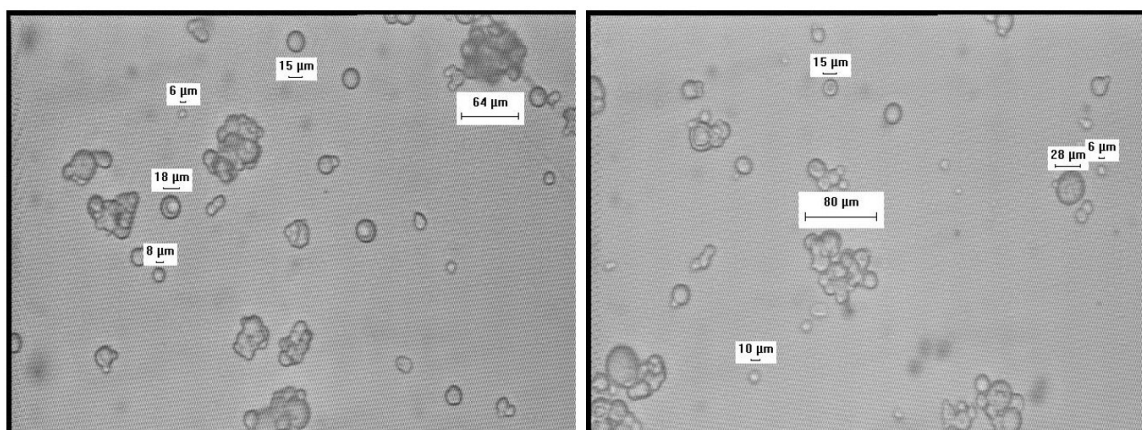
Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκαν δύο δοκιμές στους 95 °C, για διάρκεια 1 h και με ροή φέροντος αερίου 0,5 L/min και 1 L/min. Μία τέτοια μείωση της θερμοκρασίας βιβλιογραφικά αναμένεται συνήθως να αποτρέψει την συσσωμάτωση του υλικού. Ακόμα μία χαμηλότερη θερμοκρασία κρυστάλλωσης οδηγεί σε καλύτερο έλεγχο της κρυστάλλωσης του υλικού, στην δημιουργία μικρότερων κρυσταλλιτών καθώς και σε

αραιότερο στείβαγμα των κρυστάλλων που μπορεί να είναι ευνοϊκό για την κινητικότητα των ακραίων ομάδων. Επίσης είναι δυσκολότερο να παγιδευτούν ακραίες ομάδες λόγω ταχείας ανάπτυξης του κρυστάλλου με αποτέλεσμα να υπάρχουν περισσότερες ακραίες ομάδες στις άμορφες περιοχές του υλικού ενώ προωθείται και η διάχυση του νερού, που είναι παραπροϊόν της αντίδρασης [91]. Ωστόσο και σε αυτήν την περίπτωση κατά την παρατήρηση των εικόνων της οπτικής μικροσκοπίας, παρατηρήθηκε συσσωμάτωση (εικόνα (8.4)). Θα μπορούσε να σχολιαστεί παρόλα αυτά, ότι τόσο στις δοκιμές αυτές όσο και στις δύο προηγούμενες, η αύξηση της ροής αζώτου στο 1 L/min φάνηκε να οδηγεί σε συσσωματώματα μικρότερου μεγέθους. Με άλλα λόγια η μεγαλύτερη ροή φάνηκε να συμβάλει θετικά στην προκρυστάλλωση και αυτό αποδόθηκε στην καλύτερη μεταφορά θερμότητας.



Εικόνα 8.4: Α) Προκρυστάλλωση ΑΛ19 στους 95 οC με ροή αζώτου 1 L/min, Β) Προκρυστάλλωση ΑΛ19 στους 95 οC με ροή αζώτου 0,5 L/min

Λαμβάνοντας υπόψιν τις δύο προηγούμενες αποτυχημένες δοκιμές, και παρατηρώντας από τα αποτελέσματα της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC) για τις κενές μικροκάψουλες ΑΛ19, ΑΛ20, ότι η κρυστάλλωση τους ξεκινάει κοντά στους 83 °C, αποφασίστηκε η πραγματοποίηση μίας δοκιμής στους 84 °C, διάρκειας 1 h και με ροή φέροντος αερίου 1 L/min. Μετά την ολοκλήρωση της προκρυστάλλωσης το δείγμα εξετάστηκε και πάλι με οπτική μικροσκοπία. Μελετώντας τις εικόνες του δείγματος, που λήφθηκαν από το οπτικό μικροσκόπιο (εικόνα (8.5)), συμπεραίνεται ότι και σε αυτήν την περίπτωση εμφανίστηκαν συσσωματώματα, ωστόσο μικρότερου μεγέθους ενώ στις εικόνες εμφανίζονται και αρκετές μικροκάψουλες που έχουν διατηρήσει την αρχική τους μορφή. Το τελευταίο αυτό πείραμα φάνηκε να αποτελεί την πιο πετυχημένη προσπάθεια. Οι δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν για το στάδιο της προκρυστάλλωσης, παρουσιάζονται συνοπτικά στον πίνακα (8.3).



Εικόνα 8.5: Προκρυστάλλωση AL20 στους 84 οC με ροή αζώτου 1L/min

Πίνακας 8.3: Θερμικές ιδιότητες των κενών μικροκαψουλών μετά την προκρυστάλλωση

Πείραμα	T_c (°C)	T_m (°C)	X_c %	$T_{d 5\%}$ (°C)	$T_{d max}$ (°C)	Υπόλειμμα %
AL19 0.5 L/min, 100° C	n.d.	152,5	39,4	307,8	352,7	6,7
AL19 1 L/min, 100° C	n.d.	154,3	35,3	284,5	352,2	3,6
AL19 0.5 L/min, 95° C	n.d.	153,7	40,2	285,3	348,2	5,7
AL19 1 L/min, 95° C	n.d.	153,3	38,0	286,5	353,2	5,6
AL20 1 L/min, 84° C	n.d.	155,9	31,3	300,8	353,1	7,9

Οι θερμικές ιδιότητες των μικροκαψουλών, που παραλήφθηκαν από το στάδιο της προκρυστάλλωσης, μετρήθηκαν και παρουσιάζονται στον πίνακα (8.3). Τα μικροσωματίδια και από τις πέντε δοκιμές, κατά την υποβολή τους σε ανάλυση DSC, δεν εμφάνισαν στάδιο κρυστάλλωσης και παρουσίασαν σημαντικά αυξημένη κρυσταλλικότητα σε σχέση με την αρχική τιμή που εμφάνιζαν πριν το στάδιο της προκρυστάλλωσης. Συγκεκριμένα η κρυσταλλικότητα (x_c %) των μικροκαψουλών AL19, παρουσίασε αύξηση από 8,8% σε τιμές από 35,3 % έως 40,2%, ενώ για το AL20 η κρυσταλλικότητα παρουσίασε αύξηση από 1% σε 31,3%.

Στην ερευνητική εργασία των Bo Peng και Hongbing Hou, όπου εξετάστηκε η προκρυστάλλωση PLLA για την μετέπειτα υποβολή αυτού σε μεταπολυμερισμό στερεάς κατάστασης, αναφέρεται ότι η επίτευξη μίας κρυσταλλικότητας, γύρω στο 45%, με μια χαμηλότερη θερμοκρασία κατά το στάδιο της προκρυστάλλωσης, αποτελεί την

ιδανικότερη περίπτωση. Η επίτευξη μιας υψηλότερης κρυσταλλικότητας στο στάδιο αυτό θα οδηγούσε σε υψηλότερη συγκέντρωση των ακραίων ομάδων στις άμορφες περιοχές, αυξάνοντας κατά το επόμενο βήμα του μεταπολυμερισμού, τον ρυθμό της αντίδρασης. Ωστόσο η επίτευξη μιας υπερβολικά υψηλής τιμής κρυσταλλικότητας, ενδέχεται να περιορίζει στην συνέχεια την διάχυση των παραπροϊόντων και την κινητικότητα των άκρων των αλυσίδων μειώνοντας τον ρυθμό της αντίδρασης του μεταπολυμερισμού. Έτσι, μία τιμή κρυσταλλικότητας 30-40%, όπως αυτή που παρουσιάστηκε στις δοκιμές των κενών μικροκαψουλών ΑΛ19 και ΑΛ20 είναι συνήθως αυτή που προτιμάται [91].

Στις μικροκάψουλες ΑΛ20, που λήφθηκαν από το στάδιο προκρυστάλλωσης στους 84 °C, και που παρουσίασαν την καλύτερη μορφολογία, παρατηρήθηκε μικρή αύξηση στο σημείο τήξης σε σχέση με εκείνο που εμφάνιζαν πριν την προκρυστάλλωση (από 154,5 °C σε 155,9 °C). Αντίθετα οι μικροκάψουλες που λήφθηκαν από τις υπόλοιπες δοκιμές που έγιναν για το στάδιο προκρυστάλλωσης, εμφάνισαν μικρή μείωση στο σημείο τήξης σε σχέση με εκείνο που εμφάνιζαν πριν την προκρυστάλλωση (από 154,8 °C σε τιμές 154,3-252,5 °C). Ωστόσο οι μεταβολές αυτές δεν κρίθηκαν σημαντικές.

Το στάδιο της προκρυστάλλωσης φαίνεται να είχε θετική επίδραση και στην θερμική αποικοδόμηση των μικροκαψουλών, καθώς όλα τα δείγματα που υποβλήθηκαν στις δοκιμές, με εξαίρεση αυτό που υποβλήθηκε σε προκρυστάλλωση στους 95 °C με ροή αζώτου 0,5 L/min, παρουσίασαν αύξηση της θερμοκρασίας της μέγιστης θερμικής αποικοδόμησης (T_{dmax}) κατά 3-4 °C. Συγκεκριμένα, η μεγαλύτερη αύξηση (4 °C), παρατηρήθηκε στο δείγμα που υποβλήθηκε σε δοκιμή προκρυστάλλωσης στους 95 °C με ροή αζώτου 1 L/min και στο δείγμα στους 84 °C με ροή αζώτου 1 L/min, που εμφάνισε τα καλύτερα μορφολογικά χαρακτηριστικά.

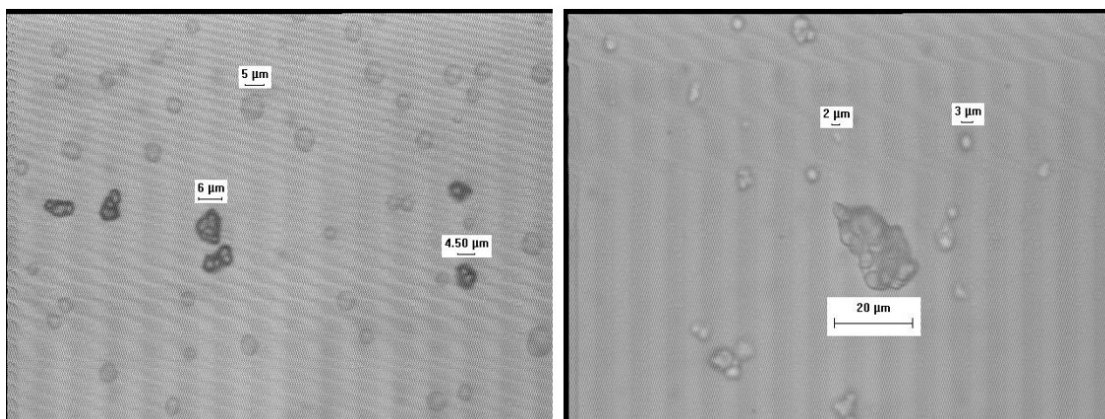
Συνοψίζοντας τα παραπάνω, συμπεραίνεται ότι το βήμα της προκρυστάλλωσης εμφάνισε σημαντική επίδραση στην αύξηση της κρυσταλλικότητας ενώ φάνηκε να έχει μικρή θετική επίδραση και στην θερμοκρασία αποικοδόμησης των μικροκαψουλών. Η προκρυστάλλωση στους 84 °C με ροή αζώτου 1 L/min για 1 h αποτέλεσε την καλύτερη δοκιμή, όπου εμφανίστηκαν μικροκάψουλες οι οποίες είχαν διατηρήσει την αρχική τους μορφολογία και δεν είχαν συσσωματωθεί σε εκτεταμένα συσσωματώματα. Ακόμα η δοκιμή αυτή, οδήγησε σε σημαντική αύξηση της κρυσταλλικότητας των μικροκαψουλών. Η προκρυστάλλωση στους 95 °C με ροή αζώτου 1 L/min, φάνηκε να αποτελεί την δεύτερη καλύτερη επιλογή, αφού στην δοκιμή αυτή παρουσιάστηκαν συσσωματώματα μικρότερου μεγέθους, ενώ, παρατηρήθηκε και στην περίπτωση αυτή, σημαντική αύξηση της κρυσταλλικότητας. Οι δύο αυτές προκρυσταλλώσεις επιλέχθηκαν να εφαρμοστούν για την μελέτη του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης σε μικροκάψουλες PLA με εγκλεισμένη δραστική ουσία.

8.2. Μικροκάψουλες με εγκλεισμένη κουμαρίνη-6

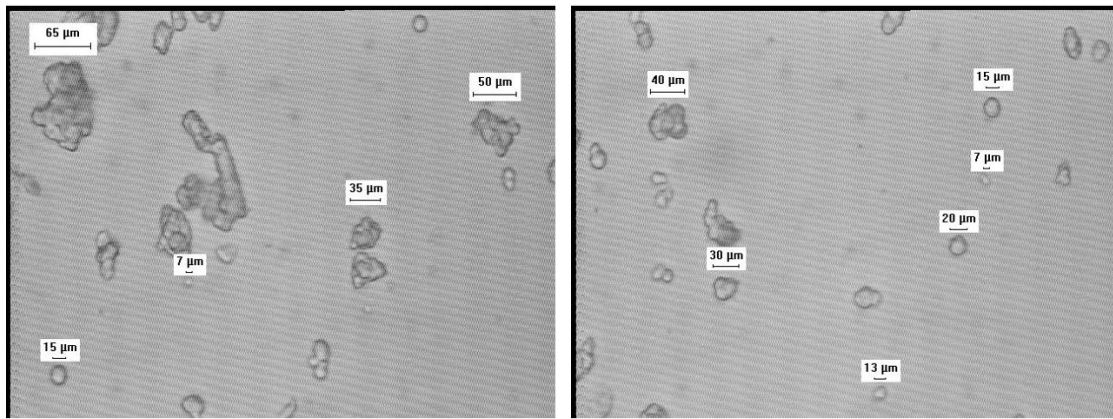
8.2.1. Μεταπολυμερισμός στερεάς κατάστασης

Οι μικροκάψουλες ΑΛ18, με τον εγκλεισμένο δραστικό παράγοντα κουμαρίνη-6, επιλέχθηκαν ως κατάλληλες για να υποβληθούν στην διεργασία του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης, ώστε να μελετηθεί η μεταβολή των ιδιοτήτων τους και του ρυθμού αποδέσμευσης της εγκλεισμένης δραστικής ουσίας πριν και μετά την διεργασία. Λαμβάνοντας υπόψη τα συμπεράσματα από την μελέτη της προκρυστάλλωσης των κενών μικροκαψουλών, πραγματοποιήθηκαν δύο πειράματα μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης, με βήμα προκρυστάλλωσης για 1 h στους 84 °C και στους 95 °C αντίστοιχα και με ροή φέροντος αερίου αζώτου 1L/min. Ο μεταπολυμερισμός στερεά κατάστασης, εφαρμόστηκε για 16 h στους 130 °C.

Μετά το πέρας των δύο πειραμάτων, το υλικό που βγήκε από τον αντιδραστήρα ελέγχθηκε ως προς την μορφολογία με οπτική μικροσκοπία και οι εικόνες που λήφθηκαν παρουσιάζονται παρακάτω (εικόνες (8.6) και (8.7)).



Εικόνα 8.6: Εφαρμογή SSP στο ΑΛ18, 16h/130 °C, με προκρυστάλλωση στους 84 °C



Εικόνα 8.7: Εφαρμογή SSP στο AL18, 16h/130 °C, με προκρυστάλλωση στους 95 °C

Από την παρατήρηση των εικόνων της οπτικής μικροσκοπίας, συμπεραίνεται ότι και στα δύο πειράματα παρουσιάστηκαν φαινόμενα συσσωμάτωσης. Ωστόσο παρά τα φαινόμενα αυτά, οι μικροκάψουλες φαίνονται να έχουν διατηρήσει σε γενικές γραμμές την σφαιρική τους μορφολογία ενώ τα συσσωματώματα χαρακτηρίζονται από μικρό μέγεθος. Το δείγμα που υποβλήθηκε σε μεταπολυμερισμό στερεάς κατάστασης με βήμα προκρυστάλλωσης στους 84 °C, φαίνεται να παρουσιάζει καλύτερα μορφολογικά χαρακτηριστικά, αφού στην εικόνα του εμφανίζονται αρκετές σφαιρικές μικροκάψουλες και η συσσωμάτωση εμφανίζεται σε μικρότερο βαθμό (εικόνα (8.6)). Αξίζει να σημειωθεί σε αυτό το σημείο, πως η επαναδιασπορά του πειράματος με προκρυστάλλωση στους 84 °C δεν έγινε τόσο εξονυχιστικά όσο για το άλλο. Πιο συγκεκριμένα η επαναδιασπορά του πειράματος του SSP με προκρυστάλλωση στους 95 °C, πραγματοποιήθηκε με χρήση συστήματος υπερήχων (Probe Sonicator), ενώ εκείνη του πειράματος του SSP με προκρυστάλλωση στους 84 °C, πραγματοποιήθηκε για μικρότερο χρόνο σε λουτρό υπερήχων (Sonic Box).

Επιπλέον, με βάση τα δύο αυτά πειράματα του SSP, ειπώθηκε πρώτη φορά το ενδεχόμενο της επιρροής της αρχικής στερεάς μορφής των μικροκαψουλών (μετά τη λυοφιλίωση) στην εμφάνιση των συσσωματωμάτων. Η παρατήρηση αυτή βασίστηκε σε διαφορές στις αρχικές στερεές μικροκάψουλες που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτά τα πειράματα σε σχέση με την στερεά μορφή μικροκαψουλών προηγούμενων πειραμάτων λόγω αλλαγής της διάταξης της λυοφιλίωσης.

Οι θερμικές ιδιότητες των μικροκαψουλών που υποβλήθηκαν στην διεργασία του SSP, μελετήθηκαν και παρουσιάζονται στον πίνακα (8.4) και στο σχήμα (8.1). Βιβλιογραφικά η διεργασία του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης επιδρά συνήθως στις θερμικές ιδιότητες των προπολυμερών, όντας μία τεχνική θερμικής επεξεργασίας. Η θέρμανση του υλικού σε θερμοκρασία μεγαλύτερη της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης, όπως έχει προαναφερθεί, είναι πιθανό να προκαλέσει αλλαγές στην μορφολογία του πολυμερούς όπως η αναδιάταξη των μακρομοριακών αλυσίδων στις κρυσταλλικές

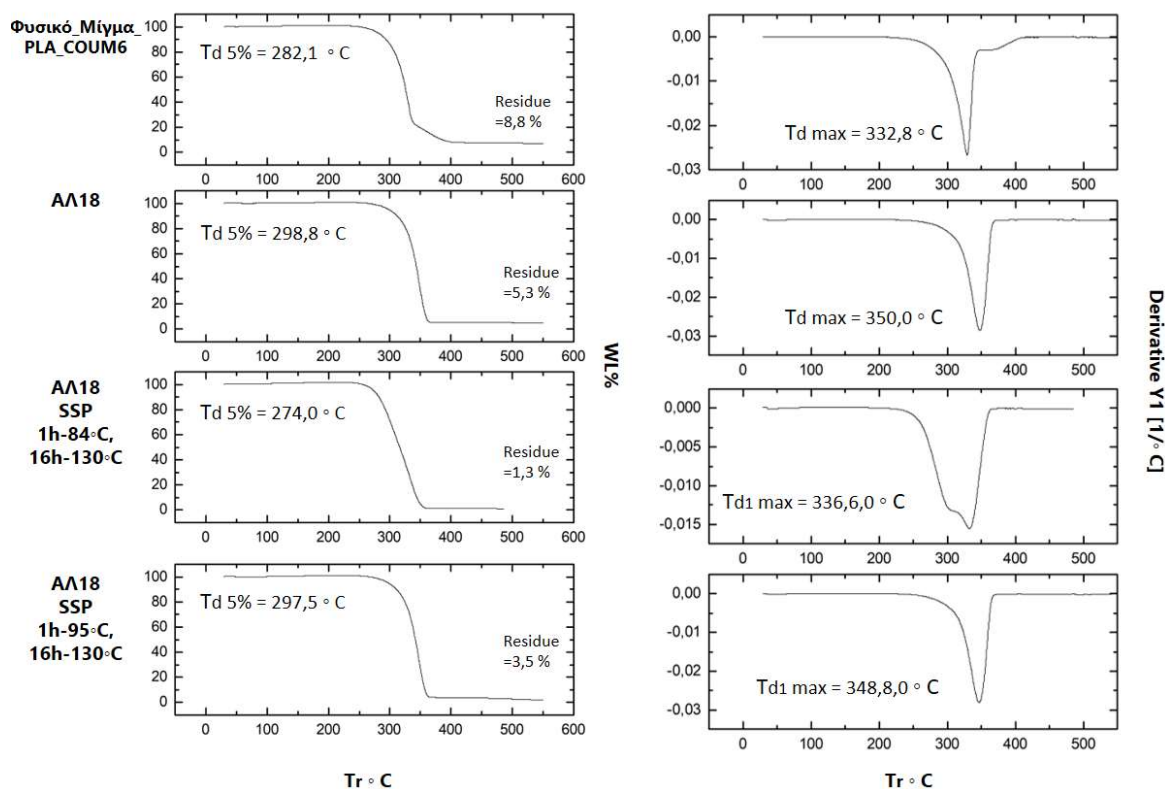
περιοχές με παράλληλη αύξηση της κρυσταλλικότητας και δημιουργία τελειότερων κρυστάλλων [91].

Στα δείγματα των μικροκαψουλών ΑΛ18, που υποβλήθηκαν σε SSP, εμφανίστηκε συνολικά τόσο από το στάδιο της προκρυστάλλωσης όσο και από την διεργασία του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης, αύξηση της κρυσταλλικότητας. Ωστόσο η αύξηση αυτή, λαμβάνοντας υπόψη την αύξηση του βαθμού κρυσταλλικότητας που παρατηρήθηκε στα δοκιμαστικά πειράματα του σταδίου προκρυστάλλωσης (έως και 39,4 %), πιθανόν οφείλεται και εδώ κυρίως στο πρώτο στάδιο της προκρυστάλλωσης. Η συνολική αυτή αύξηση της κρυσταλλικότητας, οδήγησε στην μεταβολή του υλικού από πλήρως άμορφο σε ημικρυσταλλικό με βαθμό κρυσταλλικότητας 37,5 % και 30,9 %, στα πειράματα του SSP με προκρυστάλλωση στους 84 °C και στους 95 °C αντίστοιχα.

Όσον αφορά το σημείο τήξης των μικροκαψουλών ΑΛ18, μετά από την εφαρμογή της διεργασίας του μεταπολυμερισμού στερεά κατάστασης, δεν παρατηρήθηκε κάποια σημαντική μεταβολή σε αυτό.

Πίνακας 8.4: Θερμοκρασία τήξης και κρυσταλλικότητα των μικροκαψουλών που υποβλήθηκαν στην διεργασία του SSP

Πείραμα	T_c (°C)	T_m (°C)	X_c %
ΑΛ18	98,4	154,1	0
ΑΛ18 SSP (1h-84°C, 16h-130°C)	n.d.	152,7	37,5
ΑΛ18 SSP (1h-95°C, 16h-130°C)	n.d.	152,0	30,9



Σχήμα 8.1: Θερμική σταθερότητα των μικροκαψουλών ΑΛ18 που υποβλήθηκαν σε SSP

Από τα γραφήματα της θερμοσταθμικής ανάλυσης μάζας (TGA), για το δείγμα των μικροκαψουλών ΑΛ18 που υποβλήθηκε σε SSP με προκρυστάλλωση στους 84 °C, φάνηκε ότι αυτό παρουσιάζε αρκετά διαφορετική συμπεριφορά θερμικής αποικοδόμησης σε σχέση με τις μικροκάψουλες ΑΛ18 που δεν υποβλήθηκαν σε SSP. Συγκεκριμένα στην θερμική αποικοδόμηση του, παρατηρήθηκαν δύο στάδια θερμικής διάσπασης ενώ η θερμοκρασία μέγιστης θερμικής αποικοδόμησης ($T_{d \max} = 336,0 \text{ } ^\circ\text{C}$), παρουσιάστηκε αρκετά χαμηλότερη συγκριτικά με εκείνη των μικροκαψουλών ΑΛ18 ($T_{d \max} = 350,0 \text{ } ^\circ\text{C}$). Η συμπεριφορά αυτή αποδόθηκε στην ύπαρξη δραστικής ουσίας στην επιφάνεια των μικροκαψουλών, μέρος της οποίας φαίνεται να μεταφέρθηκε με διάχυση στο εξωτερικό του κελύφους κατά την διεργασία του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης.

Το φαινόμενο αυτό ωστόσο δεν εμφανίστηκε και στο δείγμα των μικροκαψουλών ΑΛ18 που υποβλήθηκε σε SSP με προκρυστάλλωση στους 95 °C. Συγκεκριμένα οι μικροκάψουλες του δείγματος αυτού, δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές όσον αφορά την θερμική τους σταθερότητα συγκριτικά με τις μικροκάψουλες ΑΛ18 που δεν υποβλήθηκαν σε SSP.

Στην συνέχεια υπολογίστηκε το μέσο κατά ιξώδες μοριακό βάρος των μικροκαψουλών ΑΛ18 του πειράματος του μεταπολυμερισμού με προκρυστάλλωση στους 84 °C (πίνακας (8.5)). Από την σύγκριση της τιμής αυτής με το μοριακό βάρος των μικροκαψουλών ΑΛ18 πριν την διεργασία του SSP, προέκυψε ότι η εφαρμογή του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης οδήγησε σε αύξηση του μοριακού βάρους του πολυμερικού κελύφους κατά 34,3 %.

Πίνακας 8.5: Μεταβολή του μοριακού βάρους των μικροκαψουλών μετά την διεργασία του SSP

Δείγμα	Μέσο κατά ιξώδες μοριακό βάρος (M_v) (g/mol)
Μικροκάψουλες ΑΛ18	17800±n.d.
Μικροκάψουλες ΑΛ18 SSP (1h-84°C, 16h-130°C)	23900±n.d.

Συνοψίζοντας, από τα δύο πειράματα μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης στις μικροκάψουλες ΑΛ18 με προκρυσταλώσεις στους 84 °C και στους 95 °C, φάνηκε ότι η εφαρμογή της συνολικής διεργασίας οδήγησε σε αύξηση της κρυσταλλικότητας των μικροκαψουλών (σε 37,5 % και 30,9 % αντίστοιχα), η οποία ωστόσο αποδόθηκε κυρίως στο στάδιο της προκρυστάλλωσης, ενώ όσον αφορά το σημείο τήξης των μικροκαψουλών, αυτό δεν εμφάνισε σημαντική μεταβολή. Όσον αφορά την θερμική σταθερότητα, το πείραμα με προκρυστάλλωση στους 84 °C, εμφάνισε θερμική διάσπαση σε δύο στάδια, υποδεικνύοντας πιθανόν την διάχυση μέρους της ουσίας στην επιφάνεια του πολυμερικού κελύφους κατά την διεργασία του SSP, ενώ το πείραμα με προκρυστάλλωση στους 95 °C, δεν εμφάνισε σημαντικές μεταβολές όσον αφορά την θερμική σταθερότητα σε σχέση με τις μικροκάψουλες πριν τον SSP. Τέλος η εφαρμογή της διεργασίας του μεταπολυμερισμού φάνηκε να οδηγεί σε αύξηση του μοριακού βάρους του πολυμερούς στις μικροκάψουλες του πειράματος με προκρυστάλλωση στους 84 °C .

8.3. Μελέτη της αποδέσμευσης της εγκλεισμένης δραστικής ουσίας- Σύγκριση με μικροκάψουλες που έχουν υποβληθεί σε διεργασία μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, αρχικά επιχειρήθηκε να γίνει μελέτη της κινητικής αποδέσμευσης της εγκλεισμένης δραστικής ουσίας από 200 mg μικροκαψουλών PLA με εγκλεισμένη Κουμαρίνη-6, του πειράματος ΑΛ18. Ωστόσο η μελέτη αυτή δεν μπόρεσε να πραγματοποιηθεί εξαιτίας της πολύ μικρής ποσότητας της δραστικής ουσίας που είχε χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή των μικροκαψουλών (14 mg σε 1,79 g PLA) με αποτέλεσμα η ποσότητα της Κουμαρίνης-6 που απελευθερωνόταν από τα 200 mg μικροκαψουλών σε διάστημα μιας ημέρας να μην ήταν δυνατόν να ανιχνευθεί κατά την UV-Vis φασματομετρία, παρά το γεγονός ότι η ύπαρξη της ουσίας στο υπερκείμενο φαινόταν από την υποκίτρινη απόχρωση του διαλύματος.

Για τον λόγο αυτό αποφασίστηκε να πραγματοποιηθεί μία μελέτη της συνολικής ποσότητας της Κουμαρίνης-6 που απελευθερώνεται από τις μικροκάψουλες σε

διάστημα δεκαπέντε ημερών. Έτσι, 200 mg των μικροκαψουλών του πειράματος ΑΛ18 τοποθετήθηκαν σε ρυθμιστικό διάλυμα με ΡΗ=7 και αφέθηκαν σε ήπια μαγνητική ανάδευση και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για διάστημα δεκαπέντε ημερών. Έπειτα από τις δεκαπέντε μέρες το διάλυμα φυγοκεντρήθηκε και από το υπερκείμενο που συλλέχθηκε υπολογίστηκε η ποσότητα της δραστικής ουσίας που είχε ελευθερωθεί από τους μικροφορείς στο διάστημα αυτό. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα (8.6). Η ίδια μελέτη επαναλήφθηκε και για 200 mg μικροκαψουλών ΑΛ18 που υποβλήθηκαν στην διεργασία του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης με βήμα προκρυστάλλωσης στους 84 °C.

Πίνακας 8.6: Μελέτη της αποδέσμευσης της εγκλεισμένης δραστικής ουσίας από τις μικροκάψουλες ΑΛ18, πριν και μετά την εφαρμογή της διεργασίας του SSP

Δείγμα	t (d)	λ_{\max} (nm)	Κουμαρίνη-6 που έχει απελευθερωθεί (mg)	Θεωρητική ποσότητα Κουμαρίνης-6 σε 200mg μικροκαψουλών	Ποσοστό αποδέσμευσης %	Μέσο κατά ιζώδες μοριακό βάρος (M_n) (g/mol)	Αύξηση μοριακού βάρους %
ΑΛ18	15	459,44	0,99	1,55	63,9	17800	-
ΑΛ18-SSP 1h-84°C, 16h-130°C	15	459,38	0,68	1,55	44,2	23900	34,3

Από την σύγκριση των αποτελεσμάτων, φαίνεται ότι οι μικροκάψουλες ΑΛ18 που υποβλήθηκαν στην διεργασία του SSP, οδήγησαν σε χαμηλότερη αποδέσμευση της εγκλεισμένης δραστικής ουσίας σε διάστημα δεκαπέντε ημερών (44,2 %) σε σύγκριση με τις μικροκάψουλες ΑΛ18 που δεν υποβλήθηκαν στην διεργασία του SSP (63,9 %). Το φαινόμενο αυτό μπορεί να αποδοθεί στην αυξημένη κρυσταλλικότητα (37,5 %) και στο αυξημένο μοριακό βάρος ($M_n = 23900$ g/mol) του πολυμερικού κελύφους στις μικροκάψουλες ΑΛ18 μετά την διεργασία του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης με βήμα προκρυστάλλωσης στους 84 °C, σε σχέση με την κρυσταλλικότητα (άμορφη κατάσταση) και το μοριακό βάρος ($M_n = 17800$ g/mol) των μικροκαψουλών πριν τον SSP. Στα γραμμικά πολυμερή, όπως είναι το PLA, η κινητικότητα των αλυσίδων αυξάνεται με την μείωση του μοριακού βάρους και για αυτό τα πολυμερή μικρότερου μοριακού βάρους επιτρέπουν την γρηγορότερη διάχυση του δραστικού παράγοντα έξω από το σωματίδιο [52],[56]. Ακόμα στην ερευνητική εργασία του V. Karavelidi, είχε φανεί ότι και ο βαθμός κρυσταλλικότητας επηρεάζει τον ρυθμό αποδέσμευσης της εγκλεισμένης δραστικής ουσίας, με τους πολυεστέρες χαμηλότερου βαθμού κρυσταλλικότητας, να εμφανίζουν υψηλότερο ρυθμό αποδέσμευσης [92]. Για τους λόγους αυτούς, πιθανόν οι μικροκάψουλες που υποβλήθηκαν στην διεργασία του SSP,

παρουσίασαν μικρότερο ποσοστό αποδέσμευσης της δραστηκής ουσίας στο χρονικό διάστημα των δεκαπέντε ημερών.

9.1. Συμπεράσματα

Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιείται η παραγωγή μικροκαψουλών πολυ(γαλακτικού οξέος) (PLA), με εγκλεισμένη δραστική ουσία ενώσεις της οικογένειας των κουμαρινών και στην συνέχεια, μελετάται η αναβάθμιση των ιδιοτήτων του πολυμερικού κελύφους (θερμικά χαρακτηριστικά τους, μοριακό βάρος, βαθμός κρυσταλλικότητας), μέσω της διεργασίας του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης (SSP). Επιπλέον, μελετάται η επίδραση της διεργασίας του μεταπολυμερισμού στον ρυθμό αποδέσμευσης του εγκλεισμένου παράγοντα από τις μικροκάψουλες.

Η παραγωγή των μικροκαψουλών πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο της γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης του διαλύτη και συγκεκριμένα με την τεχνική του διπλού γαλακτώματος. Για τους εγκλεισμούς χρησιμοποιήθηκαν δύο δραστικές ουσίες: η συμπελλιφερόνη ή 7-υδροξικουμαρίνη και η κουμαρίνη-6, και ως κριτήρια για την αποτελεσματικότητα του μικροεγκλεισμού χρησιμοποιήθηκαν η μορφολογία, το μέγεθος των μικροσωματιδίων, οι θερμικές τους ιδιότητες και η τιμή της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού.

Όσον αφορά στον εγκλεισμό της συμπελλιφερόνης, παρασκευάστηκαν μικροκάψουλες με ικανοποιητικά μορφολογικά χαρακτηριστικά, παρουσιάζοντας σφαιρικό σχήμα, μέγεθος γύρω στο 1-1,5 μm και δείκτη πολυδιασποράς (PDI) γύρω στο 1,3. Για την παραγωγή των μικροκαψουλών αυτών μελετήθηκαν διαφορετικά μίγματα διαλυτών ως οργανική φάση, εξαιτίας της αδυναμίας εύρεσης κοινού διαλύτη του PLA και της ουσίας. Από την μελέτη αυτή παρατηρήθηκε ότι η χρήση διαλυτών με κοντινές τάσεις ατμών (Χλωροφόρμιο – Ακετόνη) βελτιώνει την άμεση απόδοση εγκλεισμού, η οποία έφτασε μέχρι 14,4 %. Ωστόσο παρά τα καλά μορφολογικά χαρακτηριστικά που παρουσίασαν οι μικροκάψουλες της συμπελλιφερόνης, οι χαμηλές παρατηρούμενες τιμές απόδοσης εγκλεισμού σε συνδυασμό με την ανίχνευση κρυστάλλων στην εξωτερική περιοχή των σωματιδίων κατά την ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης, οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι μπορεί να μην είναι δυνατός ο εγκλεισμός της κουμαρίνης αυτής στα συγκεκριμένα μικροσυστήματα λόγω του μεγάλου μεγέθους των κρυστάλλων της.

Όσον αφορά στον εγκλεισμό της κουμαρίνης-6, η παρασκευή των μικροκαψουλών μελετήθηκε με δύο διαφορετικές πειραματικές διαδικασίες οι οποίες διέφεραν τόσο στην αναλογία εξωτερικής υδατικής φάσης (EWP)-πρωταρχικού γαλακτώματος (PE), όσο και στο χρόνο γαλακτωματοποίησης και στην ποσότητα της προς εγκλεισμό ουσίας. Με την πρώτη πειραματική μέθοδο (αναλογία EWP:PE = 4:1, χρόνος ανάδευσης EWP-PE = 10 min και λόγος $M_{\text{ουσίας}}/M_{\text{πολυμερούς}} = 10\%$) παραλήφθηκαν μικροκάψουλες με μέση διάμετρο 2 μm και δείκτη πολυδιασποράς περίπου 3, παρουσιάζοντας σχετική ανομοιομορφία μεγέθους, ενώ η τιμή της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού υπολογίστηκε

αρκετά υψηλή ($71,2 \pm 8,6\%$). Παρά την καλή τους μορφολογία και την υψηλή τιμή της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού όμως, οι μικροκάψουλες παρατηρήθηκε ότι σχηματίζουν ανομοιόμορφες υδατικές διασπορές.

Η δεύτερη πειραματική μέθοδος (EWP:PE = 2:1, χρόνος ανάδευσης EWP-PE = 30 s και λόγος $M_{\text{ουσία}}/M_{\text{πολυμερούς}} = 0,8\%$), έδωσε μικροκάψουλες με μέγεθος κοντά στα 2-3 μm , δείκτη πολυδιασποράς 1,7-2,0 και αποδόσεις εγκλεισμού $42,8 \pm 6,8\%$ έως $87,7 \pm 1,5\%$. Συνεπώς η μείωση της αναλογίας EWP:PE (από 4:1 σε 2:1) όπως και η μείωση του χρόνου ανάδευσης EWP-PE (από 10 min σε 30 s) οδήγησε σε αύξηση του μεγέθους των παραγόμενων μικροκαψουλών, σε μείωση του δείκτη πολυδιασποράς και σε σημαντική αύξηση της απόδοσης εγκλεισμού.

Στην καλύτερη πειραματική μέθοδο εγκλεισμού (μειωμένη αναλογία και χρόνος ανάδευσης), μελετήθηκε επίσης η επίδραση διάφορων παραμέτρων της τεχνικής ως προς τα τελικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων μικροκαψουλών. Συγκεκριμένα μελετήθηκε ο τύπος του γαλακτωματοποιητή (βαθμός υδρόλυσης και μοριακό βάρος) και η πολύ(βινυλική αλκοόλη) (PVA) βαθμού υδρόλυσης 87-90% και μοριακού βάρους (M_v) 30000-70000, έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα, οδηγώντας στον σχηματισμό μικροσωματιδίων με μεγαλύτερη ομοιομορφία και διπλάσια απόδοση εγκλεισμού (πείραμα ΑΛ10: $EE = 87,7 \pm 1,5\%$, $PDI = 2,02$). Ακόμα μελετήθηκε η επίδραση της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας στις ιδιότητες των μικροκάψουλών και παρατηρήθηκε ότι η αύξηση αυτής επιφέρει σημαντική αύξηση, έως και 50%, στην τιμή της άμεσης απόδοσης εγκλεισμού. Τέλος, μελετήθηκε η επίδραση του μοριακού βάρους του αρχικού πολυμερούς, όπου φάνηκε ότι η χρήση PLA υψηλότερου μοριακού βάρους οδηγεί σε αύξηση του μεγέθους των μικροσωματιδίων από τα 2,7 μm (χαμηλό μοριακό βάρος) στα 4,9 μm (μεγαλύτερο μοριακό βάρος).

Οι μικροκάψουλες PLA με εγκλεισμένη κουμαρίνη-6, υποβλήθηκαν σε μεταπολυμερισμό στερεάς κατάστασης, οι συνθήκες του οποίου προσδιορίστηκαν βάσει προηγούμενης εμπειρίας του Εργαστηρίου. Έτσι, κρίθηκε αναγκαία η επιβολή ενός βήματος προκρυστάλλωσης για την αποφυγή της συσσωμάτωσης των μικροκαψουλών και της διατήρησης της στερεάς κατάστασης κατά τον μεταπολυμερισμό. Μετά από μελέτη τριών θερμοκρασιών (84 °C, 95 °C και 100 °C) και δύο ταχυτήτων ροής φέροντος αερίου (0,5 L/min και 1 L/min), επιλέχθηκαν οι εξής συνθήκες προκρυστάλλωσης: των 84 °C και των 95 °C για 1 h σε ροή 1 L/min, καθώς οδήγησαν σε αύξηση του βαθμού κρυσταλλικότητας (x_c %) σε 38,0 % και 31,3 % αντίστοιχα και σε καλή διατήρηση της μορφολογίας των μικροκαψουλών.

Με βάση και τις δύο θερμοκρασίες προκρυστάλλωσης, μικροκάψουλες με εγκλεισμένη κουμαρίνη-6 υποβλήθηκαν σε SSP για 16 h, στους 130 °C με ροή αζώτου 1 L/min. Τα πειράματα οδήγησαν σε σημαντική αύξηση του βαθμού κρυσταλλικότητας, μετατρέποντας το υλικό από πλήρως άμορφο σε ημικρυσταλλικό με βαθμό κρυσταλλικότητας (x_c %) 37,5% και 30,9 % αντίστοιχα, ενώ το σημείο τήξεως δεν

παρουσίασε κάποια σημαντική μεταβολή. Η αύξηση του βαθμού κρυσταλλικότητας των μικροκαψουλών αποδόθηκε κυρίως στο στάδιο της προκρυστάλλωσης. Όσον αφορά στη θερμική σταθερότητα, τα μικροσωματίδια που υποβλήθηκαν σε μεταπολυμερισμό στερεάς κατάστασης με προκρυστάλλωση στους 84 °C, εμφάνισαν θερμική διάσπαση σε δύο στάδια. Το φαινόμενο αυτό αποδόθηκε σε μέρος της δραστικής ουσίας που πιθανόν διαχύθηκε κατά τον SSP στην επιφάνεια των μικροσωματιδίων. Από την άλλη πλευρά, για τις μικροκάψουλες που υποβλήθηκαν σε SSP με στάδιο προκρυστάλλωσης στους 95 °C, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στην θερμική τους σταθερότητα. Ακόμα το πείραμα του SSP με προκρυστάλλωση στους 84 °C, οδήγησε σε αύξηση του μοριακού βάρους του πολυμερικού κελύφους κατά 34,3 %. Αξίζει να σημειωθεί ωστόσο, ότι και στα δύο πειράματα που πραγματοποιήθηκαν για τον SSP παρατηρήθηκε μερική συσσωμάτωση του υλικού, με το πείραμα με προκρυστάλλωση στους 84 °C, να παρουσιάζει την καλύτερη μορφολογία εμφανίζοντας μικρότερα συσσωματώματα και αρκετές ελεύθερες μικροκάψουλες με σφαιρική μορφή.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός του ποσοστού αποδέσμευσης της εγκλεισμένης κουμαρίνης-6 από τις μικροκάψουλες PLA σε χρονικό διάστημα δεκαπέντε ημερών. Οι μικροκάψουλες μετά τον SSP με προκρυστάλλωση στους 84 °C, εμφάνισαν χαμηλότερο ποσοστό αποδέσμευσης (44 %) σε σχέση με τις μικροκάψουλες πριν τον SSP όπου η αντίστοιχη τιμή είναι ίση με 63 %. Το αυξημένο μοριακό βάρος και η αυξημένη κρυσταλλικότητα των μικροκαψουλών του SSP, φάνηκε να οδηγούν σε βραδύτερη αποδέσμευση του εγκλεισμένου παράγοντα.

9.2. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Λαμβάνοντας υπόψιν τα συμπεράσματα που προκύπτουν ως προς τις τελικές ιδιότητες των παραγόμενων μικροκαψουλών PLA με την εγκλεισμένη κουμαρίνη-6 και ως προς τις τελικές ιδιότητες αυτών μετά την υποβολή τους στην διεργασία του SSP, παρουσιάζονται κάποιες προτάσεις για περαιτέρω μελλοντική έρευνα.

Αρχικά θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί μια ισοθερμοκρασιακή μελέτη του σταδίου προκρυστάλλωσης των μικροκαψουλών σε ακόμα χαμηλότερη θερμοκρασία π.χ. στους 80 °C, δεδομένου ότι ακόμα και στην χαμηλότερη θερμοκρασία που χρησιμοποιήθηκε για το στάδιο προκρυστάλλωσης στην παρούσα διπλωματική εργασία (84 °C), παρατηρήθηκε η εμφάνιση μικρών συσσωματωμάτων. Η θερμοκρασία αυτή προτείνεται καθώς από τα γραφήματα της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης, το στάδιο κρυστάλλωσης των μικροκαψουλών του πειράματος Α118 που υποβλήθηκαν στην διεργασία του SSP, εμφανίστηκε να ξεκινάει στην θερμοκρασία των 78 °C, με αποτέλεσμα να πιθανολογείται ότι η χρησιμοποίηση μίας ελάχιστα υψηλότερης θερμοκρασίας του σημείου αυτού θα μπορούσε να φανεί αποτελεσματική.

Μελέτη της κινητικής του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης επίσης κρίνεται εποικοδομητική.

Ακόμα, εξίσου σημαντικό βήμα, αποτελεί και η μελέτη της κινητικής της αποδέσμευσης της εγκλεισμένης δραστικής ουσίας από τις μικροκάψουλες PLA, τόσο πριν την εφαρμογή του μεταπολυμερισμού στερεάς κατάστασης σε αυτές, όσο και μετά από αυτήν.

Τέλος προτείνεται και η δοκιμή εγκλεισμού υδρόφιλων δραστικών ουσιών, με την τεχνική του διπλού γαλακτώματος, σε μικροκάψουλες πολυ(γαλακτικού οξέος) καθώς και η διερεύνηση της εφαρμογής της διεργασίας του SSP σε αυτές για την αναβάθμιση των ιδιοτήτων τους.

- [1] L. Xiao, B. Wang, G. Yang, M. Gauthier. Poly (Lactic Acid) - Based Biomaterials: Synthesis, Modification and Applications. In: Biomedical Science, Engineering and Technology Intech. D.N Ghista, Eds. UK: IntechOpen 2012.
- [2] M. Jamshidian, E. A. Tehrany, M. Imran, M. Jacquot, S. Desobry. Poly-Lactic Acid: Production, Applications, Nanocomposites, and Release Studies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2010; Vol. 9 (5): 437-599.
- [3] J. Pretula, S. Slomkowski, S. Penczek. Poly lactides—Methods of synthesis and characterization. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2016; 107: 3-16.
- [4] M.S. Singhvi, S.S. Zinjarde, D.V. Gokhale. Poly lactic acid: synthesis and biomedical applications. *Journal of Applied Microbiology* 2019; Vol. 127(6): 1612-1626.
- [5] L. Jiménez, M. Mena, J. Prendiz, L. Salas, J. Vega-Baudrit. Poly lactic Acid (PLA) as a bioplastic and its possible applications in the Food Industry. *HSOA Journal of Food Science & Nutrition* 2019; 5: 048.
- [6] E. Castro-Aguirre, F. Iñiguez-Franco, H. Samsudin, X. Fang, R. Auras. Poly(lactic acid)—Mass production, processing, industrial applications, and end of life. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2016; 107: 333-366.
- [7] M.S. Lopes, A.L. Jardini, R.M. Filho. Synthesis and Characterizations of Poly (Lactic Acid) by Ring-Opening Polymerization for Biomedical Applications. *Chemical Engineering Transactions* 2014; 38: 331-336.
- [8] T. Casalini, F. Rossi, A. Castrovinci, G. Perale. A perspective on Poly lactic Acid-Based Polymers used for Nanoparticles synthesis and applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 2019; 7:259.
- [9] K.M. Nampoothiri, N.R. Nair, R.P John. An overview of the recent developments in poly lactide (PLA) research. *Bioresource Technology* 2010; 101(22): 8493-8501.
- [10] J. de Oliveira, L.P.S. Vandenberghe, S.F. Zawadzki, C. Rodrigues, J.C. de Carvalho, C.R. Soccol. Production and Application of Poly lactides. In: *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. A. Pandey, S. Negi, C.R. Soccol, Eds. Amsterdam: ELSEVIER 2017.
- [11] T. Maharanaa, B. Mohanty, Y.S. Negi. Melt–solid polycondensation of lactic acid and its biodegradability. *Progress in Polymer Science* 2009; 34: 99-124.

- [12] A.P. Gupta, V. Kumar. New emerging trends in synthetic biodegradable Polymers-Polylactide: A critique. *European Polymer Journal* 2007; 43: 4053–4074.
- [13] W. Groot, J.V. Krieken, O. Sliekers, S. Vos. Production and Purification of Lactic Acid and Lactide. In: *Poly(Lactic Acid): Synthesis, Structures, Properties, Processing, and Applications*. R. Auras, L.T. Lim, S. E. M. Selke, H.Tsuji, Eds. N.J: John Wiley & Sons 2010.
- [14] K.M. Stridsberg, M. Ryner, A.C. Albertsson. Controlled Ring-Opening Polymerization: Polymers with designed Macromolecular Architecture. In: *Degradable Aliphatic Polyesters*. A.C. Albertsson, Eds. Berlin: Springer 2002.
- [15] M. Bhattacharya, R. L. Reis, V. Correlo, L. Boesel. Materials properties of biodegradable polymers. In: *Biodegradable Polymers for Industrial Applications*. R. Smith, Eds. London: Woodhead Publishing 2005.
- [16] L. T. Lim, R. Auras, M. Rubino. Processing technologies for poly(lactic acid). *Progress in Polymer Science* 2008; 33:820-852.
- [17] S. Farah, D. G. Anderson, R. Langer. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2016; Vol. 107: 367-392.
- [18] M. Drieskens, R. Peeters, J. Mullens, D. Franco, P. J. Lemstra, D. G. Hristova-Bogaerds. Structure versus properties relationship of poly(lactic acid). I. Effect of crystallinity on barrier properties. *J Polym Sci Part B* 2009; 47: 2247-2258.
- [19] R. A. Auras, B. Harte, S. Selke, R. Hernandez. Mechanical, Physical, and Barrier Properties of Poly(Lactide) Films. *Journal of Plastic Film and Sheeting* 2003; 19: 123.
- [20] R. A. Auras, B. Harte, S. Selke. An Overview of Polylactides as Packaging Materials. *Macromolecular Bioscience* 2004; 4(9):835-64.
- [21] N. F. Zaaba, M. Jaafar. A review on degradation mechanisms of polylactic acid: Hydrolytic, photodegradative, microbial, and enzymatic degradation. *Polymer Engineering and Science* 2020; 60: 2061-2075.
- [22] D. Silva, M. Kaduri, M. Poley, O. Adir, N. Krinsky, J. Shainsky-Roitman, A. Schroeder. Biocompatibility, biodegradation and excretion of polylactic acid (PLA) in medical implants and theranostic systems. *Chemical Engineering Journal* 2018; 340: 9-14.
- [23] Αντώνιος Α. Σερέτης, 'Χημική σύνθεση γραμμικών και διακλαδισμένων βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών και συμπολυμερών του πολυγαλακτικού οξέος', Διδακτορική Διατριβή Α.Π.Θ. 2011

- [24] S. Teixeira, K. M. Eblagon, F. Miranda, M. Fernando R. Pereira, J. L. Figueiredo. Towards Controlled Degradation of Poly(lactic) Acid in Technical Applications. *Journal of Carbon Research* 2021; 7(2): 42.
- [25] M.S. Lopes, A.L. Jardini, R.M. Filho. Poly (lactic acid) production for tissue engineering applications. *Procedia Engineering* 2012; 42: 1530-1542.
- [26] V. DeStefano, S. Khan, A. Tabada. Applications of PLA in modern medicine. *Engineered Regeneration* 2020; 1: 76-87.
- [27] H. Yetkin, A. Senkoulu, E. Cila, A. M. Ozturk, A. Simsek, Biodegradable Implants in Orthopaedics and Traumatology. *Turkish Journal of Medical Sciences* 2000; 30: 297-301.
- [28] A. Albertsson, I. K. Varma. Recent Developments in Ring Opening Polymerization of Lactones for Biomedical Applications. *Biomacromolecules* 2003; 4 :1466-1486.
- [29] K. P. Barot, S. V. Jain, L. Kremer, S. Singh, M. D. Ghate. Recent advances and therapeutic journey of coumarins: current status and perspectives. *Medicinal Chemistry Research* 2015; 24(7) : 2771-2798.
- [30] O. Mazimba. Umbelliferone: Sources, chemistry and bioactivities review. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University* 2017; 55(2) :223-232.
- [31] E. K. Akkol, Y. Genç, B. Karpuz, E. Sobarzo-Sánchez, R. Capasso. Coumarins and Coumarin-Related Compounds in Pharmacotherapy of Cancer. *Cancers (Basel)* 2020; 12(7) :1959.
- [32] GV. Radha, B. Sadhana, K. Trideva Sastri, S Ganapaty. Bioactive Umbelliferone and its derivatives: An update. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2019; 8(1); 59-66.
- [33] Ελένη Ν . Καβέτσου, 'Νέα βιοδραστικά ανάλογα φυσικών προϊόντων και μελέτη εγκλεισμού τους σε βιοδιασπώμενα πολυμερή'. Διδακτορική Διατριβή Ε.Μ.Π. 2019.
- [34] M. Tian, X. Liu, L. Song, X. Qi. Preparation and Properties of Fluorescent Labels Coumarin-6/HP-B-CD Complex by Nasal Drug Delivery. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 2019; 252: 022049.
- [35] K. Chen, H. Liu, J. Yu, Y. Tung, Y. Chou, C. Yang, J. Wang, J. Shen, K. Chiu. Characterization of coumarin-6 polycrystalline films growth from vacuum deposition at various substrate temperatures. *Scientific Reports* 2018; 8: 16740.
- [36] R. M. Raybaudi-Massilia, J. Mosqueda-Melgar. Polysaccharides as Carriers and Protectors of Additives and Bioactive Compounds in Foods. In: *The Complex World of Polysaccharides*. D. N. Karunaratne, Eds. Intech Open 2012.

- [37] N. V. Naga Jyothi, P. Muthu Prasanna, S. Narayan Sakarkar, K. Surya Prabha, P. Seetha Ramaiah, G. Y Srawan. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of Microencapsulation* 2010; 27(3): 187–197.
- [38] S. S. Bansode, S. K. Banarjee, D. D. Gaikwad, S. L. Jadhav, R. M. Thorat. Microencapsulation: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 2010; 1(2): 008.
- [39] J. Hyung Park, M. Ye, K. Park. Biodegradable Polymers for Microencapsulation of Drugs. *Molecules* 2005; 10: 146-161.
- [40] R. M. Olabisi. Cell microencapsulation with synthetic polymers. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 2015; 103(2); 846-859.
- [41] S. Vijeth, G. B. Heggannavar, M. Y. Kariduraganavar. Encapsulating Wall Materials for Micro-/Nanocapsules. In: *Microencapsulation - Processes, Technologies and Industrial Applications*. F. Salaün, Eds. Intech Open 2019.
- [42] Αρίστη Ρ. Μπαχτση. ' Ανάπτυξη μεθόδων μικροεγκλεισμού για την παραγωγή καινοτόμων συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης'. Διδακτορική διατριβή Α.Π.Θ 1997.
- [43] AK. Gupta, BK. Dey. Microencapsulation for controlled drug delivery: a comprehensive review. *Sunsari Technical College Journal* 2012; 1(1): 2091-2102.
- [44] D. E. Wurster. Air-Suspension Technique of Coating Drug Particles: A Preliminary Report. *Journal of the American Pharmaceutical association* 2006; 48(8): 451-454.
- [45] B. F. Gibbs, S. Kermasha, I. Alli, C. N. Mulligan. Encapsulation in the food industry: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 1999; 50 :213-224.
- [46] A. D. Mytara, K. Chronaki, V. Nikitakos, C. D. Papaspyrides, K. Beltsios, S. Vouyiouka. Synthesis of Polyamide-Based Microcapsules via Interfacial Polymerization: Effect of Key Process Parameters. *Materials* 2021; 14(19): 5895
- [47] M, Li, O. Rouaud, D. Poncelet. Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches. *International Journal of Pharmaceutics* 2008; 363: 26-39
- [48] R. Deshmukh, P. Wagh, J. Naik. Solvent evaporation and spray drying technique for micro- and nanospheres/particles preparation: A review. *Drying Technology* 2016; 34: 1758-1772.
- [49] H. Choukaife, A. A. Doolaanea, M. Alfatama. Alginate Nanoformulation: Influence of Process and Selected Variables. *Pharmaceutics* 2020; 13:335.

- [50] N. Garti, C. Bisperink. Double emulsions: Progress and applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 1998; 3(6): 657-667.
- [51] Ελπινίκη Δ. Ντίνη. 'Συστήματα εγκλεισμού και απόδοσης Βιοενεργών ουσιών σε Μίκρο- κα Νάνο- Κλίμακα'. Διδακτορική Διατριβή Α.Π.Θ. 2004.
- [52] C. Wischke, S. P. Schwendeman. Principles of encapsulating hydrophobic drugs in PLA/PLGA microparticles. *International Journal of Pharmaceutics* 2008; 364: 298-327.
- [53] S. Freiberg, X.X. Zhu. Polymer microspheres for controlled drug release. *International Journal of Pharmaceutics* 2004; 282: 1-18.
- [54] Kirk-Othmer. Emulsions. In: *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. 5th Edition. NJ: John Wiley & Sons, Inc. 2005 pp. 113-133.
- [55] M. L.T. Zweers, D. W. Grijpma, G. H.M. Engbers, Jan Feijen. The Preparation of Monodisperse Biodegradable Polyester Nanoparticles with a Controlled Size. *J Biomed Mater Res: Appl Biomater* 2003; 66B: 559-566.
- [56] N. Kamaly, B. Yameen, J. Wu, O. C. Farokhzad. Degradable Controlled-Release Polymers and Polymeric Nanoparticles: Mechanisms of Controlling Drug Release. *Chemical Reviews* 2016; 116: 2602-2663.
- [57] M. L. Bruschi. Mathematical models of drug release. In: *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems*. M. L. Bruschi, Eds. United Kingdom: Woodhead Publishing 2015.
- [58] J. Siepmann, R. A. Siegel, F. Siepmann. Diffusion Controlled Drug Delivery Systems. In: *Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery*. J. Siepmann, R. A. Siegel, F. Siepmann, Eds. Germany: Springer 2012, pp 127-152.
- [59] S. Vouyiouka, P. Theodoulou, A. Symeonidou, C. D. Papaspyrides, R. Pfaendner. Solid state polymerization of poly(lactic acid): Some fundamental parameters. *Polymer Degradation and Stability* 2013; 98(12): 2473-2481.
- [60] S. Vouyiouka, C. Papaspyrides Solid state polymerization. In: *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*. 4th edition. NJ: John Wiley & Sons, Inc. 2011.
- [61] S. N. Vouyiouka, E. K. Karakatsani, C. D. Papaspyrides. Solid state polymerization. *Prog. Polym. Sci.* 2005; 30:10-37.
- [62] C. D. Papaspyrides. Solid state polyamidation of aliphatic diamine aliphatic diacid salts: a generalized mechanism for the effect of polycondensation water on reaction behaviour. *Polymer* 1990; 31(3): 490-495.

- [63] C. D. Papaspyrides. Solid-state polyamidation of nylon salts. *Polymer* 1988; 29(1): 114-117.
- [64] Α. Μπουσιά. 'Συnergεία Νανοτεχνολογίας και Πολυμερισμού Στερεάς Κατάστασης για την Αναβάθμιση Πολυαμιδικών Ρητινών'. Διδακτορική Διατριβή Ε.Μ.Π. Αθήνα 2011.
- [65] J. Zimmerman. Equilibria in solid phase polyamidation, *J. Polym. Sci. Pol letter* 1964; 2(10): 955-958.
- [66] J. Zimmerman, M. I. Kohan. Nylon–Selected Topics. *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* 2001; 39(15): 2565-2570.
- [67] B. Duh. Reaction Kinetics for Solid-State Polymerization of Poly(ethylene terephthalate). *Journal of Applied Polymer Science* 2001; 81(7): 1748-1761.
- [68] S. Walas. Uncatalysed heterogenous reactions. In: *Reaction Kinetics for Chemical Engineers*. Mc Graw Hill, New York 1959, 126–130.
- [69] Σ. Ν. Βουγιούκα. 'Αριστοποίηση Ιδιοτήτων Πολυαμιδικών Ρητινών Με Τεχνολογία Πολυμερισμού Στερεάς Κατάστασης'. Διδακτορική Διατριβή Ε.Μ.Π. Αθήνα 2004.
- [70] Εργαστηριακός Οδηγός του μαθήματος "Επιστήμη και Τεχνολογία Πολυμερών Ι". Αθήνα: ΕΜΠ, 2014.
- [71] R. Brown, *Handbook of plastics test methods*, London: George Godwin Ltd, 1981, pp. 85-99.
- [72] W. Lu, Y. Zhang, Y. Z. Tan, K. L. Hu, X. G. Jiang, S. K. Fu. Cationic albumin-conjugated pegylated nanoparticles as novel drug carrier for brain delivery. *Journal of Controlled Release* 2005; 107: 428– 448
- [73] S. J. Wallace, J. L. Roger, L. Nation, B. J. Boyd. Drug release from nanomedicines: Selection of appropriate encapsulation and release methodology. *Drug Delivery and Translational Research* 2012; 2: 284–292.
- [74] Μ. Όξενκιουν-Πετροπούλου. 'Φυσικές μέθοδοι ανάλυσης -Εργαστηριακές ασκήσεις'. Αθήνα: ΕΜΠ, 2009, σελ.189-207.
- [75] Kotronia Margarita. Study of the nanoencapsulation of grapefruit and oregano essential oils. Master Thesis. Mediterranean Agronomic Institute of Chania (M.A.I.Ch.), 2016.
- [76] Μ. Όξενκιουν-Πετροπούλου. 'Φασματομετρικές Μέθοδοι'. Γ. Έκδοση. Εκδόσεις Συμμετρία, σελ. 293-307.

[77] Α. Παππά. 'Φυσικές μέθοδοι ανάλυσης, Χρωματογραφικές, Θερμικές, Ηλεκτρομετρικές, Φασματομετρία μάζας'. ΕΜΠ, 2012, σελ.119-133, 142-149.

[78] S. Tzavidi, C. Zotiadis, A. Porfyrus, D. M. Korres, S. Vouyiouka. Epoxy loaded poly(urea-formaldehyde) microcapsules via in situ polymerization designated for self-healing coatings. *Journal of Applied Polymer Science* 2002; 137(43): 49323.

[79] L. Souza, A. Al-Tabbaa. Microfluidic fabrication of microcapsules tailored for self-healing in cementitious materials. *Construction and Building Materials* 2018; 184: 713–722.

[80] N. Shahabudin, R. Yahya, S. N. Gan. Microcapsules of poly(urea-formaldehyde) (PUF) containing alkyd from palm oil. *Materials Today: Proceedings* 2016; 3S: S88 – S95.

[81] A. Loxley, B. Vincen. Preparation of Poly(methylmethacrylate) Microcapsules with Liquid Cores. *Journal of Colloid and Interface Science* 1998; 208 : 49–62.

[82] Y. Li, G. Wang , Z. Guo, P. Wang, A. Wang. Preparation of Microcapsules Coating and the Study of Their Bionic Anti-Fouling Performance. *Materials* 2020; 13:1669.

[83] E. L. Rowe. Effect of Emulsifier Concentration and Type on the Particle Size Distribution of Emulsions. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1965; 54 (2): 260-264.

[84] D. Aulia, S. Junaidi, E. Budianto. In vitro Efficiency Test of Captopril Microencapsulation Using Polyblend of Poly (lactic acid) and Polycaprolactone. *AIP Conference Proceedings* 2018; 2049 :020046.

[85] K. Chronaki , D. M. Korres , C. D. Papaspyrides ,S. Vouyiouka .Poly(lactic acid) microcapsules: Tailoring properties via solid state polymerization. *Polymer Degradation and Stability* 2020; 179: 109283.

[86] J. Herrmann, R. Bodmeier. Biodegradable, somatostatin acetate containing microspheres prepared by various aqueous and non-aqueous solvent evaporation methods. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 1998 ; 45(1):75-82.

[87] Y. A. Haggaga, M. A. Osmana, S. A. El-Gizawya, A. E. Godac, M. M. Shamloulad, A. M. Faheeme, P. A. McCarronb. Polymeric nano-encapsulation of 5-fluorouracil enhances anti-cancer activity and ameliorates side effects in solid Ehrlich Carcinoma-bearing mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2018; 105 : 215–224.

[88] X. Li, X. Deng, M. Yuan, C. Xiong a, Z. Huang, Y. Zhang, W. Jia. Investigation on process parameters involved in preparation of poly-DL-lactide-poly(ethylene glycol) microspheres containing *Leptospira Interrogans* antigens. *International Journal of Pharmaceutics* 1999; 178: 245–255.

- [89] S. Moon, I. Taniguchi, M. Miyamoto, Y. Kimura, C. W. Lee. Synthesis and properties of high-molecular-weight poly (L-lactic acid) by melt/solid polycondensation under different reaction conditions. *High Performance Polymers* 2001;13(2) : S189-S196.
- [90] K. Fukushima, Y. Kimura, An efficient solid-state polycondensation method for synthesizing stereocomplexed poly (lactic acid) s with high molecular weight. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 2008; 46(11): 3714-3722.
- [91] B. Peng, H. Hou, F. Song, L. Wu. Synthesis of high molecular weight poly (l-lactic acid) via melt/solid state polycondensation. II. Effect of precrystallization on solid state polycondensation. *Industrial & engineering chemistry research* 2012; 51(14) :5190-5196.
- [92] V. Karavelidis, E. Karavas, D. Giliopoulos, S. Papadimitriou, D. Bikiaris. Evaluating the effects of crystallinity in new biocompatible polyester nanocarriers on drug release behavior. *International Journal of Nanomedicine* 2011; 6: 3021-3032.