



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

Διπλωματική Εργασία

**Πράσινοι διαλύτες και προστιθέμενης αξίας εκχυλίσματα για
την ανάπτυξη βιώσιμης διεργασίας παρασκευής νέων
πολυμερικών μεμβρανών**

Γεωργίου Βασιλική Αναστασία



Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Δέτση Αναστασία, Καθηγήτρια ΕΜΠ

Αθήνα, 2023

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2022-2023 στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ, υπό την επίβλεψη της Καθηγήτριας Αναστασίας Δέτση.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την υπεύθυνη καθηγήτρια Αναστασία Δέτση για τη δυνατότητα εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας, τη δυνατότητα εξοικείωσης με νέες καινοτόμες τεχνολογίες καθώς και την αμέριστη εμπιστοσύνη που μου έδειξε. Παράλληλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη διδάκτορα Ανδρομάχη Τζάνη για τη συνεχή καθοδήγησή της και τις πολύτιμες συμβουλές της καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας. Την ευχαριστώ πολύ καθώς ήταν δίπλα μου σε κάθε προβληματισμό και συνέβαλε σημαντικά στη διεύρυνση των επιστημονικών μου οριζόντων. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την υποψήφια διδάκτορα Ιωάννα Πιττερού για την καθημερινή της στήριξη σε κάθε βήμα της διπλωματικής μου εργασίας και τη θετική της ενέργεια και αισιοδοξία σε κάθε δυσκολία που αντιμετώπισα. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλη την ομάδα του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας για την άριστη συνεργασία και που ήταν δίπλα μου σε οτιδήποτε χρειαζόμουν. Επίσης, ευχαριστώ θερμά τα εργαστήρια Πολυμερών και Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων για τη παροχή οργάνων και τη διεξαγωγή απαιτούμενων αναλύσεων, καθώς και της εταιρεία Korres Natural Products για τη προσφορά της πρώτης ύλης. Φυσικά, δεν θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω θερμά τους φίλους μου που με στήριξαν σε κάθε βήμα, μου χάρισαν αξέχαστες στιγμές και με βοηθούν να εξελίσσομαι καθημερινά. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου που με στήριξε καθ' όλη τη διάρκεια φοίτησής μου στη Σχολή Χημικών Μηχανικών και ειδικότερα τον αδερφό μου ο οποίος ήταν δίπλα μου κάθε στιγμή, σε κάθε δυσκολία.

Περίληψη

Η Πράσινη Χημεία είναι ο σχεδιασμός χημικών προϊόντων και διαδικασιών για τη μείωση ή την εξάλειψη της χρήσης και της παραγωγής επικίνδυνων ουσιών. Έτσι, στη παρούσα διπλωματική εργασία χρησιμοποιούνται οι φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (NaDES) που προέρχονται από την ανάμιξη δύο ή τριών συστατικών, ένα δέκτη δεσμού υδρογόνου και ένα δότη δεσμού υδρογόνου, σε συγκεκριμένη αναλογία δημιουργώντας μία νέα ευτηκτική φάση με χαμηλότερο σημείο τήξης από αυτό των επιμέρους συστατικών. Ακριβώς επειδή έχουν χαμηλή τοξικότητα και είναι βιοαποικοδομήσιμοι, αποτελούν κατάλληλα εκχυλιστικά μέσα προσδίδοντας προστιθέμενη αξία στα εκχυλίσματα και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πλαστικοποιητές της χιτοζάνης, η οποία είναι ένας κατιονικός πολυσακχαρίτης που λαμβάνεται από την αποακετυλίωση της χιτίνης.

Το άγριο τριαντάφυλλο (*Rosa Canina L.*) είναι ένα φυτό με πολλές και ποικίλες βιοδραστικές ενώσεις, συνεπώς η παραλαβή τους μέσω της εκχύλισης είναι αναγκαία για διάφορες εφαρμογές. Χρησιμοποιείται ήδη από την αρχαιότητα ως θεραπευτικό μέσο λόγω της αντιοξειδωτικής και αντιμικροβιακής του δράσης. Πλέον, βρίσκει εφαρμογή στις βιομηχανίες τροφίμων, καλλυντικών και φαρμάκων.

Στη παρούσα διπλωματική εργασία παρασκευάστηκαν τρεις NaDES (Bet:LA:W*, Gly:LA:W*, Gluc:LA:W*), οι οποίοι χαρακτηρίστηκαν ως προς το pH, τη πυκνότητα και τη πολικότητα. Στη συνέχεια, οι NaDES Bet:LA:W* και Gluc:LA:W* χρησιμοποιήθηκαν στην εκχύλιση του περιβλήματος του καρπού του άγριου τριαντάφυλλου, του υπολείμματος έπειτα από την επεξεργασία του καρπού για τη παραλαβή του αιθέριου ελαίου και των φύλλων ελιάς με τη βοήθεια υπερήχων (UAE). Έτσι, προσδιορίστηκε το ολικό περιεχόμενο σε φαινολικές ενώσεις (TPC) ίσο με 33,17, 12,29 και 12,61 mg ισοδύναμα γαλλικού οξέος ανά g άγριου τριαντάφυλλου, WR (GAL/g_{WR}) και το ολικό περιεχόμενο σε φλαβονοειδή (TFC) ίσο με 11,27, 10,84 και 0,24 mg ισοδύναμα κατεχίνης ανά g άγριου τριαντάφυλλου, WR (CAT/g_{WR}).

Έπειτα, παρασκευάστηκαν δεκαοκτώ φιλμ χιτοζάνης τα οποία χαρακτηρίστηκαν δομικά με φασματοσκοπία FT-IR χρησιμοποιώντας τους NaDES τόσο ως διαλύτες όσο και ως πλαστικοποιητές. Επιπλέον, για συγκριτικούς λόγους, παρασκευάστηκαν φιλμ χιτοζάνης με χρήση υδατικού διαλύματος οξικού οξέος. Στη συνέχεια, με στόχο την ενίσχυση της βιοδραστικότητας των φιλμ, χρησιμοποιήθηκαν ως διαλύτες και πλαστικοποιητές τα NaDES-εκχυλίσματα.

Προς διεύρυνση του πεδίου μελέτης, μελετήθηκε η επίδραση διαφόρων παραγόντων στις φυσικοχημικές και μηχανικές ιδιότητές τους. Πιο συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν χιτοζάνες διαφορετικών μοριακών βαρών (5-20 mPa·s και 20-100 mPa·s), μελετήθηκαν τρεις περιεκτικότητες NaDES ή NaDES-εκχύλισμα (1%, 2%, 5% w/v) και πέντε διαφορετικές περιεκτικότητες χιτοζάνης (0,04%, 0,1%, 0,2%, 0,5%, 1% w/v).

Συγκεκριμένα, η μάζα των φιλμ κυμαίνεται μεταξύ 0,2938-0,4954 g, το πάχος μεταξύ 0,039-0,470 mm, η διαπερατότητα υδρατμών (WVP) στην ανάλυση των 24 h μεταξύ 3,6989E-11-2,5139E-10 $\frac{\text{g}}{\text{m}\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}}$, ενώ στην ανάλυση των 10 d μεταξύ 3,0991E-11-1,7266E-10 $\frac{\text{g}}{\text{m}\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}}$. Από τη μελέτη υφής των φιλμ χιτοζάνης προέκυψε ότι η προσκολλησιμότητα κυμαίνεται μεταξύ 0,040-0,1454 N·s, η συνεκτικότητα μεταξύ 0,9765-1,1054, η ελαστικότητα μεταξύ 0,9621-1,0020, η ανθεκτικότητα μεταξύ 0,2024-0,5212, η σκληρότητα μεταξύ 1,6788-31,9695 N και η ευθραυστότητα μεταξύ 26,6550-33,1373 mm.

Από τη μελέτη διαλυτότητας των φιλμ στο νερό προέκυψε ότι τα φιλμ που παρασκευάστηκαν με τη χρήση NaDES Bet:LA:W* είναι πλήρως υδατοδιαλυτά, ενώ τα φιλμ που παρασκευάστηκαν με τη χρήση NaDES Gluc:LA:W* και NaDES-εκχύλισμα παρουσιάζουν τιμές διαλυτότητας μεταξύ 33,33-81,53%. Όλα τα φιλμ χαρακτηρίστηκαν ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση και βρέθηκε ότι κυμαίνεται μεταξύ 59,78-86,38%. Τέλος, κρίθηκε σκόπιμη η διερεύνηση βιοαποικοδομησιμότητας των φιλμ που προέκυψαν από την εκχύλιση της βιομάζας που προέκυψε ως υπόλειμμα από την επεξεργασία καρπών άγριου τριαντάφυλλου. Από τη μελέτη αυτή, συμπεραίνεται ότι το φιλμ με περιεκτικότητα εκχυλίσματος 1% w/v έχει βιοαποικοδομηθεί πλήρως στις 2 ημέρες, ενώ το φιλμ με περιεκτικότητα εκχυλίσματος 2% w/v έχει βιοαποικοδομηθεί κατά 89,30% στις 2 ημέρες.

Λέξεις Κλειδιά: Πράσινη Χημεία, Φυσικοί Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες, Άγριο Τριαντάφυλλο, Εκχύλιση, Φαινολικές Ενώσεις, Φλαβονοειδή, Φιλμ, Βιομάζα, Αντίδραση Maillard.

Abstract

Green Chemistry is the design of chemicals and processes to reduce or eliminate the use and production of hazardous substances. Thus, this thesis uses natural deep eutectic solvents (NaDES) which are derived from the mixing of two or three components, a hydrogen bond acceptor and a hydrogen bond donor, in a specific ratio creating a new eutectic phase with a lower melting point than that of the individual components. Due to their low toxicity and their biodegradability, they are suitable extractive agents, adding value to the extracts and can be used as plasticisers of chitosan, which is a cationic polysaccharide obtained from the deacetylation of chitin.

Wild rose (*Rosa Canina L.*) is a plant with many and varied bioactive compounds, therefore their recovery by extraction is necessary for various applications. It has been used since ancient times as a therapeutic agent due to its antioxidant and antimicrobial activity. It is nowadays used in the food, cosmetics and pharmaceutical industries.

In this thesis, three NaDES (Bet:LA:W*, Gly:LA:W*, Gluc:LA:W*) were prepared and characterized in terms of pH, density and polarity. Then, NaDES Bet:LA:W* and Gluc:LA:W* were used in the extraction of wild rose fruit hulls, the residue after processing the fruit to obtain essential oil and olive leaves by ultrasound-assisted extraction (UAE). Thus, the total phenolic compound content (TPC) was determined to be 33.17, 12.29 and 12.61 mg gallic acid/g WR and the total flavonoid content (TFC) was determined to be 11.27, 10.84 and 0.24 mg catechin/g WR.

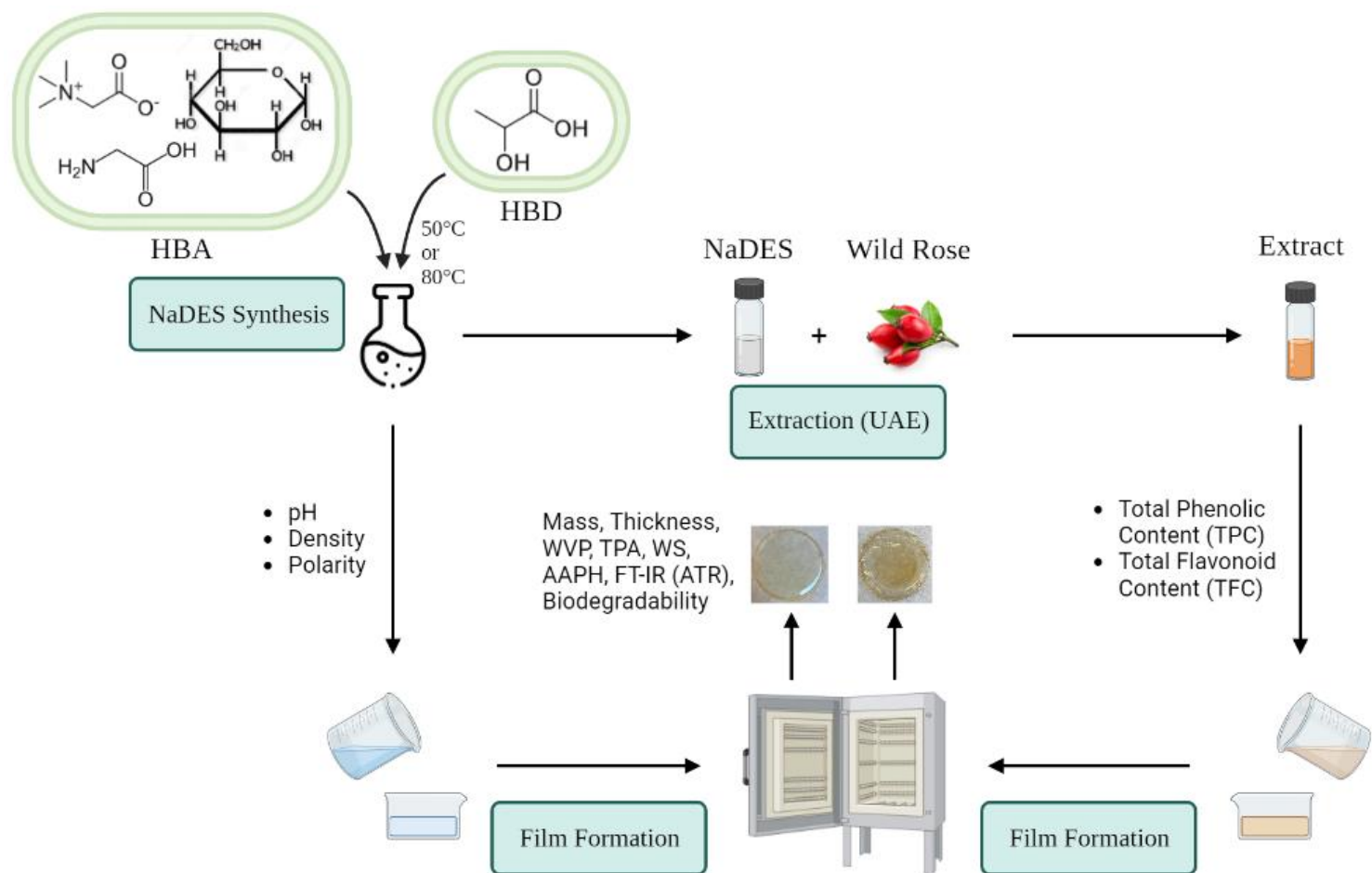
Then, eighteen chitosan films were prepared and structurally characterized by FT-IR spectroscopy using NaDES as both solvents and plasticizers. In addition, for comparative purposes, chitosan films were prepared using an aqueous solution of acetic acid. Then, in order to enhance the bioactivity of the films, NaDES-extracts were used as solvents and plasticizers.

To broaden the scope of study, the effect of various factors on their physicochemical and mechanical properties was investigated. In particular, chitosan of different molecular weights (5-20 mPa·s and 20-100 mPa·s) were used, three NaDES or NaDES-extract contents (1%, 2%, 5% w/v) and five different chitosan contents (0.04%, 0.1%, 0.2%, 0.5%, 1% w/v) were studied.

In particular, the mass of the films ranges between 0.2938-0.4954 g, the thickness between 0.039-0.470 mm, the water vapour permeability (WVP) in the 24 h analysis between $3.6989\text{E-}11$ - $2.5139\text{E-}10 \frac{\text{g}}{\text{m}\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}}$, and in the 10 d analysis between $3.0991\text{E-}11$ - $1.7266\text{E-}10 \frac{\text{g}}{\text{m}\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}}$. The texture of the films was also studied and it was found that the adhesion ranged between 0.040-0.1454 N·s, cohesiveness between 0.9765-1.1054, flexibility between 0.9621-1.0020, toughness between 0.2024-0.5212, burst strength between 1.6788-31.9695 N and distance at burst between 26.6550-33.1373 mm. The water solubility study of the films revealed that the films prepared using NaDES Bet:LA:W* are fully water soluble, while the films prepared using NaDES Gluc:LA:W* and NaDES-extract content exhibit solubility values between 33.33-81.53%. All the films were characterized for their antioxidant activity and found to range between 59.78-86.38%. Finally, it was considered useful to investigate the biodegradability of the films obtained from the extraction of the biomass obtained as a residue from the processing of wild rose fruit. From this study, it is concluded that the film with 1% w/v extract content has been fully biodegraded in 2 days, while the film with 2% w/v extract content has been 89.30% biodegraded in 2 days.

Keywords: Green Chemistry, Natural Deep Eutectic Solvents, Wild Rose, Extraction, Phenolic Compounds, Flavonoids, Membrane, Biomass, Maillard Reaction.

Graphic Abstract



Περιεχόμενα

| | |
|---|----|
| Πρόλογος..... | 2 |
| Περίληψη..... | 3 |
| Abstract..... | 5 |
| Graphic Abstract..... | 7 |
| Κατάλογος Σχημάτων | 12 |
| Κατάλογος Πινάκων | 13 |
| Κατάλογος Διαγραμμάτων | 15 |
| 1. Θεωρητικό Μέρος..... | 19 |
| 1.1. Εισαγωγή στην Πράσινη Χημεία | 19 |
| 1.2. Πράσινοι Διαλύτες | 20 |
| 1.2.1. Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (Deep Eutectic Solvents, DES)..... | 20 |
| 1.2.2. Φυσικοί Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (Natural Deep Eutectic Solvents, NaDES) | 22 |
| 1.2.3. Μέθοδοι Παρασκευής των DES και των NaDES..... | 24 |
| 1.2.3.1. Θέρμανση..... | 24 |
| 1.2.3.2. Λυοφιλίωση..... | 24 |
| 1.2.3.3. Εξάτμιση υπό κενό..... | 24 |
| 1.2.4. Φυσικοχημικές Ιδιότητες των DES και των NaDES | 24 |
| 1.2.4.1. pH | 24 |
| 1.2.4.2. Πυκνότητα..... | 24 |
| 1.2.4.3. Πολικότητα..... | 25 |
| 1.2.4.4. Ιξώδες..... | 25 |
| 1.2.4.5. Επιφανειακή Τάση | 26 |
| 1.2.4.6. Αγωγιμότητα | 26 |
| 1.2.4.7. Επίδραση προσθήκης νερού | 26 |
| 1.2.5. Εφαρμογές των DES και των NaDES..... | 26 |
| 1.2.6. Συστατικά των DES και NaDES | 27 |
| 1.2.6.1. Βεταΐνη (C ₅ H ₁₁ NO ₂)..... | 27 |
| 1.2.6.2. Γλυκίνη (C ₂ H ₅ NO ₂) | 28 |
| 1.2.6.3. Γλυκόζη (C ₆ H ₁₂ O ₆)..... | 28 |
| 1.2.6.4. Γαλακτικό Οξύ (C ₃ H ₆ O ₃) | 29 |
| 1.3. Μέθοδοι Εκχύλισης..... | 29 |
| 1.3.1. Συμβατικές ή Κλασικές Μέθοδοι | 31 |
| 1.3.1.1. Διαβροχή..... | 31 |
| 1.3.1.2. Διήθηση..... | 31 |

| | | |
|----------|--|----|
| 1.3.1.3. | Χώνευση | 31 |
| 1.3.1.4. | Έγχυση..... | 31 |
| 1.3.1.5. | Εκχύλιση Soxhlet..... | 31 |
| 1.3.2. | Μη Συμβατικές ή Καινοτόμες Μέθοδοι | 32 |
| 1.3.2.1. | Εκχύλιση με Υπερήχους (UAE)..... | 32 |
| 1.3.2.2. | Εκχύλιση με Μικροκύματα (MAE)..... | 33 |
| 1.3.2.3. | Εκχύλιση με Υπερκρίσιμα Υγρά (SFE)..... | 34 |
| 1.3.2.4. | Εκχύλιση με Υγρά υπό Πίεση (PLE) ή Επιταχυνόμενη Εκχύλιση με Διαλύτη (ASE) | 35 |
| 1.4. | Άγριο Τριαντάφυλλο | 35 |
| 1.4.1. | Σύσταση Άγριου Τριαντάφυλλου | 36 |
| 1.4.2. | Ιδιότητες Άγριου Τριαντάφυλλου | 37 |
| 1.4.3. | Εφαρμογές Άγριου Τριαντάφυλλου | 37 |
| 1.5. | Φαινολικές Ενώσεις..... | 38 |
| 1.5.1. | Φαινολικά Οξέα..... | 39 |
| 1.5.2. | Φλαβονοειδή | 39 |
| 1.6. | Χιτοζάνη (CS)..... | 40 |
| 1.6.1. | Αντίδραση Maillard..... | 41 |
| 1.6.2. | Φιλμ Χιτοζάνης..... | 42 |
| 1.6.2.1. | Ιδιότητες των Φιλμ Χιτοζάνης | 42 |
| 1.6.2.2. | Εφαρμογές των Φιλμ Χιτοζάνης..... | 43 |
| 2. | Πειραματικό Μέρος..... | 46 |
| 2.1. | Σκοπός | 46 |
| 2.2. | Όργανα, Συσκευές και Χημικά Αντιδραστήρια | 46 |
| 2.3. | Παρασκευή NaDES..... | 47 |
| 2.3.1. | Βεταΐνη:DL Γαλακτικό Οξύ 1:2:2,5 | 48 |
| 2.3.2. | Γλυκίνη:DL Γαλακτικό Οξύ 1:5:6,2 | 48 |
| 2.3.3. | Γλυκόζη:DL Γαλακτικό Οξύ 1:5:6,2 | 48 |
| 2.4. | Χαρακτηρισμός NaDES..... | 48 |
| 2.4.1. | Μέτρηση pH..... | 48 |
| 2.4.2. | Μέτρηση Πυκνότητας | 49 |
| 2.4.3. | Μέτρηση Πολικότητας | 49 |
| 2.5. | Εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπερήχους (UAE) | 50 |
| 2.6. | Χαρακτηρισμός Εκχυλισμάτων | 50 |
| 2.6.1. | Μέτρηση Ολικού Περιεχόμενου Φαινολικών Ενώσεων των εκχυλισμάτων (TPC) 50 | |

| | | |
|----------|---|----|
| 2.6.2. | Μέτρηση Ολικού Περιεχόμενου Φλαβονοειδών Ενώσεων των ειχυλισμάτων (TFC)..... | 51 |
| 2.7. | Σχηματισμός Φιλμ Φυσικών Βαθέως Ευτηκτικών Διαλυτών-Χιτοζάνης | 53 |
| 2.8. | Χαρακτηρισμός Φιλμ..... | 54 |
| 2.8.1. | Μέτρηση Μάζας | 54 |
| 2.8.2. | Μέτρηση Πάχους..... | 54 |
| 2.8.3. | Μέτρηση Διαπερατότητας Υδρατμών, Water Vapor Permeability (WVP) | 54 |
| 2.8.4. | Ανάλυση Υφής, Texture Profile Analysis (TPA)..... | 55 |
| 2.8.4.1. | Δοκιμή Συμπίεσης | 56 |
| 2.8.4.2. | Δοκιμή Θραύσης..... | 57 |
| 2.8.5. | Δοκιμές Διαλυτότητας..... | 57 |
| 2.8.5.1. | Μέθοδος Pereira-Andrade, Water Solubility (WS) | 57 |
| 2.8.5.2. | Χρήση Διαλύματος Καυστικού Νατρίου (NaOH, 1 M) | 58 |
| 2.8.6. | Μέτρηση Αντιοξειδωτικής Δράσης – AAPH..... | 58 |
| 2.8.7. | Φασματοσκοπία Υπερύθρου FT-IR (ATR)..... | 60 |
| 2.9. | Μελέτη Βιοαποικοδομησιμότητας | 60 |
| 3. | Αποτελέσματα – Συζήτηση | 63 |
| 3.1. | Χαρακτηρισμός NaDES..... | 63 |
| 3.1.1. | Μέτρηση pH..... | 63 |
| 3.1.2. | Μέτρηση Πυκνότητας | 65 |
| 3.1.3. | Μέτρηση Πολικότητας | 66 |
| 3.2. | Χαρακτηρισμός Ειχυλισμάτων | 66 |
| 3.2.1. | Μέτρηση Ολικού Περιεχόμενου Φαινολικών Ενώσεων (TPC) | 66 |
| 3.2.2. | Μέτρηση Ολικού Περιεχόμενου Φλαβονοειδών Ενώσεων (TFC)..... | 68 |
| 3.3. | Σχηματισμός Φιλμ Φυσικών Βαθέως Ευτηκτικών Διαλυτών-Χιτοζάνης | 69 |
| 3.4. | Χαρακτηρισμός Φιλμ..... | 73 |
| 3.4.1. | Μέτρηση Μάζας | 73 |
| 3.4.2. | Μέτρηση Πάχους..... | 75 |
| 3.4.3. | Μέτρηση Διαπερατότητας Υδρατμών, Water Vapor Permeability (WVP) | 76 |
| 3.4.4. | Ανάλυση Υφής, Texture Profile Analysis (TPA)..... | 81 |
| 3.4.4.1. | Δοκιμή Συμπίεσης | 81 |
| 3.4.4.2. | Δοκιμή Θραύσης..... | 83 |
| 3.4.5. | Δοκιμές Διαλυτότητας..... | 85 |
| 3.4.5.1. | Μέθοδος Pereira-Andrade, Water Solubility (WS) | 85 |
| 3.4.5.2. | Χρήση Διαλύματος Καυστικού Νατρίου (NaOH, 1 M) | 87 |
| 3.4.6. | Μέτρηση Αντιοξειδωτικής Δράσης – AAPH..... | 87 |

| | |
|---|-----|
| 3.4.7. Φασματοσκοπία Υπερύθρου FT-IR (ATR)..... | 89 |
| 3.5. Μελέτη Βιοαποικοδομησιμότητας | 95 |
| 4. Συμπεράσματα..... | 97 |
| 5. Προτάσεις Μελλοντικής Έρευνας..... | 101 |
| Βιβλιογραφία..... | 103 |
| Παράρτημα 1 – Δοκιμή Συμπίεσης..... | 109 |
| Παράρτημα 2 – Δοκιμή Θραύσης | 116 |

Κατάλογος Σχημάτων

| | |
|---|----|
| Σχήμα 1: Δώδεκα αρχές της Πράσινης Χημείας ^[3] | 20 |
| Σχήμα 2: Διάγραμμα φάσεων ιδανικού μίγματος και Βαθέως Ευτηκτικού Διαλύτη ^[7] | 21 |
| Σχήμα 3: Δέκτες (HBA) και Δότες Δεσμού Υδρογόνου (HBD) των Βαθέως Ευτηκτικών Διαλυτών (DES) ^[8] | 21 |
| Σχήμα 4: Δέκτες (HBA) και Δότες Δεσμού Υδρογόνου (HBD) των Φυσικών Βαθέως Ευτηκτικών Διαλυτών (NaDES) | 23 |
| Σχήμα 5: Μέθοδοι εκχύλισης στερεού υγρού, με υγρά υπό πίεση, με υπερήχους, με μικροκύματα και με υπερκρίσιμα υγρά ^[39] | 30 |
| Σχήμα 6: Διάταξη εκχύλισης Soxhlet ^[38] | 32 |
| Σχήμα 7: Διάταξη εκχύλισης με υπερήχους (UAE) ^[38] | 33 |
| Σχήμα 8: Διάταξη εκχύλισης με μικροκύματα (MAE) ^[38] | 34 |
| Σχήμα 9: Διάταξη εκχύλισης με υπερκρίσιμα υγρά (SFE) ^[38] | 34 |
| Σχήμα 10: Διάταξη εκχύλισης με υγρά υπό πίεση (PLE) ^[38] | 35 |
| Σχήμα 11: Καρποί άγριου τριαντάφυλλου (<i>Rosa Canina L.</i>) ^[46] | 36 |
| Σχήμα 12: Μέρη του άγριου τριαντάφυλλου (<i>Rosa Canina L.</i>) ^[46] | 36 |
| Σχήμα 13: Δομές φαινολικών οξέων ^[47] | 39 |
| Σχήμα 14: Δομές φλαβονοειδών ενώσεων ^[47] | 40 |
| Σχήμα 15: Χημική δομή χιτίνης και χιτοζάνης ^[36] | 40 |
| Σχήμα 16: Ερυθρό του Νείλου | 49 |
| Σχήμα 17: Κρυσταλλωτήρια με υδατικό διάλυμα χιτοζάνης-NaDES στον φούρνο προς σχηματισμό φιλμ | 53 |
| Σχήμα 18: Ψηφιακό παχύμετρο | 54 |
| Σχήμα 19: Φιλμ σε vial προς μέτρηση διαλυτότητας υδρατμών | 55 |
| Σχήμα 20: Αναλυτής υφής TA-XT2i | 55 |
| Σχήμα 21: Φιλμ τοποθετημένο στη πλάκα στήριξης | 56 |
| Σχήμα 22: Probe για δοκιμή συμπίεσης | 56 |
| Σχήμα 23: Probe για δοκιμή θραύσης | 57 |
| Σχήμα 24: Δείγμα φιλμ προς μέτρηση διαλυτότητας | 58 |
| Σχήμα 25: Φασματόμετρο FT-IR Bruker Alpha II | 60 |
| Σχήμα 26: Δείγματα φιλμ σε βάθος 6 cm προς μελέτη βιοαποικοδομησιμότητας | 61 |

Κατάλογος Πινάκων

| | |
|---|----|
| Πίνακας 1: Κυριότερες κατηγορίες DES ^[4] | 22 |
| Πίνακας 2: Όργανα και συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν | 46 |
| Πίνακας 3: Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν | 46 |
| Πίνακας 4: Συστατικά, μοριακή αναλογία και συνθήκες παρασκευής NaDES..... | 47 |
| Πίνακας 5: Συστατικά και χημικές δομές των NaDES και μοριακό βάρος των επιμέρους συστατικών..... | 47 |
| Πίνακας 6: Ποσότητες NaDES και νερού προς σχηματισμό αραιώσεων | 48 |
| Πίνακας 7: Φιλμ CS-NaDES/NaDES-Extr, περιεκτικότητα υδατικού διαλύματος, μοριακό βάρος και περιεκτικότητα χιτοζάνης και επαναλήψεις κάθε φιλμ..... | 53 |
| Πίνακας 8: Ρυθμίσεις αναλυτή υφής για δοκιμή συμπίεσης..... | 56 |
| Πίνακας 9: Ρυθμίσεις αναλυτή υφής για δοκιμή θραύσης..... | 57 |
| Πίνακας 10: Μετρήσεις pH για NaDES Βεταΐνη-D,L-Γαλακτικό Οξύ (Bet:LA:W*) | 63 |
| Πίνακας 11: Μετρήσεις pH για NaDES Γλυκίνη-D,L-Γαλακτικό Οξύ (Gly:LA:W*)..... | 63 |
| Πίνακας 12: Μετρήσεις pH για NaDES Γλυκόζη-D,L-Γαλακτικό Οξύ (Gluc:LA:W*)..... | 63 |
| Πίνακας 13: Ζύγιση 100 μ L από κάθε NaDES 8 φορές..... | 65 |
| Πίνακας 14: Μέσος όρος μάζας, όγκος που ζυγίστηκε και πυκνότητα των NaDES..... | 65 |
| Πίνακας 15: Πολικότητα των NaDES με χρήση του δείκτη Nile Red | 66 |
| Πίνακας 16: Τιμές blank και απορροφήσεων για εκχύλισμα περιβλήματος και βιομάζας στα 755 nm..... | 66 |
| Πίνακας 17: Τιμές συγκέντρωσης εκχυλίσματος C_{gal} | 67 |
| Πίνακας 18: Τιμές ολικού περιεχόμενου φαινολικών ενώσεων (TPC)..... | 67 |
| Πίνακας 19: Τιμές blank και απορροφήσεων για εκχύλισμα περιβλήματος και βιομάζας στα 510 nm..... | 68 |
| Πίνακας 20: Τιμές συγκέντρωσης εκχυλίσματος C_{cat} | 68 |
| Πίνακας 21: Τιμές ολικού περιεχόμενου φλαβονοειδών ενώσεων (TFC) | 68 |
| Πίνακας 22: Σχηματισμός φιλμ με χρήση οξικού οξέος..... | 69 |
| Πίνακας 23: Σχηματισμός φιλμ με χρήση NaDES Bet:LA:W* | 69 |
| Πίνακας 24: Σχηματισμός φιλμ με χρήσης NaDES Gly:LA:W* | 71 |
| Πίνακας 25: Σχηματισμός φιλμ με χρήση NaDES Gluc:LA:W* | 71 |
| Πίνακας 26: Σχηματισμός φιλμ με χρήση εκχυλισμάτων περιβλήματος καρπού άγριου τριαντάφυλλου, βιομάζας και φύλλων ελιάς..... | 72 |
| Πίνακας 27: Υπολογισμός μάζας φιλμ | 73 |
| Πίνακας 28: Μέτρηση πάχους φιλμ | 75 |
| Πίνακας 29: Απώλεια μάζας συστήματος για μέτρηση διαπερατότητας υδρατμών WVP για 24 ώρες..... | 76 |
| Πίνακας 30: Απώλεια μάζας συστήματος για μέτρηση διαπερατότητας υδρατμών WVP για 10 ημέρες..... | 77 |
| Πίνακας 31: Ρυθμός απώλειας μάζας του συστήματος για χρονικά διαστήματα 24 ωρών και 10 ημερών | 79 |
| Πίνακας 32: Διαπερατότητα υδρατμών WVP για κάθε φιλμ για χρονικά διαστήματα 24 ωρών και 10 ημερών | 79 |
| Πίνακας 33: Προσκολλησιμότητα, συνεκτικότητα, ελαστικότητα και ανθεκτικότητα κάθε φιλμ | 82 |
| Πίνακας 34: Σκληρότητα και ευθραυστότητα κάθε φιλμ..... | 84 |
| Πίνακας 35: Εμβαδόν επιφάνειας και όγκος υπερκάθαρου νερού για κάθε φιλμ για μέτρηση διαλυτότητας (WS) | 85 |
| Πίνακας 36: Υπολογισμός διαλυτότητας (WS) για κάθε φιλμ..... | 86 |

| | |
|--|----|
| Πίνακας 37: pH διαλυμάτων κατά τη μελέτη διαλυτότητας με χρήση διαλύματος NaOH | 87 |
| Πίνακας 38: Απορροφήσεις AAPH και Control για τα φιλμ V7 και V12 | 87 |
| Πίνακας 39: Απορροφήσεις AAPH και Control για τα φιλμ V8, V13, V16, V17 και V18.. | 88 |
| Πίνακας 40: Απορροφήσεις των φιλμ | 88 |
| Πίνακας 41: Αντιοξειδωτική δράση των φιλμ μέσω της μεθόδου AAPH | 88 |

Κατάλογος Διαγραμμάτων

| | |
|--|-----|
| Διάγραμμα 1: Καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος | 51 |
| Διάγραμμα 2: Καμπύλη αναφοράς κατεχίνης | 52 |
| Διάγραμμα 3: Γραφική παράσταση του pH συναρτήσει της % περιεκτικότητας σε NaDES για το Bet:LA:W* | 64 |
| Διάγραμμα 4: Γραφική παράσταση του pH συναρτήσει της % περιεκτικότητας σε NaDES για το Gly:LA:W* | 64 |
| Διάγραμμα 5: Γραφική παράσταση του pH συναρτήσει της % περιεκτικότητας σε NaDES για το Gluc:LA:W* | 64 |
| Διάγραμμα 6: Διάγραμμα μεταβολής μάζας του συστήματος συναρτήσει του χρόνου σε ώρες | 78 |
| Διάγραμμα 7: Διάγραμμα μεταβολής μάζας του συστήματος συναρτήσει του χρόνου σε ημέρες | 78 |
| Διάγραμμα 8: Διαπερατότητα υδρατμών των φιλμ για χρονικό διάστημα 24 ωρών | 80 |
| Διάγραμμα 9: Διαπερατότητα υδρατμών των φιλμ για χρονικό διάστημα 10 ημερών .. | 80 |
| Διάγραμμα 10: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δοκιμή συμπίεσης..... | 81 |
| Διάγραμμα 11: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δοκιμή θραύσης..... | 83 |
| Διάγραμμα 12: Διαλυτότητα των φιλμ (WS) | 86 |
| Διάγραμμα 13: Φάσμα FT-IR (ATR) για τη χιτοζάνη 5-20 mPa·s | 89 |
| Διάγραμμα 14: Φάσμα FT-IR (ATR) για τη χιτοζάνη 20-100 mPa·s..... | 90 |
| Διάγραμμα 15: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Bet:LA:W* 1% w/v, CS 5-20 mPa·s, 0,2% w/v (V3) | 90 |
| Διάγραμμα 16: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Bet:LA:W* 1% w/v, CS 20-100 mPa·s, 0,2% w/v (V4)..... | 91 |
| Διάγραμμα 17: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Gluc:LA:W* 1% w/v, CS 5-20 mPa·s, 0,2% w/v (V7)..... | 91 |
| Διάγραμμα 18: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Gluc:LA:W* 1% w/v, CS 20-100 mPa·s, 0,2% w/v (V8)..... | 92 |
| Διάγραμμα 19: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Bet:LA:W* 5% w/v, CS 20-100 mPa·s, 1% w/v (V11) | 92 |
| Διάγραμμα 20: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Bet:LA:W*-Extract 1% w/v, CS 20-100 mPa·s, 0,2% w/v (V12)..... | 93 |
| Διάγραμμα 21: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Bet:LA:W*-Extract 2% w/v, CS 20-100 mPa·s, 0,2% w/v (V13)..... | 93 |
| Διάγραμμα 22: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Bet:LA:W*-Biomass 1% w/v, CS 20-100 mPa·s, 0,2% w/v (V16)..... | 94 |
| Διάγραμμα 23: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Bet:LA:W*-Biomass 2% w/v, CS 20-100 mPa·s, 0,2% w/v (V17)..... | 94 |
| Διάγραμμα 24: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Gluc:LA:W*-Olive 1% w/v, CS 20-100 mPa·s, 0,2% w/v (V18)..... | 95 |
| Διάγραμμα 25: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V3 | 109 |
| Διάγραμμα 26: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V3 | 109 |
| Διάγραμμα 27: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για τρίτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V3 | 109 |
| Διάγραμμα 28: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για τέταρτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V3 | 110 |

| | |
|---|-----|
| Διάγραμμα 29: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για πέμπτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V3 | 110 |
| Διάγραμμα 30: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για έκτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V3 | 110 |
| Διάγραμμα 31: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V4 | 111 |
| Διάγραμμα 32: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V4 | 111 |
| Διάγραμμα 33: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για τρίτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V4 | 111 |
| Διάγραμμα 34: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για τέταρτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V4 | 112 |
| Διάγραμμα 35: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V11 | 112 |
| Διάγραμμα 36: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V11 | 112 |
| Διάγραμμα 37: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V8 | 113 |
| Διάγραμμα 38: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V8 | 113 |
| Διάγραμμα 39: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V12 | 113 |
| Διάγραμμα 40: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V12 | 114 |
| Διάγραμμα 41: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V13 | 114 |
| Διάγραμμα 42: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V13 | 114 |
| Διάγραμμα 43: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V16. | 115 |
| Διάγραμμα 44: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V17 | 115 |
| Διάγραμμα 45: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V17 | 115 |
| Διάγραμμα 46: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή θραύσης του φιλμ V3 | 116 |
| Διάγραμμα 47: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή θραύσης του φιλμ V3 | 116 |
| Διάγραμμα 48: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για τρίτη δοκιμή θραύσης του φιλμ V3 | 116 |
| Διάγραμμα 49: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή θραύσης του φιλμ V4 | 117 |
| Διάγραμμα 50: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή θραύσης του φιλμ V4 | 117 |
| Διάγραμμα 51: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για τρίτη δοκιμή θραύσης του φιλμ V4 | 117 |
| Διάγραμμα 52: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για τέταρτη δοκιμή θραύσης του φιλμ V4 | 118 |
| Διάγραμμα 53: Δύναμη συναρτήσσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή θραύσης του φιλμ V11 | 118 |

| | |
|---|-----|
| Διάγραμμα 54: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή θραύσης του φιλιμ V11 | 118 |
| Διάγραμμα 55: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή θραύσης του φιλιμ V12 | 119 |
| Διάγραμμα 56: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή θραύσης του φιλιμ V12 | 119 |
| Διάγραμμα 57: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δοκιμή θραύσης του φιλιμ V13 | 119 |
| Διάγραμμα 58: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή θραύσης του φιλιμ V16 | 120 |
| Διάγραμμα 59: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή θραύσης του φιλιμ V16 | 120 |
| Διάγραμμα 60: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή θραύσης του φιλιμ V17 | 120 |
| Διάγραμμα 61: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή θραύσης του φιλιμ V17 | 121 |

Κεφάλαιο 1

Θεωρητικό Μέρος

1. Θεωρητικό Μέρος

1.1. Εισαγωγή στην Πράσινη Χημεία

Στις αρχές του 1990 ξεκίνησε μία παγκόσμια στροφή προς την Πράσινη Χημεία. Ως Πράσινη Χημεία ορίζεται ο σχεδιασμός χημικών προϊόντων και διαδικασιών για τη μείωση ή την εξάλειψη της χρήσης και της παραγωγής επικίνδυνων ουσιών.^[1] Βασικός στόχος της αποτελεί η ελάττωση των κινδύνων που αφορούν τον άνθρωπο και το περιβάλλον μέσω επανασχεδιασμού τοξικών μορίων και τροποποίησης συνθετικών μηχανισμών και βιομηχανικών διεργασιών.^[2]

Η Πράσινη Χημεία ακολουθεί δώδεκα αρχές οι οποίες στηρίζονται στη βιωσιμότητα και την αειφορία.^[2] Πιο συγκεκριμένα, οι αρχές αυτές στηρίζονται στον σχεδιασμό και στοχεύουν στην ελαχιστοποίηση κατανάλωσης ενέργειας, στην πρόληψη παραγωγής αποβλήτων, στην χρήση λιγότερο επικίνδυνων χημικών συνθέσεων, στην αξιοποίηση ανανεώσιμων πρώτων υλών και τέλος, στην χρήση ασφαλέστερων διαλυτών και χημικών για την πρόληψη ατυχημάτων.^[2, 3] Στο Σχήμα 1 φαίνονται οι δώδεκα αρχές της Πράσινης Χημείας καθώς και πιθανοί τρόποι για να επιτευχθεί κάθε μία από αυτές.^[3]

Αναλυτικότερα, η πρώτη αρχή αφορά την πρόληψη παραγωγής αποβλήτων καθώς είναι ευκολότερη η πρόληψη από την κατεργασία και τον καθαρισμό τους εφόσον έχουν σχηματιστεί. Η δεύτερη αρχή είναι η οικονομία των ατόμων, δηλαδή η μεγιστοποίηση της ενσωμάτωσης όλων των ατόμων των αντιδρώντων στο τελικό προϊόν ώστε να μην σχηματίζονται υπολείμματα. Οι λιγότερο επικίνδυνες χημικές συνθέσεις αποτελούν την τρίτη αρχή, δηλαδή οι συνθετικές μέθοδοι θα πρέπει να σχεδιάζονται για τη χρήση και τη δημιουργία ουσιών που έχουν μικρή ή καθόλου τοξικότητα για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον. Απαραίτητο είναι ο σχεδιασμός ασφαλέστερων χημικών (τέταρτη αρχή), καθώς τα χημικά προϊόντα θα πρέπει να σχεδιάζονται με τέτοιο τρόπο ώστε να διατηρούν την ίδια αποτελεσματικότητα με ταυτόχρονη μείωση της τοξικότητας.^[2, 3]

Εξίσου σημαντική αρχή αποτελεί η αποφυγή χρήσης διαλυτών ή όπου χρησιμοποιούνται να είναι αβλαβείς και οι βοηθητικές ουσίες να είναι ασφαλείς για τον άνθρωπο και το περιβάλλον (πέμπτη αρχή). Η έκτη αρχή της Πράσινης Χημείας είναι ο σχεδιασμός για ενεργειακή αποτελεσματικότητα, δηλαδή είναι απαραίτητη η μείωση της απαιτούμενης ενέργειας στις χημικές διεργασίες και η διεξαγωγή των συνθετικών μεθόδων σε θερμοκρασία και πίεση περιβάλλοντος. Επιπρόσθετα, η χρήση ανανεώσιμων πρώτων υλών (έβδομη αρχή) είναι αναγκαία προκειμένου να μειωθεί η χρήση μη ανανεώσιμων πλουτοπαραγωγικών πηγών (μέταλλα, καύσιμα, πρώτες ύλες, κ.λπ.). Επίσης, η μείωση ενδιάμεσων παραγώγων είναι η όγδοη αρχή και είναι πολύ σημαντική καθώς τα στάδια αυτά απαιτούν επιπλέον αντιδραστήρια και δημιουργούν απόβλητα.^[2, 3]

Ακολουθεί η κατάλυση και η χρήση καταλυτικών αντιδραστηρίων, επειδή υπερτερούν των αντιδραστηρίων που επιβάλλει η στοιχειομετρία της αντίδρασης (ένατη αρχή). Ακόμη, η δέκατη αρχή περιγράφει τον σχεδιασμό προϊόντων που αποικοδομούνται εύκολα, δηλαδή έπειτα από το τέλος λειτουργίας τους να διασπώνται σε αβλαβή προϊόντα αποδόμησης και να μην παραμένουν στο περιβάλλον, όπως συμβαίνει με τα σημερινά προϊόντα που διατηρούνται ανέπαφα για μεγάλο χρονικό διάστημα. Σημαντική αποτελεί και η ενδέκατη αρχή της Πράσινης Χημείας, η οποία είναι η ανάλυση σε πραγματικό χρόνο για την πρόληψη της ρύπανσης, δηλαδή οι αναλυτικές μεθοδολογίες πρέπει να αναπτυχθούν περαιτέρω ώστε να επιτρέπουν την παρακολούθηση και τον έλεγχο σε πραγματικό χρόνο της διαδικασίας πριν από το σχηματισμό επικίνδυνων

ουσιών. Τέλος, δωδέκατη αρχή αποτελεί η εφαρμογή πρακτικών ασφαλέστερης χημείας για την πρόληψη ατυχημάτων, όπως είναι η επιλογή ουσίας και η μορφή αυτής.^[2, 3]



Σχήμα 1: Δώδεκα αρχές της Πράσινης Χημείας^[3]

1.2. Πράσινοι Διαλύτες

Η αυξανόμενη ζήτηση για οικολογικές διεργασίες οδήγησε στην ανακάλυψη νέων πράσινων διαλυτών.^[4] Μερικά παραδείγματα πράσινων διαλυτών είναι τα Ιοντικά Υγρά (ILs), οι Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (DES) και οι Φυσικοί Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (NaDES).^[4, 5]

Τα Ιοντικά Υγρά είναι οργανικά άλατα και βρίσκονται σε υγρή φάση σε θερμοκρασία μικρότερη των 100°C. Παρουσιάζουν σημαντικές ιδιότητες που τα καθιστούν πράσινους διαλύτες όπως η μη αναφλεξιμότητα, η ανακυκλωσιμότητα, η μη πτητικότητα, η χαμηλή πίεση ατμών και το υψηλό σημείο βρασμού. Ωστόσο, μερικές ιδιότητες όπως η τοξικότητα, το υψηλό κόστος, η περιπλοκότητα σύνθεσης, η χαμηλή βιοαποδομησιμότητα και η υψηλή υδατοδιαλυτότητα κάποιων ILs έχουν οδηγήσει στην αναζήτηση εναλλακτικών πράσινων διαλυτών, όπως οι DES και οι NaDES.^[4]

Οι DES και οι NaDES έχουν μεγάλο εύρος εφαρμογών με κυριότερη τη χρήση τους στην παραγωγή βιοκαυσίμων και βιοελαίου, καθώς δρουν ως μέσα αντίδρασης, ή ως εκχυλιστικοί παράγοντες και ως μέσα για τον συντονισμό των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων. Έτσι, η σημασία τους είναι μεγάλη εφόσον γίνεται προσπάθεια για μείωση της χρήσης ορυκτών καυσίμων, οδηγώντας στη μείωση περιβαλλοντικών, οικονομικών και κοινωνικών προβλημάτων.^[4]

1.2.1. Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (Deep Eutectic Solvents, DES)

Οι Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (DES) προκύπτουν από την ανάμιξη δύο ή τριών συστατικών, ένα δέκτη δεσμού υδρογόνου (Hydrogen Bond Acceptor, HBA) και ένα δότη δεσμού υδρογόνου (Hydrogen Bond Donor, HBD), σε συγκεκριμένη αναλογία και θερμοκρασία δημιουργώντας μία νέα ευτηκτική φάση με σημείο τήξης πολύ χαμηλότερο από αυτό των επιμέρους συστατικών.^[4-6] Η μείωση του σημείου τήξης ΔT , που συνήθως είναι 100-200°C, ορίζεται ως εξής:

$$\Delta T = T_{DES} - T_{ideal}$$

Όπου T_{DES} είναι το μετρούμενο σημείο πήξης ενός DES, T_{ideal} είναι το θεωρητικά προβλεπόμενο σημείο πήξης για ένα ιδανικό μείγμα.^[4] Η πτώση του σημείου τήξης αυτή

Η παρασκευή των DES προκύπτει από την ανάμιξη δύο ή περισσότερων συστατικών με την παροχή αρκετής ενέργειας προκειμένου να σχηματιστούν δεσμοί υδρογόνου. Σε πολλές περιπτώσεις και χωρίς παροχή ενέργειας σχηματίζεται DES. Υπάρχουν πολλές μέθοδοι σύνθεσης των DES, όπως η εξάτμιση του διαλύτη, η λυοφιλίωση, η υποβοήθηση με ακτινοβολία και κυριότερη η θέρμανση. Η μέθοδος παρασκευής έχει σημαντική επίδραση στο τελικό DES όσον αφορά τη φυσική εμφάνιση και τις φυσικοχημικές του ιδιότητες, όπως η ευτηκτική θερμοκρασία. Ωστόσο, δεν έχει καμία επίδραση στην ευτηκτική σύνθεση.^[7]

Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες περιγράφονται με την μορφή Cat^+X^-zY , όπου Cat είναι οποιοδήποτε κατιόν αμμωνιακού, σουλφονιακού ή φωσφονιακού άλατος, X είναι μία βάση κατά Lewis, συνήθως ένα ανιόν αλογόνου, και Y είναι μία βάση κατά Lewis ή Bronsted. Μεταξύ των X και Y αναπτύσσονται κυρίως δεσμοί υδρογόνου, αλλά πολλές φορές παρουσιάζονται ηλεκτροστατικές δυνάμεις και δυνάμεις Van Der Waals. Το μεγαλύτερο ποσοστό δεσμών υδρογόνου είναι διαμοριακοί και πραγματοποιούνται μεταξύ του δότη δεσμού υδρογόνου και του αλογόνου. Έτσι, σχηματίζεται ένα πλέγμα δεσμών υδρογόνου το οποίο καθορίζει και τις ιδιότητες του DES.^[9, 10] Οι κυριότερες κατηγορίες βαθέως ευτηκτικών διαλυτών παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.^[4]

Πίνακας 1: Κυριότερες κατηγορίες DES^[4]

| Τύπος | Χημικός Τύπος | Όροι |
|-------|---|----------------------------------|
| I | $Cat^+X^-zMCl_x^-$ | M=Zn, Sn, Fe, Al, Ga, In |
| II | $Cat^+X^-zMCl_xyH_2O$ | M=Cr, Co, Cu, Ni, Fe |
| III | Cat^+X^-zRZ | Z=CONH ₂ , COOH, OH |
| IV | $MCl_x^+RZ = MCl_{x-1}^+RZ + MCl_{x+1}^-$ | M=Al, Zn and Z=CONH ₂ |

Οι DES αποτελούν καλούς πράσινους διαλύτες λόγω πολλών ιδιοτήτων τους, όπως ο σύντομος χρόνος παρασκευής, το χαμηλό κόστος, η δυνητικά καλή βιοαποικοδομησιμότητα, η χαμηλή τοξικότητα, η χαμηλή πίεση ατμών, η χαμηλή πτητικότητα και η χημική και θερμική σταθερότητα.^[4, 8]

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

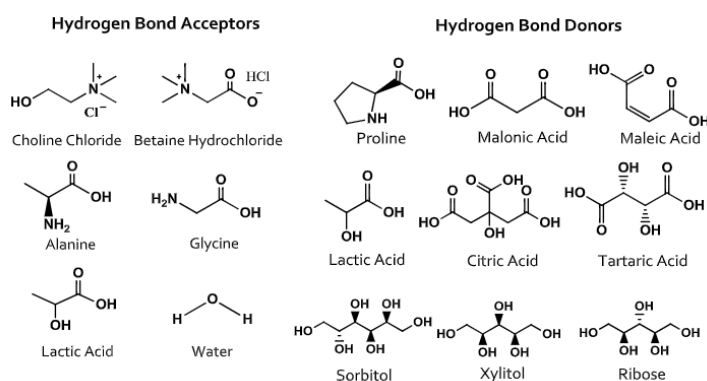
Το 2011 ο Choi όρισε μία νέα κατηγορία DES τους Φυσικούς Βαθέως Ευτηκτικούς Διαλύτες (NaDES) στην προσπάθειά του να εξηγήσει την ύπαρξη διαλυμένων εσωκυτταρικών συστατικών τα οποία, υπό φυσιολογικές συνθήκες, είναι αδιάλυτα στο νερό και στις λιπιδικές φάσεις.^[11] Έτσι, ως NaDES ορίζονται τα ευτηκτικά μίγματα που προέρχονται από την ανάμιξη φυσικών μορίων σε συγκεκριμένες αναλογίες.^[12] Πρόκειται για μίγματα που διαθέτουν μεταβολίτες οι οποίοι περιέχονται στα κύτταρα και καταβάλλουν σημαντικό ρόλο σε αρκετές βιολογικές διεργασίες.^[11]

Σχηματίζονται από την αλληλεπίδραση πρωτογενών μεταβολιτών των φυτικών κυττάρων, όπως λιπαρά οξέα, αλκοόλες και σάκχαρα και δημιουργούν ένα εναλλακτικό ως προς το νερό μέσο για διαλυτοποίηση, αποθήκευση και μετακίνηση μη-υδατοδιαλυτών δευτερογενών μεταβολιτών (όπως τα φαινολικά παράγωγα, τα φλαβονοειδή και οι ανθοκυανίνες).^[4, 11] Κατά τον σχηματισμό των NaDES δημιουργείται ένα δίκτυο δεσμών υδρογόνου το οποίο συγκρατεί τα μόρια H₂O που υπάρχουν εντός του κυττάρου. Κατ' επέκταση έχουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση του μεταβολισμού στα φυτά σε περίπτωση απουσίας νερού και στην αποφυγή του παγώματος των κυτταρικών μεμβρανών λόγω του χαμηλού ευτηκτικού σημείου που διαθέτουν.^[13]

Όπως προαναφέρθηκε, ο κυριότερος ρόλος των NaDES είναι η διαλυτοποίηση δυσδιάλυτων συστατικών στα φυτικά κύτταρα, βιοδραστικών μορίων καθώς και φυσικών προϊόντων με μικρό ή μεγάλο μοριακό βάρος, όπως το άμυλο, το DNA και οι πρωτεΐνες.^[4, 14] Η ιδιότητά τους αυτή οφείλεται στον σχηματισμό δεσμών υδρογόνου μεταξύ αυτών και των διαλυμένων ενώσεων, σχετίζεται με την πολικότητα των διαλυτών και μπορεί να ενισχυθεί με την προσθήκη νερού και την αύξηση θερμοκρασίας.^[14] Το δίκτυο δεσμών υδρογόνου περιέχει πολλούς τύπους δεσμών, όπως $\text{OH}\cdots\text{O}=\text{C}$, $\text{NH}\cdots\text{O}=\text{C}$, $\text{OH}\cdots\text{Cl}$, $\text{NH}\cdots\text{Cl}$, $\text{OH}\cdots\text{NH}$, $\text{CH}\cdots\text{Cl}$, $\text{CH}\cdots\text{O}=\text{C}$, $\text{NH}\cdots\text{OH}$ και $\text{NH}\cdots\text{NH}$.^[15]

Θεωρούνται εξαιρετικοί υποψήφιοι ως νέας γενιάς διαλύτες εκχύλισης καθώς η χρήση τους παράλληλα με σύγχρονες τεχνικές υψηλής ενέργειας εκχύλισης, όπως με υπερήχους (UAE) ή με τη βοήθεια μικροκυμάτων (MAE), βελτιώνει την απόδοση της εκχύλισης και μειώνει το χρόνο εκχύλισης.^[12] Εκτός αυτού δρουν και ως μέσα σταθεροποίησης ευπαθών ενώσεων λόγω του δικτύου δεσμών υδρογόνου που δημιουργείται.^[16]

Πλέον, οι πιο συνηθισμένοι φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες αποτελούν μίγματα οργανικών οξέων/σακχάρων, αμινοξέων/οργανικών οξέων και αμινοξέρων/σακχάρων. Όμως, συχνά παρασκευάζονται NaDES από μίγματα χλωριδίου της χολίνης (ChCl) με πλήθος φυσικών προϊόντων, όπως ChCl/οργανικά οξέα, ChCl/αλκοόλες και ChCl/σάκχαρα. Μερικοί δέκτες και δότες δεσμού υδρογόνου που μπορούν να αποτελέσουν επιμέρους συστατικά των NaDES απεικονίζονται στο Σχήμα 4.^[4]



Σχήμα 4: Δέκτες (HBA) και Δότες Δεσμού Υδρογόνου (HBD) των Φυσικών Βαθέως Ευτηκτικών Διαλυτών (NaDES)

Οι NaDES ταξινομούνται σε πέντε βασικές κατηγορίες σύμφωνα με την φύση των επιμέρους συστατικών τους. Αυτές είναι:

- ιοντικά υγρά NaDES, που περιέχουν ένα οξύ και μία βάση,
- ουδέτερα NaDES, που σχηματίζονται από σάκχαρα ή από σάκχαρα και πολυαλκοόλη,
- ουδέτερα NaDES με οξέα, που συντίθενται από σάκχαρα ή πολυαλκοόλη και από οργανικά οξέα
- ουδέτερα NaDES με βάσεις, που προκύπτουν με σάκχαρα ή πολυαλκοόλη και οργανική βάση,
- NaDES με βάση αμινοξέα, που σχηματίζονται από αμινοξέα και σάκχαρα ή από οργανικά οξέα.^[17]

Θεωρούνται ασφαλή και βιοδιασπώμενοι, επειδή τα συστατικά τους είναι μόρια που εμπεριέχονται στα κύτταρα. Έχουν την ικανότητα να διαλύουν πολικές και μη πολικές

ενώσεις και χαρακτηρίζονται από χαμηλή τοξικότητα, για αυτό και έχουν μεγάλο εύρος βιολογικών και βιοφαρμακευτικών εφαρμογών.^[7] Παρασκευάζονται εύκολα με χαμηλό κόστος και υπάρχει δυνατότητα ανακλιμάκωσης.^[4] Αναμειγνύονται με το νερό, είναι υγροσκοπικοί και τα υδατικά μίγματά τους (έως και 50 wt% H₂O) εμφανίζουν δραστικά μειωμένο ιξώδες.^[13] Υπερέχουν των ILs και των DES καθώς έχουν χαμηλή ή καθόλου τοξικότητα και είναι περισσότερο βιώσιμοι και φιλικοί προς το περιβάλλον.^[4]

1.2.3. Μέθοδοι Παρασκευής των DES και των NaDES

Υπάρχουν πολλές μέθοδοι παρασκευής των DES και των NaDES, όπως προαναφέρθηκε, μεταξύ των οποίων η θέρμανση, η λυοφιλίωση και η εξάτμιση υπό κενό.^[18] Λιγότερο σύνηθες μέθοδοι αποτελούν η λειοτρίβηση, η εξώθηση με διπλό κοχλία, η ακτινοβολία με μικροκύματα και η παρασκευή με την βοήθεια υπερήχων.^[19] Συνήθως, επιλέγεται η μέθοδος της θέρμανσης, καθώς είναι οικονομικότερη και ασφαλέστερη, ειδικά σε περιπτώσεις όπου ο DES αποτελείται από θερμικά ασταθή συστατικά, όπως σάκχαρα ή αμινοξέα.^[18]

1.2.3.1.Θέρμανση

Η συνηθέστερη μέθοδος παραγωγής των DES είναι η θέρμανση. Σε σφαιρική φιάλη προστίθενται τα επιμέρους συστατικά σύμφωνα με την απαιτούμενη γραμμομοριακή αναλογία. Στη συνέχεια, εισάγεται σε διάταξη ανάδευσης και θέρμανσης. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η σύνθεση των DES πραγματοποιείται σε διάφορες θερμοκρασίες με εύρος από θερμοκρασία περιβάλλοντος μέχρι 130 °C, ανάλογα με το σημείο τήξης και την σταθερότητα των αντιδραστηρίων, για χρονικό διάστημα μερικών ωρών έως ότου το μίγμα να γίνει διαυγές. Στην περίπτωση διαλυτών με μεγάλο ιξώδες προστίθεται συγκεκριμένη ποσότητα νερού.^[19]

1.2.3.2.Λυοφιλίωση

Κατά τη μέθοδο της λυοφιλίωσης το πρώτο στάδιο είναι η διαλυτοποίηση των επιμέρους συστατικών ξεχωριστά σε νερό. Στη συνέχεια, τα διαλύματα αυτά αναμειγνύονται μεταξύ τους και το τελικό μίγμα τοποθετείται για φυγοκέντριση. Έπειτα, καταψύχεται σε θερμοκρασίες έως και -80 °C. Τέλος, ξηραίνεται μέσω εξάχνωσης του πάγου.^[20]

1.2.3.3.Εξάτμιση υπό κενό

Όσον αφορά τη μέθοδο εξάτμισης υπό κενό, οι απαιτούμενες ποσότητες των επιμέρους συστατικών διαλύονται σε νερό. Έπειτα, τοποθετούνται σε περιστροφικό εξατμιστήρα σε θερμοκρασία 50 °C προς εξάτμιση. Τέλος, μετά το πέρας της εξάτμισης το τελικό μίγμα αφήνεται σε ξηραντήρα με silica gel μέχρι να σταθεροποιηθεί το βάρος του.^[18]

1.2.4. Φυσικοχημικές Ιδιότητες των DES και των NaDES

1.2.4.1.pH

Το pH είναι μια ιδιότητα υψίστης σημασίας σε διάφορες βιομηχανικές εφαρμογές, καθώς πρέπει να διασφαλίζεται η τιμή pH που προκαλεί την ελάχιστη διάβρωση. Οι DES στους οποίους ένα από τα συστατικά είναι όξινο παρουσιάζουν χαμηλές τιμές pH, όπως για παράδειγμα οι DES που έχουν ως βάση το γαλακτικό οξύ έχουν τιμές pH μικρότερες του 2,5. Επίσης, οι DES που παρασκευάζονται με οργανικά οξέα και χλωριούχο χολίνη ή γλυκόζη έχουν πολύ χαμηλές τιμές pH. Τέλος, η αύξηση της θερμοκρασίας επιφέρει μείωση του pH.^[21]

1.2.4.2.Πυκνότητα

Συνήθως, η πυκνότητα όλων των DES είναι μεγαλύτερη από εκείνη του νερού με τιμές μεταξύ 1,0 με 1,3 $\frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$ σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Οι DES που παρουσιάζουν

πυκνότητα χαμηλότερη από του νερού χαρακτηρίζονται υδρόφοβοι, ενώ οι DES που έχουν ως βάση τα μεταλλικά άλατα έχουν τιμές πυκνότητας μεταξύ 1,3 με $1,6 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$.^[17]

Η πυκνότητα των DES εξαρτάται από τη θερμοκρασία και πιο συγκεκριμένα, παρουσιάζει γραμμική εξάρτηση, όπου η μείωση της θερμοκρασίας οδηγεί σε χαμηλότερη κινητική ενέργεια και κατ' επέκταση στην γραμμική αύξηση της πυκνότητας, λόγω της μείωσης της μοριακής κίνησης και του μοριακού όγκου του διαλύματος. Μελέτες των NaDES που έχουν ως συστατικό τη γλυκόζη και το γαλακτικό οξύ έδειξαν ότι η αύξηση της θερμοκρασίας από 19 σε 49 °C οδήγησε στη μείωση της πυκνότητας κατά περίπου 3%.^[22]

Τέλος, η πυκνότητα εξαρτάται και από την επιλογή του δότη δεσμού υδρογόνου (HBD) και την μοριακή αναλογία των συστατικών.^[17] Αναλυτικότερα, οι υδρόφοβοι DES παρουσιάζουν πυκνότητες μικρότερες από εκείνη του νερού, ενώ οι υδρόφιλοι παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές.^[23] Σχετικά με τον δότη δεσμού υδρογόνου, όσο αυξάνεται ο αριθμός των υδροξυλίων, των αλκυλικών αλυσίδων οργανικών οξέων ή των αρωματικών ομάδων στη δομή του DES, παρατηρείται αύξηση στην πυκνότητά του.^[24] Επίσης, η αύξηση της ανθρακικής αλυσίδας του HBD μειώνει τις αλληλεπιδράσεις δεσμών υδρογόνου λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης με αποτέλεσμα τη μείωση της πυκνότητας.^[25]

1.2.4.3. Πολικότητα

Η πολικότητα αποτελεί σημαντική ιδιότητα ενός διαλύτη, επειδή καθορίζει την διαλυτική του ικανότητα. Προσδιορίζεται σύμφωνα με τη μετατόπιση της ζώνης απορρόφησης μεταφοράς φορτίου ενός διαλυτοχρωμικού ανιχνευτή, όπως για παράδειγμα είναι ο δείκτης Ερυθρό του Νείλου (Nile Red), παρουσία του διαλύτη.^[17]

Το μεγαλύτερο ποσοστό των NaDES είναι υδρόφιλοι, ωστόσο υπάρχουν και αρκετοί υδρόφοβοι. Όσον αφορά τους υδρόφιλους, πιο πολικοί είναι αυτοί που έχουν ως βάση τα οργανικά οξέα ($44,81 \frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$) και στη συνέχεια ακολουθούν αυτοί που έχουν ως βάση τα αμινοξέα ($48,0-49,55 \frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$) και τα καθαρά σάκχαρα με πολικότητα κοντά σε αυτή του νερού ($48,21 \frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$). Αντίθετα, λιγότερο πολικοί είναι οι NaDES με βάση τα σάκχαρα και τις πολυαλκοόλες ($48,2-50,1 \frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$) με πολικότητα κοντά σε αυτή της μεθανόλης ($51,89 \frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$). Τέλος, η πολικότητα ενός NaDES ενισχύεται με την προσθήκη νερού.^[15]

1.2.4.4. Ιξώδες

Το ιξώδες σχετίζεται με τις μοριακές δυνάμεις συνοχής σε ένα ρευστό, καθορίζοντας τη ρευστότητά του και ως εκ τούτου τους περιορισμούς μεταφοράς μάζας σε αυτό.^[25] Η πλειονότητα των υδρόφιλων NaDES χαρακτηρίζεται από υψηλό ιξώδες, υψηλότερο από εκείνο των καθαρών οργανικών διαλυτών, λόγω κυρίως του δικτύου δεσμών υδρογόνου αλλά και των δυνάμεων Van Der Waals και των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων.^[15, 25]

Οι υψηλές τιμές ιξώδους ενδεχομένως να αποτελέσουν ανασταλτικό παράγοντα στη χρήση τους ως διαλύτες εκχύλισης, λόγω της χαμηλότερης απόδοσης εκχύλισης και της απαιτούμενης ενέργειας για ανάδευση. Ωστόσο, στην περίπτωση των NaDES με ζάχαρη ως HBD και με χαμηλή περιεκτικότητα σε νερό μπορεί να αποτελέσει επιθυμητό χαρακτηριστικό, καθώς επιτρέπουν σταθερές μοριακές αλληλεπιδράσεις.^[25]

Το ιξώδες των NaDES μπορεί να διαφέρει σημαντικά ανάλογα με τη φύση των συστατικών που τα αποτελούν (HBD και HBA) και τη θερμοκρασία. Για την χρήση των NaDES σε βιομηχανικές εφαρμογές είναι επιθυμητές χαμηλές τιμές ιξώδους λόγω του πιο οικονομικού και ευκολότερου χειρισμού. Η αύξηση της θερμοκρασίας οδηγεί σε μείωση του ιξώδους.^[15] Επίσης, η αραίωση με νερό οδηγεί σε μεγάλη μείωση του ιξώδους των NaDES λόγω της σταδιακής εξασθένησης των αλληλεπιδράσεων δεσμών υδρογόνου μεταξύ των συστατικών. Τέλος, η αύξηση του αριθμού των ατόμων άνθρακα προκαλεί αύξηση του ιξώδους.^[25]

Ανάλογα με τον τύπο του DES και τη θερμοκρασία, το εύρος του ιξώδους που επιτυγχάνεται για DES με 10 % w/w νερό κυμαίνεται μεταξύ 59,8-49400 mPa·s, με 30 % w/w μεταξύ 5,3-94,7 mPa·s και με 50 % w/w μεταξύ 1,5-10,8 mPa·s. Η αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί αύξηση της κινητικής ενέργειας και της κινητικότητας των μορίων, καθιστώντας ασθενέστερες τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις.^[25]

1.2.4.5.Επιφανειακή Τάση

Η επιφανειακή τάση είναι μια σημαντική ιδιότητα των ρευστών, που χρησιμοποιείται κυρίως σε εφαρμογές γαλακτωμάτων και επιφανειοδραστικών ουσιών. Γενικότερα, υπάρχει γραμμική εξάρτηση της επιφανειακής τάσης με την θερμοκρασία και πιο συγκεκριμένα, η αύξηση της θερμοκρασίας οδηγεί σε μείωση της επιφανειακής τάσης.^[14]

1.2.4.6.Αγωγιμότητα

Η αγωγιμότητα των NaDES εξαρτάται από τα διαθέσιμα ιόντα, καθώς και από την κινητικότητα και το σθένος τους. Λόγω του υψηλού ιξώδους τους, τα περισσότερα NaDES παρουσιάζουν ιοντική αγωγιμότητα μικρότερη από $2 \frac{\text{mS}}{\text{cm}}$ σε θερμοκρασία δωματίου.^[25]

Η προσθήκη ελάχιστης ποσότητας νερού μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της αγωγιμότητας κάποιων NaDES έως και 100 φορές.^[15] Η αγωγιμότητα εξαρτάται από τη σύσταση των NaDES και ελαττώνεται σύμφωνα με την παρακάτω σειρά: βάση/πολυαλκοόλη > βάση/οργανικό οξύ ~ βάση/σάκχαρο > οργανικό οξύ/μη πολικό αμινοξύ > οργανικό οξύ/σάκχαρο > σάκχαρο/σάκχαρο. Τέλος, αυξάνεται γραμμικά με την αύξηση της θερμοκρασίας.^[14]

1.2.4.7.Επίδραση προσθήκης νερού

Η προσθήκη νερού στους NaDES οδηγεί σε μείωση της πυκνότητας, του ιξώδους και του σημείου τήξεως και σε αύξηση της πολικότητας και της αγωγιμότητας.^[14, 15] Ωστόσο, η προσθήκη μεγάλων συγκεντρώσεων νερού σε έναν NaDES τον μετατρέπει από ευτηκτικό μίγμα σε υδατικό διάλυμα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο DES με συστατικά χλωριούχο χολίνη:ουρία:νερό που για περιεκτικότητα σε νερό 51% w/w παρατηρείται η μετάβασή του σε υδατικό διάλυμα.^[26]

Αναλυτικότερα, μελέτες NMR έχουν δείξει ότι η προσθήκη νερού οδηγεί σε θραύση των δεσμών υδρογόνου στο ευτηκτικό μίγμα και κατ' επέκταση σε ρήξη της υπερμοριακής δομής του.^[14] Επίσης, η παρουσία νερού που συμμετέχει στους δεσμούς υδρογόνου επηρεάζει τη διάταξη των μορίων του NaDES, καθώς αυξάνει την κινητικότητά τους διατηρώντας τα χαρακτηριστικά τους.^[15] Τέλος, η προσθήκη νερού μειώνει τον συνολικό αριθμό δεσμών υδρογόνου που υπάρχουν στον NaDES.^[24]

1.2.5. Εφαρμογές των DES και των NaDES

Οι DES χρησιμοποιούνται ως πράσινοι διαλύτες για βιοκατάλυση, εκχύλιση και άλλους σκοπούς διάλυσης στους οποίους προηγουμένως χρησιμοποιούνταν τα ιοντικά υγρά.

Πλέον, έχει διερευνηθεί η εφαρμογή τους στην ηλεκτροχημεία, τα υλικά και την οργανική σύνθεση. Η εφαρμογή των NaDES στην οργανική σύνθεση έχει ενδιαφέροντα πλεονεκτήματα, καθώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο ως διαλύτες όσο και ως καταλύτες.^[8]

Ακόμη, οι εφαρμογές τους ως πλαστικοποιητές κατά την παραγωγή θερμοπλαστικών ταινιών διερευνώνται εντατικά και φαίνεται ότι η ζελατινοποίηση των NaDES έχει ποικίλες εφαρμογές.^[27] Ειδικότερα στην αναλυτική χημεία έχει αποδειχθεί η δυνατότητα χρήσης τους ως πλαστικοποιητές πολυμερών για την ανάπτυξη τρισδιάστατων πορώδων δομών. Όσον αφορά τη νανοτεχνολογία, βρίσκουν εφαρμογή στη σύνθεση νανοσωματιδίων λόγω της καλής θερμικής σταθερότητας, της καλής ικανότητας για διασπορά και της μεγάλης ιοντικής αγωγιμότητας.^[28]

Οι πράσινοι διαλύτες παρουσιάζουν και φαρμακευτικές εφαρμογές. Διεξάγονται διάφορες μελέτες σχετικά με τους DES και τα ευτηκτικά μίγματα προκειμένου να βελτιωθεί η διαλυτότητα και η συμπεριφορά διάλυσης των δραστικών ουσιών (Active Pharmaceutical Ingredient, API).^[24] Αναλυτικότερα, για φαρμακευτικές εφαρμογές έχουν ανακαλυφθεί οι Θεραπευτικοί Δευτερεύοντες Διαλύτες (THEDES). Το ευτηκτικό μίγμα περιέχει μία δραστική ουσία και είναι υγρό σε θερμοκρασία δωματίου. Τα υγρά αυτά μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν ως μέσο αντίδρασης, εναλλακτικά του νερού, σε διάφορες βιολογικές αντιδράσεις προσομοιώνοντας τους μεταβολίτες και τα λιπίδια που βρίσκονται στο κυτταρικό περιβάλλον, διατηρώντας παράλληλα τη δομή των πρωτεϊνών. Έχουν, λοιπόν, μεγάλη σημασία στη βιοκαταλυτική διαδικασία καθώς παρέχουν υψηλή εκλεκτικότητα, ρυθμούς αντίδρασης και απόδοση.^[8]

Τέλος, οι NaDES έχουν σημαντική εφαρμογή στα ζωντανά κύτταρα και τους οργανισμούς. Πιο συγκεκριμένα, οι NaDES σε υγρή μορφή συμβάλλουν στη διαλυτοποίηση, την αποθήκευση και τη μεταφορά μη υδατοδιαλυτών ενώσεων.^[8]

1.2.6. Συστατικά των DES και NaDES

1.2.6.1. Βεταΐνη ($C_5H_{11}NO_2$)

Η βεταΐνη, επίσης γνωστή και ως τριμεθυλογλυκίνη (TMG), είναι μια φυσική ένωση που απαντάται σε πολλά φυτικά και ζωικά είδη. Είναι ένα σημαντικό ωσμοπροστατευτικό, δότης μεθιλίου και πρόδρομος για διάφορους μεταβολίτες. Τα τελευταία χρόνια, η βεταΐνη έχει κερδίσει σημαντική προσοχή λόγω των πιθανών οφελών της στην υγεία. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η συμπληρωματική χορήγηση βεταΐνης μπορεί να βελτιώσει τη σωματική απόδοση, να μειώσει τη φλεγμονή και να προστατεύσει από διάφορες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένων των καρδιαγγειακών παθήσεων, του διαβήτη και της μη αλκοολικής λιπώδους ηπατικής νόσου (NAFLD). Η βεταΐνη έχει, επίσης, αποδειχθεί ότι βελτιώνει τη γνωστική λειτουργία, ιδίως σε ηλικιωμένους ενήλικες. Τα ευρήματα αυτά έχουν προκαλέσει το ενδιαφέρον για τη χρήση της βεταΐνης ως συμπλήρωμα διατροφής για την ενίσχυση της υγείας και των επιδόσεων.^[29]

Ωστόσο, ενώ η βεταΐνη θεωρείται ασφαλής, ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι υψηλές δόσεις μπορεί να έχουν δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία. Για παράδειγμα, η βεταΐνη αυξάνει τα επίπεδα χοληστερόλης στο αίμα σε ορισμένα άτομα, ιδίως σε εκείνα με υπερλιπιδαιμία. Υψηλές δόσεις βεταΐνης έχουν επίσης συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης πέτρας στα νεφρά. Έτσι, απαιτούνται περισσότερες έρευνες για την πλήρη κατανόηση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας της βεταΐνης.^[29]

Η βεταΐνη είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο συστατικό των NaDES. Έχει διαπιστωθεί ότι οι NaDES με βάση τη βεταΐνη παρουσιάζουν καλές φυσικοχημικές ιδιότητες, όπως

χαμηλή πίεση ατμών, υψηλό ιξώδες και καλή διαλυτότητα για ένα ευρύ φάσμα ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων πολικών και μη πολικών ουσιών. Χρησιμοποιείται πολύ συχνά ως συστατικό στην παρασκευή των NaDES λόγω της φυσικής της προέλευσης, της υψηλής βιοσυμβατότητας και του χαμηλού κόστους. Τέλος, βελτιώνει τη σταθερότητα και τη διαλυτότητα των NaDES, καθώς και την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης διαφόρων βιοδραστικών ενώσεων από φυσικές πηγές.^[29, 30]

1.2.6.2. Γλυκίνη ($C_2H_5NO_2$)

Η γλυκίνη είναι το αμινοξύ με το μικρότερο μοριακό βάρος που σχηματίζει πρωτεΐνες ($MW = 75,067 \frac{g}{mol}$) και είναι άφθονο και ευρέως διαδεδομένο στη φύση. Μπορεί να βιοσυντεθεί από τη σερίνη, τη θρεονίνη και τη χολίνη. Επίσης, αποτελεί σημαντική πρόδρομη ουσία για τη βιοσύνθεση διαφόρων ενώσεων, όπως η αίμη, η κρεατίνη και οι πουρίνες. Εκτός από το ρόλο της ως δομικό στοιχείο για τις πρωτεΐνες, η γλυκίνη λειτουργεί και ως νευροδιαβιβαστής και εμπλέκεται σε διάφορες φυσιολογικές διεργασίες, όπως η σύνθεση της γλουταθειόνης, η ρύθμιση του οξειδωτικού στρες και η ανοσολογική απόκριση.^[31]

Η γλυκίνη έχει θεωρηθεί ως μια ευέλικτη και οικονομικά αποδοτική ένωση για διάφορες βιομηχανικές εφαρμογές, κυρίως σε βιομηχανίες τροφίμων και φαρμάκων. Παρουσιάζει εξαιρετικές κρυσταλλογραφικές ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένης της ικανότητας να μειώνει την κυτταρική βλάβη, να αποτρέπει τον σχηματισμό παγοκρυστάλλων και να ενισχύει τα ποσοστά επιβίωσης των κυττάρων. Κατ' επέκταση έχει προταθεί ως δυνητικός θεραπευτικός παράγοντας για τη θεραπεία διαφόρων ασθενειών, όπως ο διαβήτης, ο καρκίνος και οι καρδιαγγειακές παθήσεις. Επίσης, έχει την ικανότητα να σχηματίζει σύμπλοκα με διάφορα φάρμακα και να βελτιώνει τη διαλυτότητα και τη βιοδιαθεσιμότητά τους. Τέλος, παρουσιάζει αντιφλεγμονώδη, νευροπροστατευτική και αντιψυχωσική δράση.^[32]

1.2.6.3. Γλυκόζη ($C_6H_{12}O_6$)

Η γλυκόζη είναι ένα μόριο σακχάρου με έξι άτομα άνθρακα που αποτελεί βασική πηγή ενέργειας για τους ζωντανούς οργανισμούς. Είναι ο πιο άφθονος μονοσακχαρίτης στη φύση και μπορεί να βρεθεί σε διάφορες μορφές, συμπεριλαμβανομένου του αμύλου, του γλυκογόνου και της κυτταρίνης. Λαμβάνεται από τις τροφές που περιέχουν μονοσακχαρίτες, όπως φρούτα και μέλι, είτε σχηματίζεται κατά την πέψη από την υδρόλυση των δισακχαριτών και πολυσακχαριτών.^[33]

Χρησιμοποιείται συνήθως ως γλυκαντικό τροφίμων και βρίσκεται σε πολλά φρούτα, λαχανικά και μέλι. Εκτός από τη χρήση της ως πρόσθετο τροφίμων, η γλυκόζη έχει ευρύ φάσμα εφαρμογών σε διάφορους τομείς, όπως η ιατρική, η βιοτεχνολογία και η επιστήμη των υλικών. Αναλυτικότερα, χρησιμοποιείται ως πηγή ενέργειας σε ενδοφλέβια υγρά, ως διαγνωστικό εργαλείο για τη μέτρηση των επιπέδων σακχάρου στο αίμα και ως πηγή άνθρακα για την παραγωγή διαφόρων βιομορίων, όπως αμινοξέα, αντιβιοτικά και βιοκαύσιμα.^[33, 34]

Η γλυκόζη είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο συστατικό των NaDES. Τα σάκχαρα έχουν σημαντικό ρόλο στο δίκτυο δεσμών υδρογόνου με την γλυκόζη να παρουσιάζει την καλύτερη απόδοση.^[35] Παρουσία χιτοζάνης πραγματοποιείται η αντίδραση Maillard, η οποία οδηγεί στο σχηματισμό αντιοξειδωτικών και αντιμικροβιακών ενώσεων. Επίσης, η αντίδραση αυτή συμβάλλει στην αύξηση της θρεπτικής αξίας των τροφίμων, στη συντήρηση και στη διατήρηση της ποιότητάς τους. Τέλος, η αντίδραση θέρμανσης της

χιτοζάνης ή των παραγώγων της με σάκχαρα (π.χ. γλυκόζη) ή πρωτεΐνες ενισχύει τη διαλυτότητά της στο νερό.^[36]

1.2.6.4. Γαλακτικό Οξύ ($C_3H_6O_3$)

Το γαλακτικό οξύ (2-υδροξυπροπανοϊκό οξύ) θεωρείται ένα από τα κυριότερα γνωστά οργανικά οξέα με ευρύ φάσμα βιομηχανικών εφαρμογών, κυρίως στη βιομηχανία των τροφίμων, των φαρμάκων και των καλλυντικών. Το γαλακτικό οξύ παράγεται κυρίως από βακτήρια γαλακτικού οξέος τα οποία ανήκουν σε μια μεγάλη ομάδα ωφέλιμων βακτηρίων με προβιοτικές ιδιότητες.^[37]

Στη βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιείται κυρίως για βελτιωτικό γεύσης και αύξηση της διάρκειας ζωής των τροφίμων μέσω του ελέγχου του ρυθμού παραγωγής παθογόνων μικροοργανισμών σε αυτά. Όσον αφορά τη βιομηχανία φαρμάκων, το γαλακτικό οξύ και τα άλατά του παρουσιάζουν αντικαρκινική δράση και δρουν ως ενδιάμεσο προϊόν για τη παρασκευή φαρμάκων και τη ρύθμιση του pH των παρασκευασμάτων. Τέλος, έχει ευρεία εφαρμογή στη βιομηχανία καλλυντικών καθώς δρα ως ρυθμιστής του pH, ενισχύει την ενυδάτωση και σύσφιξη του δέρματος, μέσω της παραγωγής κολλαγόνου, και έχει αντιμικροβιακή και αντιγηραντική δράση.^[37]

1.3. Μέθοδοι Εκχύλισης

Η εκχύλιση είναι μία τεχνική απομόνωσης ενώσεων στη βιομηχανία τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών. Συγκεκριμένα, είναι ο διαχωρισμός του φαρμακευτικού δραστικού μίγματος από πολλές φυσικές βιοδραστικές ενώσεις που συνήθως περιέχονται μέσα στα φυτά. Μπορεί επίσης να οριστεί ως η επεξεργασία του φυτικού υλικού με διαλύτη, με την οποία τα φαρμακευτικά ενεργά συστατικά διαλύονται και το μεγαλύτερο μέρος της αδρανούς ύλης παραμένει αδιάλυτο. Η εκχύλιση βασίζεται στη διαφορά διαλυτότητας της διαλυμένης ουσίας, των υπόλοιπων ενώσεων και του διαλύτη που χρησιμοποιείται.^[38]

Γενικά, υπάρχουν τρεις βασικοί τύποι εκχυλίσεων, η υγρού/στερεού (Solid-Liquid Extraction, SLE), η υγρού/υγρού (Liquid-Liquid Extraction, LLE) και η οξέος/βάσης (Acid-Base Extraction). Για να επιλεγεί η κατάλληλη μέθοδος εκχύλισης και να επιτευχθεί υψηλή ποιότητα ενός εκχυλίσματος λαμβάνονται υπόψη διάφορες παράμετροι, όπως τα μέρη του φυτού που χρησιμοποιούνται ως πρώτη ύλη, ο διαλύτης, ο χρόνος εκχύλισης, το μέγεθος των σωματιδίων και η ανάδευση. Η επιλογή της καταλληλότερης διαδικασίας εκχύλισης αποτελεί το πρώτο βήμα για την απομόνωση και τον προσδιορισμό των επιθυμητών ενώσεων από το φυτό.^[38]

Κατά την εκχύλιση στερεού-υγρού (SLE), όταν έρχεται σε επαφή το στερεό υλικό με τον διαλύτη, τα διαλυτά συστατικά του στερεού υλικού διαλύονται και μετακινούνται προς τον διαλύτη. Ο ρυθμός μεταφοράς μάζας εξαρτάται από τη συγκέντρωση των συστατικών έως ότου επιτευχθεί ισορροπία, στην οποία δεν υπάρχει πλέον μεταφορά μάζας από το στερεό υλικό στον διαλύτη. Επίσης, η θέρμανση του διαλύτη αυξάνει τον ρυθμό αυτό καθώς αυξάνεται η διαλυτότητα.^[38]

Συνεπώς, η επιλογή του διαλύτη έχει μεγάλη σημασία για την εκχύλιση και καθορίζεται από πολλούς παράγοντες. Αυτοί είναι η διαλυτότητα, η εκλεκτικότητα, το κόστος, η ασφάλεια, η ποιότητα της πρώτης ύλης, ο ρυθμός εκχύλισης, η ποικιλομορφία των μεταβολιτών που εκχυλίζονται, η τοξικότητα, ο κίνδυνος για την υγεία και η ευκολία χειρισμού του εκχυλίσματος. Τέλος, ο επιτυχής προσδιορισμός των βιοενεργών ενώσεων από το φυτό εξαρτάται από τον τύπο διαλύτη που θα επιλεγεί.^[38]

Η εκχύλιση με διαλύτες προσφέρει καλή ανάκτηση των φαινολικών ενώσεων, ωστόσο παρουσιάζει μερικά μειονεκτήματα. Αυτά είναι η απαίτηση μεγάλης ποσότητας διαλυτών, ο μεγάλος χρόνος εκχύλισης, η περιορισμένη επιλογή διαλυτών και η πιθανή υποβάθμιση των ενώσεων-στόχων.^[39]

Οι μέθοδοι εκχύλισης χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, στις συμβατικές ή κλασικές και στις μη συμβατικές ή καινοτόμες μεθόδους. Οι συμβατικές τεχνικές είναι αυτές που χρησιμοποιούν οργανικό υγρό (εξάνιο, ακετόνη, μεθανόλη, αιθανόλη κ.λπ.) ή νερό και πραγματοποιούνται σε ατμοσφαιρική πίεση, ενώ οι μη συμβατικές τεχνικές χρησιμοποιούν τιμές πίεσης διαφορετικές από την ατμοσφαιρική και αυξημένες θερμοκρασίες.^[40]

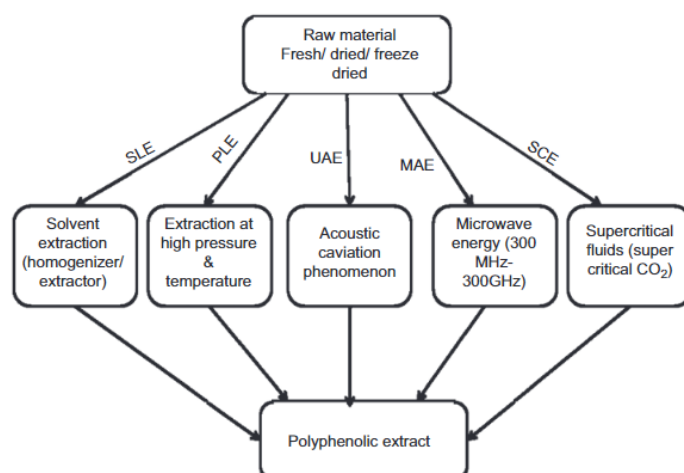
Οι συμβατικές μέθοδοι, όπως προαναφέρθηκε, απαιτούν μεγάλες ποσότητες διαλυτών, υψηλό χρόνο εκχύλισης, χαμηλή απόδοση λόγω θερμικής αποικοδόμησης και αδυναμία επαναχρησιμοποίησης των διαλυτών. Μερικές από αυτές τις μεθόδους είναι:

- η διαβροχή,
- η διήθηση,
- η χώνευση,
- η έγχυση,
- η εκχύλιση Soxhlet.^[38]

Για την αντιμετώπιση των παραπάνω προβλημάτων ανακαλύφθηκαν νέες τεχνικές, οι μη συμβατικές μέθοδοι, οι οποίες επιτρέπουν τη μείωση των χρόνων εκχύλισης, την αύξηση της απόδοσής της, την αυτοματοποίηση και τέλος, τη μείωση της κατανάλωσης οργανικών διαλυτών.^[40] Μερικά παραδείγματα μη συμβατικών μεθόδων εκχύλισης αποτελούν:

- η εκχύλιση με υπερήχους (UAE),
- η εκχύλιση με μικροκύματα (MAE),
- η εκχύλιση με υπερκρίσιμα υγρά (SFE) και
- η εκχύλιση με υγρά υπό πίεση (PLE) ή Επιταχυνόμενη Εκχύλιση με Διαλύτη (ASE).^[39]

Πολλές από τις συμβατικές και μη συμβατικές μεθόδους εκχύλισης φαίνονται στο Σχήμα 5.^[39]



Σχήμα 5: Μέθοδοι εκχύλισης στερεού υγρού, με υγρά υπό πίεση, με υπερήχους, με μικροκύματα και με υπερκρίσιμα υγρά^[39]

1.3.1. Συμβατικές ή Κλασικές Μέθοδοι

1.3.1.1. Διαβροχή

Η διαβροχή είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την εκχύλιση φυτοχημικών ουσιών από φυτικό υλικό.^[40] Διεξάγεται μέσω της εμβάπτισης των φυτικών υλικών (χονδροειδών ή τροφοδοτούμενων) σε διαλύτη σε κλειστό δοχείο με πώμα, το οποίο αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 2-3 ημέρες με συχνή ανάδευση για τη λήψη φυτικών εκχυλισμάτων. Χρησιμοποιείται σφραγισμένος εκχυλιστήρας για να αποφευχθεί η εξάτμιση του διαλύτη σε ατμοσφαιρική πίεση.^[38] Η διαβροχή εξελίσσεται σε τρία στάδια. Αρχικά, τα φυτικά υλικά μετατρέπονται σε μορφή σκόνης με άλεση, έπειτα προστίθεται ο διαλύτης στο κλειστό δοχείο και τέλος, το υγρό στραγγίζεται, αλλά το στερεό υπόλειμμα αυτής της διαδικασίας εκχύλισης συμπιέζεται. Η τεχνική αυτή έχει χαμηλό κόστος και χρησιμοποιεί απλό εξοπλισμό. Ωστόσο, έχει μεγάλο χρόνο εκχύλισης που μερικές φορές διαρκεί έως και εβδομάδες.^[40]

1.3.1.2. Διήθηση

Η διήθηση είναι η διαδικασία κατά την οποία ο βρασμένος διαλύτης διαπερνά την πρώτη ύλη, συνήθως το φυτό, με έναν μεσαίο ρυθμό όπως 5-7 σταγόνες το λεπτό μέχρι να ολοκληρωθεί η εκχύλιση πριν από την εξάτμιση. Για τη λήψη μεγάλης ποσότητας του εκχυλισματος πραγματοποιούνται διαδοχικές διηθήσεις όπου συνηθώς συμπληρώνεται ποσότητα διαλύτη και το εκχύλισμα παραλαμβάνεται όλο μαζί. Βασικά μειονεκτήματα της μεθόδου αυτής αποτελούν η απαίτηση μεγάλης ποσότητας διαλύτη, ο υψηλός χρόνος εκχύλισης και τέλος, η ανάγκη εκτέλεσης από εξειδικευμένα άτομα.^[38]

1.3.1.3. Χώνευση

Αποτελεί ένα είδος εκχύλισης όπου εφαρμόζεται ήπια θερμοκρασία, η οποία δεν μεταβάλλει τα δραστικά συστατικά του φυτού. Συνεπώς, επιτυγχάνεται μεγάλη αποτελεσματικότητα στη χρήση του διαλύτη. Συνήθως οι θερμοκρασίες κυμαίνονται μεταξύ 35 και 40 °C με μέγιστη τους 50 °C. Το φυτικό υλικό που περιέχει δυσδιάλυτες ουσίες ή πολυφαινόλες τοποθετείται σε δοχείο που περιέχει το προθερμασμένο διαλύτη για χρονικό διάστημα μεταξύ μισής ώρας και 24 h με συνεχή ανακίνηση του δοχείου.^[38]

1.3.1.4. Έγχυση

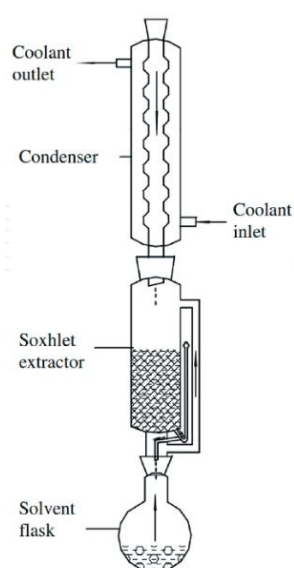
Η έγχυση είναι μια απλή χημική διαδικασία κατά την οποία η σκόνη του στερεού φυτού εμβαπτίζεται είτε σε κρύο είτε σε βραστό νερό για ένα σύντομο χρονικό διάστημα, με σκοπό την εξαγωγή των ουσιών που είναι πτητικές και διαλύονται εύκολα ή απελευθερώνουν εύκολα τα δραστικά συστατικά τους σε οργανικούς διαλύτες.^[38, 40] Στη συνέχεια, το έγχυμα διαχωρίζεται και συμπυκνώνεται υπό κενό με τη χρήση του περιστροφικού εξατμιστήρα.^[38]

1.3.1.5. Εκχύλιση Soxhlet

Η εκχύλιση Soxhlet είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την εκχύλιση φυτικών υλικών λόγω της απλότητας, της αποτελεσματικότητας και της αναπαραγωγιότητάς της. Στη μέθοδο αυτή, το φυτικό υλικό τοποθετείται σε δακτυλήθρα, η οποία εισάγεται σε συσκευή Soxhlet. Η συσκευή αποτελείται από μια φιάλη που περιέχει τον διαλύτη, έναν συμπυκνωτή και έναν σωλήνα σιφωνίου (Σχήμα 6). Ο διαλύτης θερμαίνεται σε επαναρροή και ο συμπυκνωμένος διαλύτης στάζει πίσω στη φιάλη, εκχυλίζοντας έτσι συνεχώς το φυτικό υλικό. Το πλεονέκτημα της εκχύλισης Soxhlet είναι ότι επιτρέπει την πλήρη εκχύλιση των επιθυμητών ενώσεων, καθώς ο διαλύτης ανανεώνεται συνεχώς. Ωστόσο, η μέθοδος έχει ορισμένους περιορισμούς, συμπεριλαμβανομένων των μεγάλων χρόνων εκχύλισης, της υψηλής κατανάλωσης

διαλύτη και της πιθανότητας θερμικής αποικοδόμησης των ευαίσθητων στη θερμότητα ενώσεων.^[38]

Η επιλογή του διαλύτη, η θερμοκρασία και ο χρόνος εκχύλισης είναι σημαντικές παράμετροι που μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά την απόδοση και την ποιότητα των εκχυλισμένων ενώσεων. Οι συνήθεις διαλύτες που χρησιμοποιούνται για την εκχύλιση φυτικού υλικού Soxhlet περιλαμβάνουν τη μεθανόλη, την αιθανόλη και το νερό. Η εκχύλιση πραγματοποιείται σε υψηλές θερμοκρασίες και η διάρκειά της μπορεί να κυμαίνεται από λίγες ώρες έως αρκετές ημέρες.^[38, 40] Πρόσφατα, οι NaDES έχουν διερευνηθεί ως εναλλακτικοί διαλύτες για την εκχύλιση φυτικών ενώσεων λόγω της φιλικότητάς τους προς το περιβάλλον, της βιοσυμβατότητάς τους και της δυνατότητας βελτίωσης των αποδόσεων. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην εκχύλιση φυτικού υλικού με Soxhlet και η αποδοτικότητά τους μπορεί να είναι συγκρίσιμη ή και ανώτερη από τους συμβατικούς διαλύτες.^[19]



Σχήμα 6: Διάταξη εκχύλισης Soxhlet^[38]

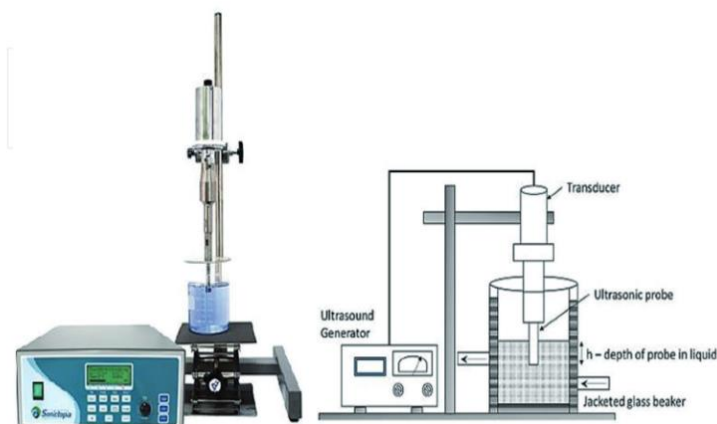
1.3.2. Μη Συμβατικές ή Καινοτόμες Μέθοδοι

1.3.2.1. Εκχύλιση με Υπερήχους (UAE)

Η εκχύλιση με τη βοήθεια υπερήχων (UAE) είναι μια καθιερωμένη τεχνική εκχύλισης που περιλαμβάνει τη χρήση υπερήχων με συχνότητες που κυμαίνονται από 20 έως 2000 KHz.^[38] Η ενίσχυση της εκχύλισης, που επιτυγχάνεται με τη χρήση υπερήχων, αποδίδεται κυρίως στο φαινόμενο σπηλαίωσης που πραγματοποιείται μέσω της διάδοσης ενός κύματος υπερήχων στον διαλύτη. Οι υπερήχοι ασκούν μηχανική επίδραση επιτρέποντας μεγαλύτερη διείσδυση του διαλύτη στον ιστό, αυξάνοντας την επιφάνεια επαφής μεταξύ της στερεάς και της υγρής φάσης. Αποτέλεσμα αυτού αποτελεί η απελευθέρωση του ενδοκυτταρικού προϊόντος στο μέσο εκχύλισης σε μικρότερο χρόνο.^[40] Η ακτινοβολία των υπερήχων εφαρμόζεται είτε με τη χρήση λουτρού νερού είτε με τη χρήση υπερηχητικού διαταράκτη.^[41]

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της UAE περιλαμβάνουν το χρόνο εκχύλισης, την ισχύ, το διαλύτη, την αναλογία υγρού/στερεού, το φυτικό υλικό, τη συχνότητα, το πλάτος και την ένταση.^[38] Τα πλεονεκτήματα της UAE περιλαμβάνουν μείωση του χρόνου εκχύλισης, της ενέργειας και της χρήσης διαλύτη, αποτελεσματική ανάμιξη, ταχύτερη μεταφορά ενέργειας, μειωμένη θερμοκρασία εκχύλισης, επιλεκτική

εκχύλιση, μικρότερο μέγεθος εξοπλισμού, ταχύτερη απόκριση στον έλεγχο της διαδικασίας εκχύλισης, γρήγορη εκκίνηση, αυξημένη παραγωγή και εξάλειψη των σταδίων της διαδικασίας. Η χρήση λουτρού νερού επιτυγχάνει ελεγχόμενη θέρμανση και κατ' επέκταση ανάκτηση των θερμοευαίσθητων συστατικών. Επίσης, η UAE διευκολύνει την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων και βελτιώνει την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης ενώσεων σε φυτικά υλικά.^[40] Ωστόσο, η διαδικασία περιορίζεται σε εφαρμογή σε μεγάλη κλίμακα λόγω του υψηλού κόστους της.^[38]



Σχήμα 7: Διάταξη εκχύλισης με υπερήχους (UAE)^[38]

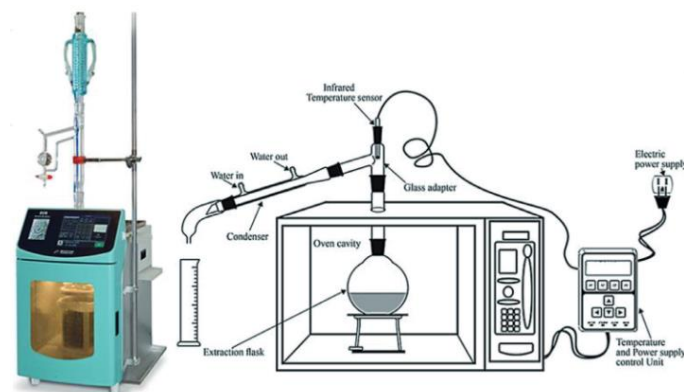
1.3.2.2. Εκχύλιση με Μικροκύματα (MAE)

Η εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων (MAE) έχει γίνει μια από τις πιο προηγμένες τεχνικές για την εκχύλιση φυσικών προϊόντων από φυτικά υλικά. Η ενέργεια μικροκυμάτων που χρησιμοποιείται στη μέθοδο αυτή είναι ένα μη ιονίζον ηλεκτρομαγνητικό κύμα συχνότητας μεταξύ 300 MHz και 300 GHz, το οποίο παράγει μοριακή κίνηση μέσω της μετακίνησης των ιόντων και της περιστροφής των διπόλων.^[39, 40] Η μέθοδος στηρίζεται στην άμεση επίδραση των μικροκυμάτων στα μόρια με ιοντική αγωγή και περιστροφή των διπόλων.^[38, 39] Πιο συγκεκριμένα, τα πολικά μόρια, όπως οι πολυφαινόλες και τα ιοντικά διαλύματα, απορροφούν έντονα την ενέργεια μικροκυμάτων με αποτέλεσμα την ταχεία αύξηση της θερμοκρασίας και τη γρήγορη ολοκλήρωση της αντίδρασης.^[39]

Η MAE διεξάγεται σε ατμοσφαιρική πίεση με ισχύ 25-750 W, χρόνο εκχύλισης για τα φυσικά προϊόντα από 30 s έως 10 min και θερμοκρασία 100-150 °C.^[39, 40] Η μέθοδος αυτή επιτρέπει την εκρόφιση των ενώσεων ενδιαφέροντος από τη φυτική μήτρα με τη θέρμανση των ελεύθερων μορίων νερού που υπάρχουν στους αδένες και τα αγγειακά συστήματα, επιτρέποντας την διαστολή και κατ' επέκταση την ροή των εκχυλισμένων μορίων προς τον οργανικό διαλύτη. Συνήθως, το δείγμα βυθίζεται σε έναν μόνο διαλύτη ή σε μίγμα διαλυτών που απορροφούν έντονα την ενέργεια μικροκυμάτων και η αυξημένη θερμοκρασία αυξάνει τη διείσδυση του διαλύτη στη μήτρα και τα συστατικά απελευθερώνονται στον περιβάλλοντα θερμό διαλύτη.^[39]

Η MAE έχει αρκετά πλεονεκτήματα σε σχέση με άλλες μεθόδους εκχύλισης, όπως ο υπερηχητικός έλεγχος, ο μικρότερος χρόνος εκχύλισης, η χρήση λιγότερης ποσότητας διαλύτη, ο υψηλότερος ρυθμός εκχύλισης, η βελτιωμένη απόδοση εκχύλισης και η δυνατότητα ανάδευσης κατά τη διάρκεια της εκχύλισης που βελτιώνει το φαινόμενο μεταφοράς μάζας και εκχυλίζει ακόμη και μικροσκοπικά ίχνη συστατικών.^[38-40] Ωστόσο, τα κύρια μειονεκτήματα της MAE είναι το υψηλό κόστος κεφαλαίου και η πιθανή

διήθηση του δείγματος, εάν χρησιμοποιούνται λεπτά σωματίδια για την εκχύλιση των συστατικών.^[39]



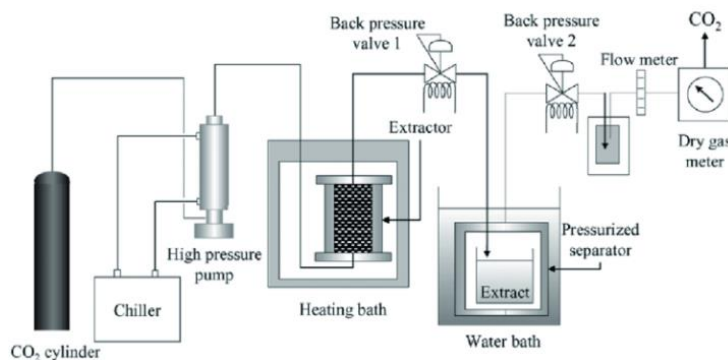
Σχήμα 8: Διάταξη εκχύλισης με μικροκύματα (MAE)^[38]

1.3.2.3. Εκχύλιση με Υπερκρίσιμα Υγρά (SFE)

Η εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά (SFE) είναι μια εξαιρετικά αποτελεσματική και εναλλακτική μέθοδος εκχύλισης που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση πολυφαινολών.^[39] Μία βασική διάταξη SFE αποτελείται από μια δεξαμενή με κινητή φάση, συνήθως CO₂, μια αντλία για την πίεση του αερίου, ένα δοχείο και μια αντλία συνδιάλυτη, έναν φούρνο που περιέχει το δοχείο εκχυλίσματος, έναν ρυθμιστή για τη διατήρηση της υψηλής πίεσης στο εσωτερικό του συστήματος και ένα δοχείο παγίδευσης. Συνήθως, στο σύστημα μπορούν να συνδεθούν διαφορετικοί τύποι μετρητών, όπως μετρητής ροής και μετρητής ξηρού/υγρού αερίου.^[40]

Το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο υπερκρίσιμο υγρό είναι το υπερκρίσιμο CO₂, το οποίο είναι ασφαλές, μη τοξικό, έχει χαμηλό κόστος, χαμηλή κρίσιμη θερμοκρασία (31,1 °C) και χαμηλή κρίσιμη πίεση (74 bar).^[38, 39] Ωστόσο, δεδομένου ότι το CO₂ είναι μη πολικό, δεν αποτελεί αποτελεσματικό διαλύτη για πολικές πολυφαινόλες. Για να βελτιωθεί η διαλυτική του ικανότητα και να αυξηθεί η απόδοση της εκχύλισης, προστίθενται οργανικοί συνδιαλύτες όπως η μεθανόλη, η αιθανόλη και η ακετόνη.^[39]

Η μέθοδος αυτή μπορεί να εκχυλίσει θερμικά σταθερές ενώσεις και συστατικά υψηλού βρασμού σε σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες. Μπορεί επίσης να εκχυλίσει θερμικά ασταθείς ενώσεις με τη χρήση χαμηλών θερμοκρασιών.^[38] Παρά τα οφέλη της διατήρησης της δομικής ακεραιότητας των πολυφαινολών, απαιτείται υψηλό κόστος για τη δημιουργία αυτής της μεθόδου και απαιτείται επίσης αυξημένη πίεση για τη λειτουργία του εξοπλισμού, δηλαδή κατανάλωση μεγάλης ποσότητας ενέργειας.^[40]

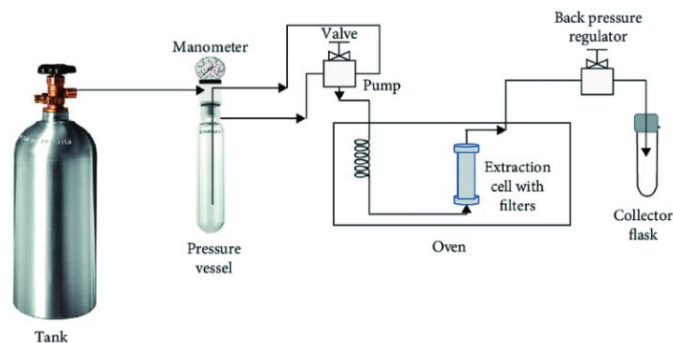


Σχήμα 9: Διάταξη εκχύλισης με υπερκρίσιμα υγρά (SFE)^[38]

1.3.2.4. Εκχύλιση με Υγρά υπό Πίεση (PLE) ή Επιταχυνόμενη Εκχύλιση με Διαλύτη (ASE)

Η εκχύλιση με υγρό υπό πίεση (PLE) είναι μια νέα τεχνική εκχύλισης που έχει πολλά πλεονεκτήματα σε σχέση με τις συμβατικές μεθόδους εκχύλισης. Η PLE χρησιμοποιεί οργανικούς διαλύτες σε υψηλές πιέσεις (500-3000 psi) και θερμοκρασίες (40-200 °C) πάνω από το κανονικό σημείο βρασμού τους για την εκχύλιση ενώσεων από στερεά δείγματα σε σύντομο χρονικό διάστημα.^[38, 39] Η επιταχυνόμενη εκχύλιση με διαλύτη (ASE) είναι συνώνυμος όρος της PLE και αποτελεί ένα είδος εκχύλισης με διαλύτη υπό πίεση, η οποία πραγματοποιείται σε υψηλότερες θερμοκρασίες και για να διατηρηθούν οι διαλύτες σε υγρή κατάσταση σε υψηλή θερμοκρασία. Η υψηλή θερμοκρασία επιταχύνει τη διαχυτικότητα των διαλυτών, η οποία με τη σειρά της αυξάνει την κινητικότητα της εκχύλισης.^[39]

Οι βασικές παράμετροι που επηρεάζουν τη μέθοδο PLE είναι το μέγεθος του δείγματος, ο διαλύτης, η πίεση, η θερμοκρασία, το pH, ο ρυθμός ροής και ο χρόνος εκχύλισης.^[38] Σε σύγκριση με άλλες μεθόδους, η PLE καταναλώνει λιγότερη ποσότητα διαλύτη (15-40 mL), απαιτεί μόνο 15 έως 50 λεπτά για την εκχύλιση ενώσεων και δεν απαιτεί διήθηση και χειρισμό του δείγματος.^[38] Επιπλέον, η PLE είναι κατάλληλη για τη γρήγορη εκχύλιση θερμικά σταθερών οργανικών ενώσεων, όμως δεν είναι κατάλληλη για την εκχύλιση θερμοσταθερών φαινολικών ενώσεων λόγω των υψηλών θερμοκρασιών που μπορεί να έχουν επιβλαβείς επιδράσεις στη δομή και τη λειτουργική τους δραστηριότητα.^[39] Ωστόσο, το υψηλό κόστος εξοπλισμού και η ανάγκη διεξοδικής βελτιστοποίησης των μεταβλητών αποτελούν τα κύρια μειονεκτήματα της μεθόδου αυτής.^[38]



Σχήμα 10: Διάταξη εκχύλισης με υγρά υπό πίεση (PLE)^[38]

1.4. Άγριο Τριαντάφυλλο

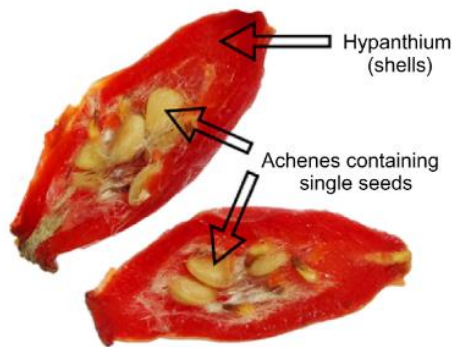
Το άγριο τριαντάφυλλο ή «τριαντάφυλλο του σκύλου» (*Rosa Canina L.*) είναι ένας ερμαφρόδιτος θάμνος ύψους έως και 3,5 μέτρα, μερικές φορές αναρριχώμενος, και τα κλαδιά του είναι καμπυλωτά ή τοξωτά.^[42, 43] Οι καρποί συναντώνται σε ποικίλα μεγέθη και χρώματα από κίτρινο-πορτοκαλί έως σκούρο κόκκινο και μερικές φορές ακόμη και μαύρο, ανάλογα με το μοτίβο των χρωστικών ουσιών, όπως τα ασκαροτενοειδή, τα φλαβονοειδή ή οι ανθοκυανίνες.^[44] Αντίθετα, τα πέταλά του έχουν άσπρο ή ανοιχτό ροζ χρώμα, σπάνια βαθύ ροζ, και οι καρποί αργούν να ωριμάσουν.^[43]

Το γένος *Rosa* περιλαμβάνει πάνω από 100 είδη και είναι ευρέως διαδεδομένα σε εύκρατα έως υποτροπικά οικοσυστήματα στην Ευρώπη, ιδίως στην περιοχή της Μεσογείου, στη Βόρεια Αμερική, στη Δυτική και Βόρεια Ασία.^[43-45] Η κατανάλωση του τριαντάφυλλου είναι δημοφιλής στις χώρες της Ανατολικής Ευρώπης, την Πορτογαλία, τη Γερμανία και τις σκανδιναβικές χώρες και έχει σημαντικό ρόλο για την άγρια ζωή και τη βιολογική ποικιλομορφία.^[42, 45]



Σχήμα 11: Καρποί άγριου τριαντάφυλλου (*Rosa Canina L.*)^[46]

Οι ψευδοκαρποί είναι αθροιστικοί καρποί που αποτελούνται από πολλές αχάινες, καρποί που περιέχουν σπόρους των τριανταφύλλων, που περικλείονται από το υπάνθιο, ένα διευρυμένο, κόκκινο, σαρκώδες ανθικό κύπελλο (Σχήμα 11, Σχήμα 12). Οι καρποί της *Rosa Canina L.* περιέχουν περισσότερα από 4500 γνωστά φλαβονοειδή και είναι οι μόνοι καρποί με αποδεδειγμένες φαρμακευτικές ιδιότητες. Τέλος, το άγριο τριαντάφυλλο διαθέτει ένα μοναδικό μειωτικό και αναπαραγωγικό σύστημα που αποτελείται από μια μειόζη με τετραπλοειδή ωοκύτταρα και απλοειδή γύρη που σχηματίζουν έναν μόνιμο πενταπλοειδή οργανισμό.^[46]



Σχήμα 12: Μέρη του άγριου τριαντάφυλλου (*Rosa Canina L.*)^[46]

1.4.1. Σύσταση Άγριου Τριαντάφυλλου

Η τριανταφυλλιά (*Cynosbati fructus*) περιλαμβάνει διάφορες βιολογικά ενεργές ενώσεις όπως σάκχαρα, οργανικά οξέα, πηκτίνες, φλαβονοειδή, ταννίνες, καροτενοειδή, λιπαρά οξέα, βιταμίνες, μακροστοιχεία και μικροστοιχεία. Μερικές από τις βιταμίνες που εμπεριέχονται στο τριαντάφυλλο είναι κυρίως η βιταμίνη C αλλά και άλλες βιταμίνες όπως B1, B2, K, PP και E.^[43, 45] Αναλυτικότερα, η περιεκτικότητα του τριαντάφυλλου σε βιταμίνη C κυμαίνεται μεταξύ 30-1300 mg ανά 100 g υπερβαίνοντας κατά πολύ την περιεκτικότητα των εσπεριδοειδών, των φρούτων και των λαχανικών. Επίσης, ο καρπός του άγριου τριαντάφυλλου, εκτός των παραπάνω, περιέχει και άλλες βιταμίνες και μέταλλα, τοκοφερόλες, καρποειδή, αμινοξέα και αιθέρια έλαια.^[43]

Τα καροτενοειδή είναι κυρίως λυκοπένιο, β-καροτένιο, λουτεΐνη και ζεαξανθίνη. Οι τοκοφερόλες που ανιχνεύονται στο τριαντάφυλλο περιλαμβάνουν τις α- και γ-τοκοφερόλες. Τα φλαβονοειδή περιλαμβάνουν γλυκοζιτικά παράγωγα της κερκετίνης καθώς και κατεχίνη, κερκετίνη, ταξιφολίνη και εριοδικτυόλη.^[44]

Η επεξεργασία οποιουδήποτε μέρους του φυτού με σκοπό την αξιοποίηση των παραπάνω βιοενεργών ενώσεων οδηγεί στην παραγωγή υπολείμματος. Το υπόλειμμα αυτό, ή αλλιώς βιομάζα, εμπεριέχει ένα μέρος των ενώσεων αυτών αλλά συνήθως

απορρίπτεται. Η αξιοποίησή του με διάφορες μεθόδους, όπως η χρήση των NaDES χρήζει απαραίτητη για την ενίσχυση της κυκλικής οικονομίας.

1.4.2. Ιδιότητες Άγριου Τριαντάφυλλου

Όσον αφορά τις ιδιότητες της *Rosa Canina L.*, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι τα εκχυλίσματά της αναστέλλουν την ανάπτυξη του *Staphylococcus aureus* (MRSA) και είναι αποτελεσματικά στον σχηματισμό των βιοφιλμ. Οι φαινολικές ενώσεις που εμπεριέχονται στο άγριο τριαντάφυλλο προσδίδουν αντιοξειδωτικές, αντικαρκινογόνες και αντιμεταλλαξιγόνες ιδιότητες.^[43, 45] Οι πολυφαινολικές ενώσεις είναι δυνητικές αντιοξειδωτικές ουσίες και προστατευτικοί παράγοντες κατά της ανάπτυξης ασθενειών στον άνθρωπο.^[43] Η υψηλή αντιοξειδωτική δραστηριότητα αποδίδεται κυρίως στο ασκορβικό οξύ, το οποίο συνήθως κυμαίνεται από 3 g/kg έως 40 g/kg.^[44]

Πιο συγκεκριμένα, οι καρποί της τριανταφυλλιάς περιέχουν ουσίες που έχουν βιταμινούχες, στυπτικές, πηκτικές, χολερυθμιστικές, διουρητικές, αντιδιαρροϊκές, αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Επίσης, η περιεκτικότητα του καρπού σε μονοσακχαρίτες, ολιγοσακχαρίτες και πηκτίνες προσδίδει και αντιδιαβητικές ιδιότητες.^[43] Τα τριτερπενικά οξέα που περιέχονται στο τριαντάφυλλο είναι κυρίως γνωστά για τις ανοσοτροποποιητικές τους ιδιότητες. Το ουρσολικό και το ολεανολικό οξύ έχουν επιδείξει ηπατοπροστατευτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντικαρκινικές και αντιυπερλιπιδαιμικές ιδιότητες, ενώ το βετουλινικό οξύ αναστέλλει τον ίο της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας και προσδίδει αντιβακτηριακές, αντιμυκητιασικές, αντιφλεγμονώδεις, ανθελμινθικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες.^[44]

Άλλες σημαντικές ομάδες βιολογικά δραστικών ενώσεων που βρέθηκαν στο τριαντάφυλλο είναι τα γαλακτολιπίδια με αντιφλεγμονώδη, αντιοξειδωτική και αντικαρκινική δράση. Τέλος, τα ακόρεστα λιπαρά οξέα που περιέχονται στους σπόρους του τριαντάφυλλου θεωρούνται υπεύθυνα για τις ανασταλτικές επιδράσεις στην κυκλοοξυγενάση 1 και 2.^[44]

1.4.3. Εφαρμογές Άγριου Τριαντάφυλλου

Το αυξανόμενο ενδιαφέρον των καταναλωτών για τα φυτικά συμπληρώματα διατροφής και τα ιατροτεχνολογικά προϊόντα έχει επιταχύνει την αναζήτηση πρώτων υλών πλούσιων σε βιολογικά δραστικές ενώσεις, όπως το άγριο τριαντάφυλλο.^[44] Οι καρποί και τα άνθη της *Rosa Canina L.* χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα, στα καλλυντικά και στη φαρμακοβιομηχανία.^[42-45] Το τριαντάφυλλο έχει, επίσης, ένα πολύτιμο αιθέριο έλαιο που χρησιμοποιείται σε ένα ευρύ φάσμα πολλών βιομηχανιών.^[42]

Το τριαντάφυλλο χρησιμοποιείται κυρίως στη βιομηχανία τροφίμων για την παραγωγή μαρμελάδας, πουρέ, ζελέ, σιροπιού, κομπόστας, ποτού, κρασιού, πολτού, επιδόρπιου, μπισκότων, κέικ κ.ά.^[43, 45] Εκτός από την πλούσια περιεκτικότητα σε βιοδραστικά συστατικά, οι καρποί έχουν ένα πολύ ευχάριστο και εξαιρετικό άρωμα, το οποίο καθιστά το αποξηραμένο τριαντάφυλλο πολύ ωφέλιμο για την παραγωγή αρωματικών τσαγιών. Επίσης, το αποξηραμένο τριαντάφυλλο αυξάνει την διάρκεια ζωής των τροφίμων καθώς τα αποξηραμένα τρόφιμα έχουν μικρότερη περιεκτικότητα σε νερό.^[45]

Το άγριο τριαντάφυλλο χρησιμοποιείται πάνω από 2000 χρόνια ως φαρμακευτικό φυτό ξεκινώντας από τη θεραπεία των δαγκωμάτων του σκύλου. Επίσης, ήταν γνωστό στους ναυτικούς ως μέσο προστασίας από το σκορβούτο, λόγω της υψηλής συγκέντρωσης του φυτού σε βιταμίνη C, για αυτό και εξαπλώθηκε σε πολλές ηπείρους.^[46]

Έχουν διεξαχθεί πολλές μελέτες για τα βιοενεργά συστατικά του τριαντάφυλλου και του ελαίου τριαντάφυλλου σχετικά με την επίδρασή τους στην πρόληψη πολλών ασθενειών.^[45] Οι καρποί του άγριου τριαντάφυλλου χρησιμοποιούνται ήδη πολλά χρόνια στην παραδοσιακή πρόληψη και θεραπεία του κοινού κρυολογήματος, άλλων λοιμώξεων και διαφόρων φλεγμονωδών ασθενειών.^[43] Η *Rosa Canina L.*, όπως προαναφέρθηκε, εμπεριέχει καροτενοειδή τα οποία, όμως, δεν έχουν σημαντική βιοδραστικότητα. Ωστόσο, στην κατηγορία των λιπαρών οξέων εντάσσονται ένα γαλακτολιπίδιο, το λινελαϊκό οξύ και το α-λινολενικό οξύ, τα οποία παρουσιάζουν αντιφλεγμονώδη δράση. Επίσης, το γαλακτολιπίδιο έχει επιδείξει χονδροπροστατευτική ικανότητα in vitro.^[46]

Αναλυτικότερα, κάθε μέρος του φυτού χρησιμοποιείται σε διαφορετική θεραπεία. Οι ρίζες του φυτού θεραπεύουν τις αιμορροΐδες, τη δυσουρία, το βήχα και τους ρευματισμούς. Τα φύλλα χρησιμοποιούνται στα κρυολογήματα, στη γρίπη, στο βήχα, στον κνησμό και στο έκζεμα. Τα κλαδιά του φυτού εφαρμόζονται στη θεραπεία της πέτρας στα νεφρά. Το περίβλημα του καρπού χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση του κρυολογήματος, της γρίπης, του βήχα, της βρογχίτιδας, του άσθματος, της λοίμωξης, της ανοσολογικής νεφρίτιδας, των παθήσεων της χοληδόχου κύστης, των εγκαυμάτων, της ανεπάρκειας βιταμίνης C, των κολικών, των διαταραχών του κατώτερου ουροποιητικού συστήματος, της αρθρίτιδας, των ρευματικών διαταραχών, της διάρροιας και εφαρμόζεται ως διουρητικό, ως καθαρτικό, για πλύση των ματιών, για διαβήτη και για ανεπαρκή περιφερική κυκλοφορία. Τέλος, οι καρποί χρησιμοποιούνται για την προστασία των νεφρών, του κατώτερου ουροποιητικού συστήματος, ως διουρητικό, ως στυπτικό, ως καθαρτικό, για την οστεοαρθρίτιδα, τους ρευματισμούς, την ουρική αρθρίτιδα και ισχιαλγία, τα κρυολογήματα, τον πυρετό και την ανεπάρκεια βιταμίνης C.^[46]

1.5. Φαινολικές Ενώσεις

Οι φαινόλες είναι μια ετερογενής ομάδα ενώσεων που προέρχονται από τον δευτερογενή μεταβολισμό των φυτών. Οι φαινολικές ενώσεις δομικά έχουν τουλάχιστον έναν αρωματικό δακτύλιο στον οποίο συνδέονται μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες σε αρωματικές ή αλειφατικές δομές και υπάρχουν περισσότερες από 8000 γνωστές δομές.^[47,48] Ως πολυφαινόλες ορίζονται αυτές που δομικά αποτελούνται από τουλάχιστον δύο δακτυλίους φαινόλης και περιέχουν τουλάχιστον μία από τις υδροξυλομάδες. Η κατηγοριοποίηση των πολυφαινόλων γίνεται ανάλογα με τον αριθμό των δακτυλίων και τα δομικά στοιχεία που τους συνδέουν.^[48]

Τα τελευταία χρόνια, οι φαινολικές ενώσεις παρουσιάζουν αυξανόμενο ενδιαφέρον για την επιστήμη και τη βιομηχανία τροφίμων λόγω των ευεργετικών επιδράσεών τους στην υγεία. Μελέτες έχουν δείξει ότι η κατανάλωση τροφίμων πλούσιων σε φαινόλες οδηγεί σε μειωμένο ποσοστό χρόνιων ασθενειών, όπως ο διαβήτης, οι καρδιαγγειακές παθήσεις, η νόσος του Alzheimer, η νόσος του Parkinson και οι φλεγμονές. Οι φαινολικές ενώσεις θεωρούνται υπεύθυνες, σε κάποιο βαθμό, για αυτή την ευεργετική επίδραση. Ορισμένες φαινολικές ενώσεις έχουν παρουσιάσει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Αν και οι ακριβείς μηχανισμοί αυτής της αντιφλεγμονώδους δράσης δεν έχουν διευκρινιστεί πλήρως, παρατηρείται μια συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης τροφίμων πλούσιων σε αυτές τις ενώσεις και της μείωσης της φλεγμονώδους αντίδρασης.^[47]

Για να έχουν οι φαινολικές ενώσεις αντιφλεγμονώδη δράση είναι απαραίτητο να διαθέτουν τα παρακάτω δομικά χαρακτηριστικά:

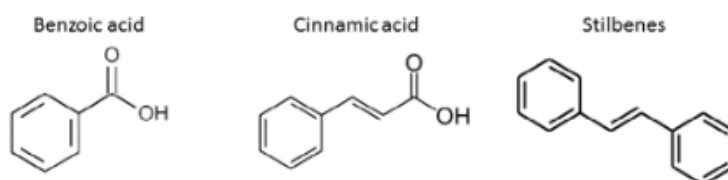
- επίπεδο σύστημα δακτυλίων,

- ακόρεστο στον δακτύλιο C ως κετονικό καρβονύλιο στο C4 και/ή διπλό δεσμό C2-C3,
- ύπαρξη υδροξυλομάδων στον δακτύλιο B και στα C5 και C7 του δακτυλίου A,
- ο αριθμός και η θέση των υδροξυλομάδων ως κατεχόλη στον δακτύλιο B,
- υδροξυλομάδα στη θέση 4' του δακτυλίου B στις φλαβόνες και στις φλαβονόλες,
- μεθυλίωση των υδροξυλομάδων στις θέσεις 3, 5 ή 4'
- μεθυλίωση της 3-υδροξυλομάδας
- μη γλυκοζυλίωση του μορίου.^[47]

Επίσης, εξίσου σημαντικές αποτελούν οι αντιοξειδωτικές, αντικαρκινικές, αντιαλλεργικές, αντιμικροβιακές, αντιθρομβωτικές ιδιότητές τους, καθώς και η προστασία των φυτών από παθογόνους μικροοργανισμούς και παράσιτα.^[39]

1.5.1. Φαινολικά Οξέα

Οι φαινολικές ενώσεις διακρίνονται στα φλαβονοειδή και στα μη φλαβονοειδή. Τα μη φλαβονοειδή χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τα παράγωγα του βενζοϊκού οξέος και του κινναμικού οξέος. Οι ενώσεις αυτές είναι ευρέως γνωστές ως φαινολικά οξέα. Σε αυτά ανήκουν και άλλες ενώσεις, όπως τα στυλβένια, οι τανίνες και οι λιγνίνες (Σχήμα 13).^[47, 48]



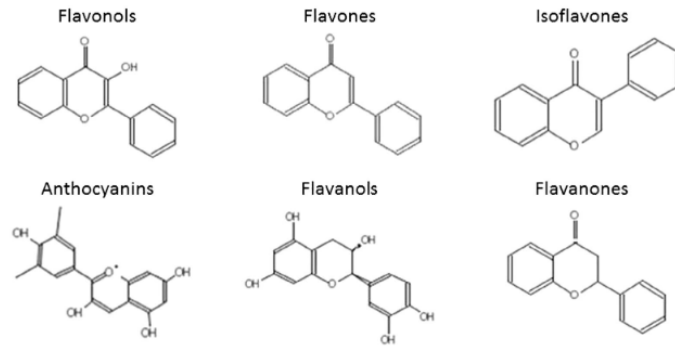
Σχήμα 13: Δομές φαινολικών οξέων^[47]

Ο αριθμός και η θέση των υδροξυλομάδων στον αρωματικό δακτύλιο δημιουργεί μια ποικιλία δομών και ενώσεων. Τα υδροξυβενζοϊκά οξέα έχουν κοινή δομή C6-C1, με πιο γνωστά το γαλλικό, το π-υδροξυβενζοϊκό, το πρωτοκατεχοϊκό, το βανιλικό και το συριγγικό οξύ. Τα υδροξυκινναμωμικά οξέα είναι αρωματικές ενώσεις με πλευρική αλυσίδα τριών ανθράκων (C6-C3), με πιο γνωστά το καφεϊκό, το φερουλικό, το π-κουμαρικό και το σιναπικό οξύ.^[39]

Οι φαινολικές ενώσεις συνδέονται με διάφορες λειτουργίες, όπως η πρόσληψη θρεπτικών συστατικών, η σύνθεση πρωτεϊνών, η ενζυμική δραστηριότητα και η φωτοσύνθεση. Σημαντική είναι και η προστασία που παρέχουν έναντι διάφορων ασθενειών, όπως η στεφανιαία νόσος, ο καρκίνος και τα εγκεφαλικά επεισόδια.^[39]

1.5.2. Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή είναι οι πιο κυρίαρχες πολυφαινόλες και δευτερογενείς μεταβολίτες με πάνω από 4500 διαφορετικές ενώσεις που έχουν ταυτοποιηθεί μέχρι σήμερα. Αποτελούνται από δύο αρωματικούς δακτυλίους (A και B) που συνδέονται μεταξύ τους με τρία άτομα άνθρακα, σχηματίζοντας έναν οξυγονονωμένο ετεροκυκλικό δακτύλιο (C).^[48] Η ποικιλομορφία του ετεροκυκλικού δακτυλίου οδηγεί σε επιμέρους κατηγοριοποίηση σε φλαβονόλες, φλαβόνες, ισοφλαβόνες, ανθοκυανίνες, φλαβανόλες, φλαβανόνες κ.ά. (Σχήμα 14).^[47, 48]



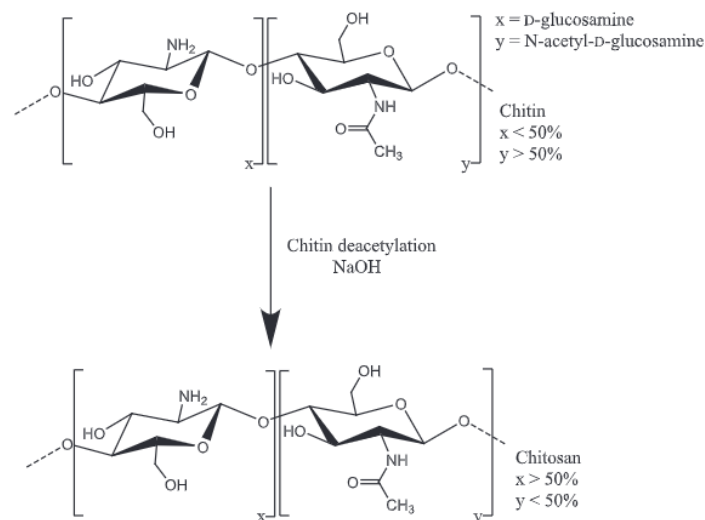
Σχήμα 14: Δομές φλαβονοειδών ενώσεων^[47]

Έχουν ευρεία φαρμακολογική δράση. Αναλυτικότερα, έχουν νευροπροστατευτικές και αντισπασμωδικές επιδράσεις στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ) και φροντίζουν για την πρόληψη και θεραπεία καρδιαγγειακών παθήσεων και της παχυσαρκίας.^[39]

1.6. Χιτοζάνη (CS)

Η χιτοζάνη είναι ένας γραμμικός πολυσακχαρίτης που αποτελείται από D-γλυκοζαμίνη (αποακετυλιωμένη μονάδα) και N-ακετυλο-D-γλυκοζαμίνη (ακετυλιωμένη μονάδα) που είναι συνδεδεμένα με β-1,4 γλυκοζιτικό δεσμό.^[49] Είναι ένας κατιονικός πολυσακχαρίτης που λαμβάνεται από την αποακετυλίωση της χιτίνης (Σχήμα 15). Η χιτοζάνη είναι μη τοξική, βιοσυμβατή και χρησιμοποιείται ευρέως για τις αντι-υπερχοληστερινικές, αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές της δραστηριότητες και σε διάφορες εφαρμογές τροφίμων και φαρμάκων.^[50]

Η χιτίνη, ή [πολυ-β-(1-4)-N-ακετυλο-D-γλυκοζαμίνη], είναι ο δεύτερος διαδεδομένος και σε αφθονία πολυσακχαρίτης στον κόσμο μετά την κυτταρίνη και λαμβάνεται με την απομετάλλωση και την αποπρωτεϊνοποίηση πρώτων υλών.^[36] Σε φυσική κατάσταση η χιτίνη εμφανίζεται ως διατεταγμένα κρυσταλλικά μικροϊνίδια που αποτελούν δομικά συστατικά στον εξωσκελετό των αρθροπόδων ή στα κυτταρικά τοιχώματα των μυκήτων και των ζυμών. Παράγεται, επίσης, από πολλούς άλλους ζωντανούς οργανισμούς του κατώτερου φυτικού και ζωικού βασιλείου, εξυπηρετώντας πολλές λειτουργίες όπου απαιτείται ενίσχυση και αντοχή.^[36, 51] Ωστόσο, η χρήση της χιτίνης είναι περιορισμένη λόγω της μη διαλυτότητάς της στο νερό, τα οργανικά και τα φυσιολογικά μέσα.^[36]



Σχήμα 15: Χημική δομή χιτίνης και χιτοζάνης^[36]

Όταν ο βαθμός αποακετυλίωσης της χιτίνης φθάσει περίπου το 50% (ανάλογα με την προέλευση του πολυμερούς), γίνεται διαλυτή σε υδατικά όξινα μέσα και ονομάζεται χιτοζάνη. Η διαλυτοποίηση πραγματοποιείται με πρωτονίωση της ομάδας -NH₂ στη θέση C-2 της επαναλαμβανόμενης μονάδας D-γλυκοζαμίνης, με αποτέλεσμα ο πολυσακχαρίτης να μετατρέπεται σε πολυηλεκτρολύτη σε όξινα μέσα. Εφόσον η χιτοζάνη είναι διαλυτή σε υδατικά διαλύματα, χρησιμοποιείται σε μεγάλο βαθμό σε διάφορες εφαρμογές ως διαλύματα, πηκτές, μεμβράνες και ίνες.^[51]

Η διαλυτότητα της χιτοζάνης είναι μια πολύ δύσκολη παράμετρος για να προσδιοριστεί καθώς εξαρτάται από πολλές παραμέτρους όπως ο βαθμός ακετυλίωσης, η συγκέντρωση ιόντων, το pH, η φύση του οξέος που χρησιμοποιείται για την πρωτονίωση και την κατανομή των ακετυλομάδων κατά μήκος της αλυσίδας, καθώς και οι συνθήκες απομόνωσης και ξήρανσης του πολυσακχαρίτη.^[51] Πιο συγκεκριμένα, η χιτοζάνη είναι διαλυτή σε pH κάτω του 6 και σε αραιά οργανικά όξινα διαλύματα, περιορίζοντας, έτσι, την εφαρμογή και τη χρήση της στους τομείς των τροφίμων.^[36, 51] Ωστόσο, μέσω χημικής τροποποίησης με την εισαγωγή λειτουργικών ομάδων στις ομάδες υδροξυλίου ή αμινομάδες της χιτοζάνης, μπορούν να ληφθούν νέα παράγωγα με ενισχυμένη διαλυτότητα και βιολογικές δραστηριότητες.^[36]

Η χιτοζάνη παρουσιάζει αντιμικροβιακή δράση έναντι μιας ευρείας ποικιλίας μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων βακτηρίων, νηματοειδών μυκήτων και ζυμομυκήτων. Η δράση αυτή οφείλεται στη θετικά φορτισμένη αμινομάδα της η οποία αλληλεπιδρά με την αρνητικά φορτισμένη κυτταρική μεμβράνη των μικροβίων με αποτέλεσμα τη διαρροή πρωτεϊνικών και ενδοκυτταρικών συστατικών των μικροοργανισμών. Παρουσιάζει ισχυρότερη αντιβακτηριακή δράση για τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια παρά για τα θετικά κατά Gram βακτήρια. Επίσης, καταστέλλει τη μυκητιασική λοίμωξη αναστέλλοντας την ανάπτυξη του μυκηλίου, την παραγωγή σπορίων, την απελευθέρωση ζωοσπορίων και τη βλάστηση των σπορίων. Τέλος, η χιτοζάνη έχει την ικανότητα να διεισδύσει στο κυτταρικό τοίχωμα των βακτηρίων και να αλληλεπιδράσει με το DNA, γεγονός που μπορεί να παρεμποδίσει την παραγωγή βασικών πρωτεϊνών και ενζύμων.^[49]

Η χιτοζάνη αποκτά μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον λόγω της βιοαποικοδομησιμότητας, της μη τοξικότητας και των μη αλλεργιογόνων ιδιοτήτων της, με αποτέλεσμα να αποκτά αυξανόμενη ζήτηση ως χρήσιμο βιοπολυμερές. Πλέον, η χιτοζάνη και τα παράγωγά της χρησιμοποιούνται ευρέως στους τομείς της βιοϊατρικής, των τροφίμων, της γεωργίας, της βιοτεχνολογίας και της φαρμακευτικής, καθώς έχουν αναγνωρισθεί ως ασφαλή συστατικά από τον FDA και την Ευρωπαϊκή Ένωση. Η χιτοζάνη παρουσιάζει διάφορες βιολογικές δραστηριότητες, όπως αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, αντικαρκινικές, ανοσοτροποποιητικές, αιμοστατικές και επουλωτικές ιδιότητες. Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες της χιτοζάνης έχουν μεγάλη αξία στη βιομηχανία τροφίμων καθώς συμβάλλουν στη συντήρηση και κατ' επέκταση αύξηση του χρόνου ζωής και της ποιότητας των τροφίμων. Τέλος, έχει και άλλες ιδιότητες όπως η πρόσληψη λίπους, η ζελατινοποίηση, οι ιδιότητες γαλακτωματοποίησης και η δυνατότητα σχηματισμού φιλμ με βελτιωμένες φυσικές ιδιότητες για χρήση ως βρώσιμα φιλμ ή επιστρώσεις.^[36]

1.6.1. Αντίδραση Maillard

Η αντίδραση Maillard (MR) είναι μια αυθόρμητη και μη ενζυματική αντίδραση μαυρίσματος μεταξύ αμινοξέων (ομάδες αμινών) και αναγωγικών σακχάρων (ομάδες καρβονυλίου) η οποία πραγματοποιείται με τη χρήση θερμότητας. Τα προϊόντα της αντίδρασης αυτής είναι αυτά που προκύπτουν κατά τη θερμική επεξεργασία στα

τρόφιμα τροποποιώντας τις ιδιότητές τους, όπως η σταθερότητα, το χρώμα και το άρωμα, και παράγοντας αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ενώσεις.^[36] Η MR εφαρμόζεται σε πολλά τρόφιμα για τη βελτίωση της λειτουργικότητας των πρωτεϊνών και πολλές φορές τα αρώματα μαυρίσματος είναι επιθυμητά σε ορισμένα τρόφιμα.^[50]

Η αντίδραση Maillard πραγματοποιείται σε τρία κύρια στάδια, το πρώιμο, το προχωρημένο και το τελικό στάδιο και εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως το pH (εννοείται σε ουδέτερα προς βασικά pH), ο χρόνος, η θερμοκρασία, η συγκέντρωση και ο τύπος των αντιδρώντων.^[50, 52] Στο προχωρημένο και στο τελικό στάδιο της MR σχηματίζονται κυρίως πτητικές ουσίες, γλυκοζυλιωμένα φθορίζοντα προϊόντα, καφέ πολυμερή (5-υδροξυμεθυλική φουρφουράλη/5-HMF) και συμπολυμερή που περιέχουν άζωτο (μελανοϊδίνη).^[53] Στα τελικά προϊόντα της αντίδρασης έχει σχηματιστεί μια ομάδα ενώσεων με καφέ χρώμα που περιέχουν φουρανικό δακτύλιο και άζωτο. Οι ενώσεις αυτές έχουν πολύπλοκες δομές με αποτέλεσμα να μην έχουν κατανοηθεί πλήρως οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες.^[50]

Η χιτοζάνη, λόγω της παρουσίας ελεύθερων αμινομάδων, μπορεί να αντιδράσει με την ομάδα καρβονυλίου των αναγωγικών σακχάρων (π.χ. γλυκόζη) και κατ' επέκταση να συμμετέχει στην αντίδραση Maillard. Παρά το ευρύ φάσμα των ιδιοτήτων της, παρουσιάζει κακή διαλυτότητα σε ουδέτερα και βασικά pH. Προκειμένου, λοιπόν, να αυξηθεί η διαλυτότητά της προστίθεται μια υδρόφιλη λειτουργική ομάδα. Συνήθως χρησιμοποιούνται υδατάνθρακες, μονοσακχαρίτες και δισακχαρίτες, καθώς είναι απλά και οικονομικά μόρια.^[52]

Η χιτοζάνη παρουσιάζει καλές αντιοξειδωτικές ικανότητες, ωστόσο το σύμπλοκο χιτοζάνης-γλυκόζης φαίνεται να έχει ενισχυμένες αντιοξειδωτικές ικανότητες.^[50] Η αντίδραση θέρμανσης μεταξύ χιτοζάνης ή παραγώγων της με σακχαρίτες ή πρωτεΐνες, εκτός της βελτίωσης της διαλυτότητάς της στο νερό, ενίσχυσε το αντιμικροβιακό και αντιοξειδωτικό της δυναμικό. Επίσης, τα προϊόντα της MR αποτελούν πολλά υποσχόμενα συντηρητικά σε διάφορες τροφές λόγω της αντιοξειδωτικής και βακτηριοστατικής τους δράσης.^[36] Τέλος, πολλές έρευνες έχουν δείξει ότι η παρασκευή παραγώγων χιτοζάνης μέσω της MR γίνεται με πολλές μεθόδους και τεχνικές και φαίνεται να φέρουν αξιόλογα αποτελέσματα στη βιομηχανία τροφίμων λόγω των βελτιωμένων τεχνολογικών ιδιοτήτων τους.^[36, 52]

1.6.2. Φιλμ Χιτοζάνης

Η χιτοζάνη αποτελεί κατάλληλο υλικό για επικάλυψη και συσκευασία λόγω της αντιμικροβιακής και αντιοξειδωτικής της δράσης, του καλού φραγμού οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα και της ιδιότητάς της να σχηματίζει φιλμ.^[49, 54] Πολλές φορές στα φιλμ χιτοζάνης ενσωματώνονται βιοδραστικές ενώσεις (π.χ. άγριο τριαντάφυλλο) με σκοπό την αύξηση της διαλυτότητας και της σταθερότητας των φιλμ. Ωστόσο, η προσθήκη βιοδραστικών ενώσεων ενδεχομένως να οδηγεί στη μεταβολή των φυσικοχημικών και μηχανικών ιδιοτήτων των φιλμ.^[54]

1.6.2.1. Ιδιότητες των Φιλμ Χιτοζάνης

Οι φυσικές και λειτουργικές ιδιότητες των φιλμ εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες όπως το μοριακό βάρος, ο βαθμός αποακετυλίωσης της χιτοζάνης, ο τύπος και η συγκέντρωση των όξινων διαλυμάτων και των πλαστικοποιητών, καθώς και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες (π.χ. pH, θερμοκρασία) της παρασκευής των φιλμ. Τα φιλμ χιτοζάνης με υψηλό βαθμό αποακετυλίωσης (90%) παρουσιάζουν αύξηση της αντοχής σε εφελκυσμό με την αύξηση του μοριακού βάρους της χιτοζάνης. Επίσης, αυτά που

παρασκευάστηκαν με χιτοζάνη με πλήρη αποακετυλίωση έχουν υψηλότερη μηχανική αντοχή από αυτά με χαμηλότερο βαθμό αποακετυλίωσης της τάξης 80-85%.^[49]

Τα φιλμ χιτοζάνης έχουν επιλεκτική διαπερατότητα στο O₂ και στο CO₂ και καλές μηχανικές ιδιότητες, όπως αντοχή σε εφελκυσμό και επιμήκυνση κατά τη θραύση. Ωστόσο, παρουσιάζουν υψηλή διαπερατότητα υδρατμών το οποίο περιορίζει τη χρήση τους. Μπορεί να έχουν χαμηλό φράγμα υγρασίας αλλά η ανεπάρκεια αυτή μπορεί να βελτιωθεί με την ενσωμάτωση υδρόφοβων ουσιών.^[49]

Πολλές φορές για την τροποποίηση των φυσικών ιδιοτήτων προστίθενται πλαστικοποιητές στο πολυμερές. Η προσθήκη αυτή καθιστά το φιλμ περισσότερο εύκαμπτο και λιγότερο εύθραυστο λόγω της μείωσης των διαμοριακών δεσμών μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων με αποτέλεσμα την επιμήκυνση του φιλμ. Επιπλέον, η προσθήκη πλαστικοποιητή επιφέρει δομικές τροποποιήσεις στο δίκτυο της χιτοζάνης αυξάνοντας την διαπερατότητα υδρατμών των φιλμ χιτοζάνης. Αυτό συμβαίνει καθώς αυξάνεται ο ελεύθερος όγκος και η κίνηση των μορίων του πολυμερούς δικτύου καθιστώντας το δίκτυο λιγότερο πυκνό και κατ' επέκταση διαπερατό.^[49]

Όσον αφορά την αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης, άρα και των φιλμ, αυξάνεται με την μείωση του μοριακού βάρους. Η χιτοζάνη με υψηλό βαθμό αποακετυλίωσης παρουσιάζει ισχυρότερη αντιβακτηριακή δράση από αυτή με υψηλότερο ποσοστό ακετυλιωμένων αμινομάδων. Τέλος, η δράση αυτή εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό και από το pH του μίγματος.^[49]

Η χιτοζάνη δρα ως δευτερογενές αντιοξειδωτικό εμποδίζοντας την έναρξη της οξείδωσης των λιπιδίων μέσω της δέσμευσης με ιόντα μετάλλων. Ωστόσο, τα φιλμ χιτοζάνης παρουσιάζουν χαμηλή ή καθόλου αντιοξειδωτική δράση. Για την αύξηση της δράσης αυτής είναι απαραίτητες κατάλληλες χημικές τροποποιήσεις του πολυμερούς της χιτοζάνης. Αναλυτικότερα, η χιτοζάνη με υψηλότερο βαθμό αποακετυλίωσης έχει περισσότερες αμινομάδες για να ενισχύσει την αντιοξειδωτική της δράση.^[49]

1.6.2.2.Εφαρμογές των Φιλμ Χιτοζάνης

Το ενδιαφέρον έχει στραφεί στην χιτοζάνη λόγω της βιοαποικοδομησιμότητάς της, της βιοσυμβατότητάς της και των αντιοξειδωτικών και αντιμικροβιακών δραστηριοτήτων της, όπως ήδη προαναφέρθηκε.^[49] Τα χαρακτηριστικά αυτά οδηγούν στην εφαρμογή της σε πολλούς τομείς όπως η φαρμακευτική, η βιοτεχνολογία, η βιοϊατρική, η γεωργία και η επεξεργασία τροφίμων.^[54]

Όσον αφορά τον τομέα τροφίμων, τα φιλμ χιτοζάνης παρέχουν μηχανική προστασία και προστασία φραγμού για τα τρόφιμα, απόρροια του οποίου αποτελεί η διατήρηση της ποιότητας και η παράταση της διάρκειας ζωής των τροφίμων. Ο έλεγχος της ανταλλαγής αερίων και κυρίως του οξυγόνου επιτρέπει τον καλύτερο έλεγχο της ωρίμανσης των φρούτων και μειώνει την οξείδωση των ευαίσθητων στο οξυγόνο τροφίμων και το τάγγισμα των πολυακόρεστων λιπών. Επίσης, λειτουργούν και ως φορείς διαφόρων δραστικών ουσιών για την παροχή συγκεκριμένων ιδιοτήτων, την ενίσχυση των προστατευτικών λειτουργιών και τη βελτίωση της ποιότητας και της διάρκειας ζωής των συσκευασμένων τροφίμων και γεωργικών προϊόντων.^[49]

Στην παραγωγή επιδέσμων τραυμάτων χρησιμοποιούνται συχνά βιοπολυμερή, όπως η χιτοζάνη. Λόγω των φυσικοχημικών και βιολογικών ιδιοτήτων της, της ικανότητας σχηματισμού φιλμ και των βλεννοσυγκολλητικών χαρακτηριστικών της βοηθά στην αναδιαμόρφωση του ιστού, στην ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των φλεγμονωδών κυττάρων στους κοκκώδεις ιστούς και στη δραστηριότητα των

μακροφάγων και κατ' επέκταση στη διαδικασία επούλωσης. Τελικά, πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η χιτοζάνη συμβάλλει σε μεγάλο βαθμό στη μείωση του χρόνου επούλωσης και του μεγέθους της τελικής ουλής.^[55]

Κεφάλαιο 2

Πειραματικό Μέρος

2. Πειραματικό Μέρος

2.1. Σκοπός

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτελεί η ανάπτυξη μιας πράσινης διεργασίας επιτυγχάνοντας τα εξής:

- Σχεδιασμός, σύνθεση και χαρακτηρισμός φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών NaDES.
- Προκαταρκτική μελέτη για την επιλογή του καταλληλότερου NaDES και αξιοποίηση των NaDES ως διαλύτες και ως πλαστικοποιητές για τον σχηματισμό φιλμ χιτοζάνης.
- Εκχύλιση του υπάνθιου του άγριου τριαντάφυλλου με χρήση NaDES και υπερήχων (UAE).
- Μελέτη ενίσχυσης της βιοδραστικότητας του φιλμ χιτοζάνης: ενσωμάτωση του εκχυλίσματος στα φιλμ χιτοζάνης.
- Αξιοποίηση υπολείμματος άγριου τριαντάφυλλου (βιομάζα), έπειτα από την επεξεργασία του καρπού για την παραλαβή αιθέριου ελαίου, με επεξεργασία με χρήση NaDES και ενσωμάτωσή του στα φιλμ χιτοζάνης.
- Μελέτη φυσικοχημικών και μηχανικών ιδιοτήτων των φιλμ χιτοζάνης.

2.2. Όργανα, Συσκευές και Χημικά Αντιδραστήρια

Στους Πίνακες 2 και 3 παρουσιάζονται τα όργανα, οι συσκευές και τα χημικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν κατά την διεξαγωγή των πειραμάτων.

Πίνακας 2: Όργανα και συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν

| Όργανα-Συσκευές | Κατασκευαστής | Μοντέλο |
|---|-------------------------|--------------------|
| Ζυγός Ακριβείας (μέχρι 110 g) | KERN | ADJ 200-4 |
| Ζυγός Ακριβείας (μέχρι 2 g) | OHAUS CORPORATION | E01140 |
| Μαγνητικός αναδευτήρας με θερμαινόμενο μάτι | Radleys Standard | RR91200 |
| Αναδευτήρας τύπου Vortex | Lbx instruments | VORX-005-001 |
| Λουτρό Υπερήχων | Witeg | WUC-A02H |
| Σύστημα Υπερήχων με probe | Sonics & Materials Inc. | VCX 400 |
| Αντλία Κενού για Ξήρανση | Edwards | - |
| Αντλία Κενού για Διήθηση | KNF NEUBERGER LABOPORT | - |
| Πεχάμετρο | Metrohm | 744 |
| Φυγόκεντρος | MSE | - |
| Φασματοφωτόμετρο UV-Vis | Jasco | V-770 |
| Φασματόμετρο FT-IR | Bruker | Alpha II |
| Φασματοφωτόμετρο δειγματοφορέα πηγαδίων (microplate reader) | BioTek instruments | Epoch 2 |
| Φούρνος | Gallenkamp | Hotbox Oven Size 2 |
| Επωαστικό | Gallenkamp | - |
| Αναλυτής Υφής | Stable Micro Systems | TA-XT2i |
| Συσκευή Υπερκάθαρου Νερού | ELGA | PQDIUM1 |

Πίνακας 3: Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν

| Αντιδραστήριο | Μοριακός Τύπος | Προμηθευτής |
|-------------------|--|-------------|
| Νερό (Υπερκάθαρο) | H ₂ O | - |
| Βεταΐνη (άνυδρη) | C ₅ H ₁₁ NO ₂ | Alfa Aesar |

| | | |
|--------------------------------|--|-------------------------|
| Γλυκίνη | C ₂ H ₅ NO ₂ | - |
| Γλυκόζη | C ₆ H ₁₂ O ₆ | Sigma |
| DL-Γαλακτικό Οξύ | C ₃ H ₆ O ₃ | Labkem |
| Οξικό Οξύ | CH ₃ COOH | Honeywell |
| Άγριο Τριαντάφυλλο | - | Korres Natural Products |
| Αιθανόλη | C ₂ H ₆ O | Fisher Scientific |
| Καυστικό Νάτριο | NaOH | Penta |
| Χιτοζάνη (5-20 mPa·s) | (C ₆ H ₁₁ NO ₄) _n | TCI |
| Χιτοζάνη (20-100 mPa·s) | (C ₆ H ₁₁ NO ₄) _n | TCI |
| Νιτρώδες Νάτριο | NaNO ₂ | Sigma Aldrich |
| Χλωριούχο Αργύλιο | AlCl ₃ | Sigma Aldrich |
| Αντιδραστήριο Folin -Ciocalteu | - | Merck Millipore |
| Γαλλικό οξύ | C ₇ H ₆ O ₅ | Merck Millipore |
| Κατεχίνη | C ₁₅ H ₁₄ O ₆ | Sigma Aldrich |
| Ανθρακικό Νάτριο | Na ₂ CO ₃ | Penta |
| Ερυθρό του Νείλου | - | Glentham Life Sciences |
| Tween 20 | C ₅₈ H ₁₁₄ O ₂₆ | - |
| Λινολεϊκό Οξύ | C ₁₈ H ₃₂ O ₂ | Thermo Scientific |
| AAPH | C ₈ H ₂₀ Cl ₂ N ₆ | Fluorochem |
| Όξινο φωσφορικό κάλιο | K ₂ HPO ₄ | Penta |
| Δισόξινο φωσφορικό κάλιο | KH ₂ PO ₄ | Penta |
| Βορικό Οξύ | H ₃ BO ₃ | Riel-deHaen |

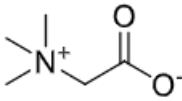
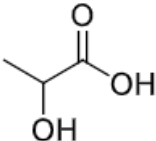
2.3. Παρασκευή NaDES

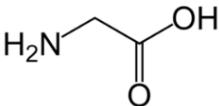
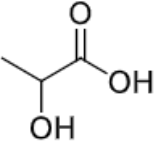
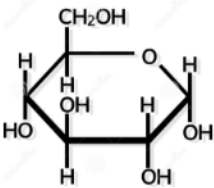
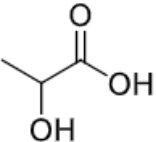
Για την παρασκευή των φυσικών βαθέως ευηλεκτρικών διαλυτών τοποθετούνται τα επιμέρους συστατικά σε σφαιρική φιάλη σύμφωνα με την γραμμομοριακή αναλογία που αναγράφεται στον παρακάτω πίνακα. Στην συνέχεια, η σφαιρική φιάλη τοποθετείται σε έλαιο τοποθετημένο σε μαγνητικό αναδευτήρα και ενσωματώνεται σε διάταξη με ψυκτήρα. Αφήνεται σε σταθερή θέρμανση έως ότου το ρευστό να γίνει διαυγές.

Πίνακας 4: Συστατικά, μοριακή αναλογία και συνθήκες παρασκευής NaDES

| Όνομα NaDES | Συμβολισμός NaDES | Μοριακή Αναλογία | | | Θερμοκρασία (°C) | Χρόνος (min) |
|---------------------------|-------------------|------------------|-------------|------|------------------|--------------|
| | | Δέκτης (HBA) | Δότης (HBD) | Νερό | | |
| Βεταΐνη:D,L-Γαλακτικό Οξύ | Bet:LA:W* | 1 | 2 | 2,5* | 50 | 60 |
| Γλυκίνη:D,L-Γαλακτικό Οξύ | Gly:LA:W* | 1 | 5 | 6,2* | 80 | 30-35 |
| Γλυκόζη:D,L-Γαλακτικό Οξύ | Gluc:LA:W* | 1 | 5 | 6,2* | 50 | 120 |

Πίνακας 5: Συστατικά και χημικές δομές των NaDES και μοριακό βάρος των επιμέρους συστατικών

| NaDES | Δέκτης Δεσμού Υδρογόνου (HBA) | Δότης Δεσμού Υδρογόνου (HBD) | Μοριακό Βάρος HBA (g/mol) | Μοριακό Βάρος HBD (g/mol) |
|-----------|---|---|---------------------------|---------------------------|
| Bet:LA:W* |  |  | 117,15 | 90,08 |

| | | | | |
|------------|---|---|---------|-------|
| Gly:LA:W* |  |  | 75,07 | 90,08 |
| Gluc:LA:W* |  |  | 180,156 | 90,08 |

Το νερό που αναγράφεται στη μοριακή αναλογία (*) δεν προστίθεται κατά την παρασκευή των NaDES αλλά αναφέρεται στο νερό που εμπεριέχεται στο D,L-γαλακτικό οξύ, καθώς αποτελεί υδατικό διάλυμα 80% w/w.

2.3.1. Βεταΐνη:DL Γαλακτικό Οξύ 1:2:2,5*

Ζυγίζονται 10 g στερεής άνυδρης βεταΐνης σε ζυγό ακριβείας, τα οποία αποτελούν 0,085 mol. Σύμφωνα με την γραμμομοριακή αναλογία προκύπτουν 0,17 mol άρα 15,38 g καθαρού D,L-γαλακτικού οξέος. Ωστόσο, αυτό βρίσκεται σε μορφή υδατικού διαλύματος 80% w/w, συνεπώς απαιτούνται 15,90 mL προκειμένου να ακολουθηθεί η αναλογία 1:2. Τοποθετούνται σε σφαιρική φιάλη υπό ανάδευση και θέρμανση στους 50 °C για 1 h.

2.3.2. Γλυκίνη:DL Γαλακτικό Οξύ 1:5:6,2*

Ζυγίζονται 5 g στερεής γλυκίνης σε ζυγό ακριβείας, τα οποία αποτελούν 0,067 mol. Σύμφωνα με την γραμμομοριακή αναλογία προκύπτουν 29,998 g (0,335 mol) καθαρού D,L-γαλακτικού οξέος. Προκειμένου να επιτευχθεί η αναλογία 1:5 απαιτούνται 31,017 mL D,L-γαλακτικού οξέος σε μορφή υδατικού διαλύματος. Τοποθετούνται σε σφαιρική φιάλη υπό ανάδευση και θέρμανση στους 80 °C για 30-35 min.

2.3.3. Γλυκόζη:DL Γαλακτικό Οξύ 1:5:6,2*

Ζυγίζονται 5 g στερεής γλυκόζης σε ζυγό ακριβείας, τα οποία αποτελούν 0,028 mol. Σύμφωνα με την γραμμομοριακή αναλογία προκύπτουν 12,61 g (0,14 mol) καθαρού D,L-γαλακτικού οξέος. Προκειμένου να επιτευχθεί η αναλογία 1:5 απαιτούνται 13,04 mL D,L-γαλακτικού οξέος σε μορφή υδατικού διαλύματος. Τοποθετούνται σε σφαιρική φιάλη υπό ανάδευση και θέρμανση στους 50 °C για 2 h.

2.4. Χαρακτηρισμός NaDES

2.4.1. Μέτρηση pH

Μία μέθοδος χαρακτηρισμού των NaDES αποτελεί η μέτρηση του pH τους. Προκειμένου να γίνει αυτό είναι απαραίτητη η δημιουργία της καμπύλης της τιμής του pH συναρτήσσει των αραιώσεων κάθε NaDES σε διάφορες περιεκτικότητες. Αρχικά, κατασκευάζονται τα υδατικά διαλύματα των NaDES με περιεκτικότητες 100%, 75%, 50%, 25%, 10% και 5% v/v. Στην συνέχεια, γίνεται καλιμπράρισμα του πεχαμέτρου με την χρήση δύο buffer με pH ίσο με 4 και 7 αντίστοιχα. Τέλος, μετριέται η τιμή του pH για κάθε περιεκτικότητα για κάθε NaDES. Στον παρακάτω πίνακα αναγράφονται οι ποσότητες των NaDES και του νερού που χρησιμοποιήθηκαν προκειμένου να κατασκευαστούν οι περιεκτικότητες.^[56, 57]

Πίνακας 6: Ποσότητες NaDES και νερού προς σχηματισμό αραιώσεων

| Περιεκτικότητα | 100% v/v | 75% v/v | 50% v/v | 25% v/v | 10% v/v | 5% v/v |
|----------------|----------|---------|---------|---------|---------|--------|
|----------------|----------|---------|---------|---------|---------|--------|

| | | | | | | |
|--|---|---|---|---|---|------|
| Bet:LA:W* / Gly:LA:W* / Gluc:LA:W* (mL) | - | 3 | 3 | 1 | 1 | 0,25 |
| H ₂ O (mL) | - | 1 | 3 | 3 | 9 | 4,75 |

2.4.2. Μέτρηση Πυκνότητας

Για την μέτρηση της πυκνότητας των NaDES χρησιμοποιείται η σχέση $\rho = m/V$, όπου m : μάζα NaDES [g] και V : όγκος NaDES [mL]. Αναλυτικότερα, τοποθετείται ένα vial σε ζυγό ακριβείας και μηδενίζεται η τιμή. Στη συνέχεια, λαμβάνονται με πιπέτα 100 μ L από τον NaDES, τοποθετούνται στο vial που βρίσκεται στο ζυγό και καταγράφεται η μέτρηση. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται για κάθε NaDES για 8 φορές προκειμένου να έχει μεγαλύτερη ακρίβεια η μέση τιμή της μάζας που θα προκύψει.

2.4.3. Μέτρηση Πολικότητας

Η πολικότητα των NaDES υπολογίζεται μέσω της διαλυτοχρωμικής μετατόπισης της χρωστικής του Ερυθρού του Νείλου (Nile Red) (Σχήμα 16). Παρασκευάζεται διάλυμα 1 g/L Nile Red σε αιθανόλη χρησιμοποιώντας 31 μ L Nile Red και 969 μ L αιθανόλη και αποθηκεύεται στους 4 °C.^[26]



Σχήμα 16: Ερυθρό του Νείλου

Χρησιμοποιείται φασματοφωτόμετρο υπεριώδους-ορατού στην περιοχή των 400-700 nm και λαμβάνεται η τιμή της παραμέτρου πολικότητας, με βάση τη διαλυτοχρωμική μετατόπιση σε θερμοκρασία δωματίου. Πιο συγκεκριμένα, τοποθετούνται περίπου 2 mL NaDES σε κυψελίδα 1 mm και πραγματοποιείται φωτομέτρηση, στο εύρος μήκους κύματος που προαναφέρθηκε, ορίζοντας το τυφλό δείγμα. Στη συνέχεια, προστίθενται στη κυψελίδα ποσότητα 30-70 μ L του διαλύματος Nile Red, αναδεύεται και επαναλαμβάνεται η μέτρηση αφαιρώντας τις απορροφήσεις του τυφλού και καταγράφεται η τιμή του μήκους κύματος στη μέγιστη απορρόφηση (λ_{\max}).^[19, 26]

Η ενέργεια μοριακής μετάβασης E_{NR} υπολογίζεται χρησιμοποιώντας τη σχέση:

$$E_{NR} = \frac{28591}{\lambda_{\max}} \quad (1)$$

όπου E_{NR} [$\frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$] και λ_{\max} [nm].^[19, 26]

Η κόκκινη χρωστική Nile Red είναι διαλυτή στην αιθανόλη και οι NaDES δίνουν ροζ χρώμα στο διάλυμα. Όσο υψηλότερη είναι η πολικότητα ενός διαλύτη, τόσο χαμηλότερη

είναι η τιμή του E_{NR} . Οι διαλύτες με υψηλότερη πολικότητα μετατοπίζουν το λ_{max} της χρωστικής σε υψηλότερες τιμές μήκους κύματος, αποδίδοντας χαμηλότερες τιμές E_{NR} .^[19, 26]

2.5. Εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπερήχους (UAE)

Για την διεξαγωγή της εκχύλισης στο περίβλημα του καρπού του άγριου τριαντάφυλλου ή στη βιομάζα τοποθετούνται 1,5 g του NaDES Bet:LA:W* και 1,5 g H₂O σε γυάλινο vial επιτυγχάνοντας αναλογία 50% w/w Bet:LA:W*:W, η οποία είναι η βέλτιστη για την συγκεκριμένη εκχύλιση. Στη συνέχεια, προστίθενται 202,8 mg αλεσμένου περιβλήματος του καρπού του άγριου τριαντάφυλλου ή βιομάζα και το vial τοποθετείται σε παγόλουτρο ώστε να μην ανέβει η θερμοκρασία με την χρήση των υπερήχων. Έπειτα, μεταφέρεται στο probe των υπερήχων το οποίο βυθίζεται στο δείγμα χωρίς να έρχεται σε επαφή με τον πυθμένα του vial. Για την διεξαγωγή της εκχύλισης στα φύλλα ελιάς, επαναλαμβάνεται η διαδικασία με την διαφορά ότι προστίθενται 30 g του NaDES Gluc:LA:W* και 1 g αλεσμένων φύλλων ελιάς στο vial προς εκχύλιση.

Οι βέλτιστες συνθήκες που επιλέχθηκαν για την διεξαγωγή της εκχύλισης είναι ισχύς ίση με 30% της μέγιστης κατασκευαστικής ισχύος του οργάνου, το οποίο μεταφράζεται σε 120 W, εφόσον η μέγιστη ισχύς είναι ίση με 400 W. Εφαρμόζεται χρόνος εκχύλισης ίσος με 30 min και επιλέγεται παλμός on=6 sec και off=2 sec. Μετά την ολοκλήρωση της εκχύλισης το δείγμα μοιράζεται σε δύο φιαλίδια τα οποία τοποθετούνται αντιδιαμετρικά στη φυγόκεντρο. Το δείγμα φυγόκεντρείται στις 7000 στροφές για 20 min και έπειτα παραλαμβάνεται το υπερκείμενο υγρό το οποίο αποτελεί το εκχύλισμα.

2.6. Χαρακτηρισμός Εκχυλισμάτων

2.6.1. Μέτρηση Ολικού Περιεχόμενου Φαινολικών Ενώσεων των εκχυλισμάτων (TPC)

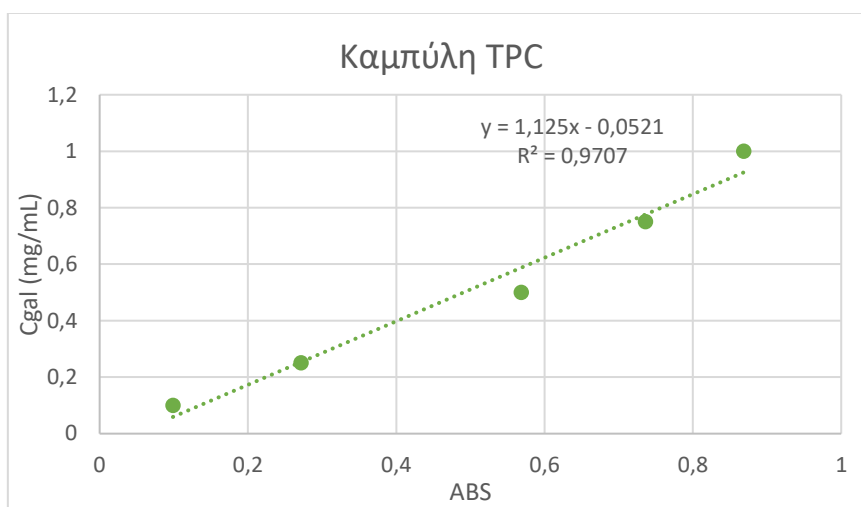
Για την μέτρηση του ολικού περιεχόμενου φαινολικών ενώσεων (TPC) στα παραγόμενα εκχυλίσματα χρησιμοποιείται η χρωματομετρική μέθοδος Folin-Ciocalteu με ένωση αναφοράς το γαλλικό οξύ. Αρχικά, παρασκευάζεται ένα αρχικό διάλυμα αραιώνοντας το εκχύλισμα ανάλογα με το ιξώδες και την αναλογία πρώτης ύλης/διαλύτη του μίγματος. Το πείραμα πραγματοποιείται τρεις φορές για μεγαλύτερη επαναληψιμότητα και περιορισμό των σφαλμάτων. Σε τέσσερα Eppendorf μεταφέρονται 1 mL υπερκάθαρου νερού και στα τρία από αυτά προστίθενται 20 μ L του αρχικού διαλύματος με χρήση ηλεκτρονικής πιπέτας. Στο τέταρτο eppendorf προστίθενται 20 μ L υπερκάθαρου νερού δημιουργώντας το τυφλό δείγμα. Το σύστημα αφήνεται για επώαση 6 min έπειτα από ανάδευση στο Vortex. Στη συνέχεια, προστίθενται 100 μ L αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu και μετά από ανάδευση στο Vortex αφήνεται σε ηρεμία για 5 min σε σκοτεινό μέρος. Έπειτα, προστίθενται 300 μ L κορεσμένου Na₂CO₃ (33 g/100 mL H₂O) και 580 μ L υπερκάθαρου νερού. Ακολουθεί ανάδευση στο Vortex και το σύστημα αφήνεται σε ηρεμία για 60 min απουσία φωτός.^[58]

Στη συνέχεια, μετρείται η απορρόφηση των δειγμάτων σε μήκος κύματος 755 nm με χρήση του φασματοφωτόμετρου UV-Vis. Ο προσδιορισμός της απορρόφησης γίνεται μέσω της σχέσης:

$$A = A_{\text{δείγμα}} - A_{\text{τυφλό}} \quad (2)$$

όπου $A_{\text{δείγμα}}$: η απορρόφηση του δείγματος που περιέχει το εκχύλισμα και $A_{\text{τυφλό}}$: η απορρόφηση του τυφλού δείγματος.^[58]

Κατασκευάζεται καμπύλη αναφοράς, ακολουθώντας την διαδικασία που αναλύθηκε παραπάνω, σε διάφορες αραιώσεις του υδατικού διαλύματος γαλλικού οξέος. Για την τυφλή μέτρηση χρησιμοποιήθηκε υπερκάθαρο νερό. Έτσι, προκύπτει η καμπύλη του παρακάτω διαγράμματος.



Διάγραμμα 1: Καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος

Από το Διάγραμμα 1 λαμβάνεται η εξίσωση:

$$C_{gal} = 1,125 \cdot A - 0,0521 \quad (3) \quad \text{με } R^2 = 0,9707$$

όπου C_{gal} : η συγκέντρωση εκχυλίσματος [mg γαλλικού οξέος/mL].

Τέλος, το περιεχόμενο του εκχυλίσματος σε φαινολικές ενώσεις υπολογίζεται μέσω της σχέσης:

$$TPC \left[\frac{\text{mg γαλλικού οξέος}}{\text{g WR}} \right] = \frac{C_{gal} \left[\frac{\text{mg γαλλικού οξέος}}{\text{mL εκχυλίσματος}} \right] \cdot V_{extr} [\text{mL}] \cdot D}{m_{WR} [\text{g}]} \quad (4)$$

όπου V_{extr} : ο όγκος εκχυλίσματος [mL], D : παράγοντας αραιώσης και m_{WR} : μάζα άγριου τριαντάφυλλου που χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλιση [g].^[58]

2.6.2. Μέτρηση Ολικού Περιεχόμενου Φλαβονοειδών Ενώσεων των εκχυλισμάτων (TFC)

Για την μέτρηση του ολικού περιεχόμενου φλαβονοειδών ενώσεων (TFC) στα παραγόμενα εκχυλίσματα χρησιμοποιείται η χρωματομετρική μέθοδος του χλωριούχου αργιλίου με ένωση αναφοράς την κατεχίνη. Αρχικά, παρασκευάζεται ένα αρχικό διάλυμα αραιώνοντας το εκχύλισμα ανάλογα με το ιξώδες και την αναλογία πρώτης ύλης/διαλύτη του μίγματος. Το πείραμα πραγματοποιείται τρεις φορές για μεγαλύτερη επαναληψιμότητα και περιορισμό των σφαλμάτων. Σε τέσσερα erpendorf μεταφέρονται 30 mL υδατικού διαλύματος NaNO_2 5% w/v και στα τρία από αυτά προστίθενται 50 mL του αρχικού διαλύματος με χρήση ηλεκτρονικής πιπέτας. Στο τέταρτο erpendorf προστίθενται 50 mL υπερκάθαρου νερού δημιουργώντας το τυφλό δείγμα. Το σύστημα αναδεύεται στο Vortex και αφήνεται για επώαση 6 min. Στη συνέχεια, προστίθενται 60 mL AlCl_3 10% w/v, ακολουθεί ανάδευση και το σύστημα αφήνεται σε ηρεμία για 5 min. Τέλος, προστίθενται 300 mL NaOH 1 M και 560 mL υπερκάθαρου νερού και έπειτα από ανάδευση το σύστημα αφήνεται σε ηρεμία για 15 min.^[12]

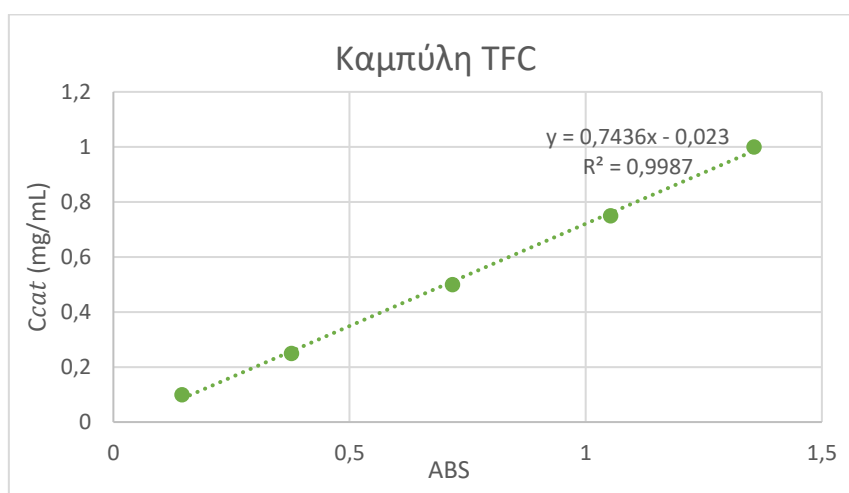
Το υδατικό διάλυμα NaNO_2 5% w/v παρασκευάζεται με την προσθήκη 1 g στερεού NaNO_2 σε 20 mL υπερκάθαρου νερού. Στη συνέχεια, τοποθετείται σε μαγνητικό αναδευτήρα έως την πλήρη διαλυτοποίηση του στερεού. Το διάλυμα AlCl_3 10% w/v παρασκευάζεται προσθέτοντας 18,1 g $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ σε 100 mL υπερκάθαρου νερού και έπειτα ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα έως την πλήρη διαλυτοποίηση του στερεού. Τέλος, το διάλυμα NaOH 1 M δημιουργείται με την προσθήκη 1 g στερεού NaOH σε 25 mL υπερκάθαρου νερού και ακολουθεί ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα έως την πλήρη διαλυτοποίηση του στερεού.

Στη συνέχεια, μετριέται η απορρόφηση των δειγμάτων σε μήκος κύματος 510 nm με χρήση του φασματοφωτόμετρου UV-Vis. Ο προσδιορισμός της απορρόφησης γίνεται μέσω της σχέσης:

$$A = A_{\text{δείγμα}} - A_{\text{τυφλό}} \quad (2)$$

όπου $A_{\text{δείγμα}}$: η απορρόφηση του δείγματος που περιέχει το εκχύλισμα και $A_{\text{τυφλό}}$: η απορρόφηση του τυφλού δείγματος.^[12]

Κατασκευάζεται καμπύλη αναφοράς, ακολουθώντας την διαδικασία που αναλύθηκε παραπάνω, σε διάφορες αραιώσεις του υδατικού διαλύματος κατεχίνης. Για την τυφλή μέτρηση χρησιμοποιήθηκε υπερκάθαρο νερό. Έτσι, προκύπτει η καμπύλη του παρακάτω διαγράμματος.



Διάγραμμα 2: Καμπύλη αναφοράς κατεχίνης

Από το Διάγραμμα 2 λαμβάνεται η εξίσωση:

$$C_{\text{cat}} = 0,7436 \cdot A - 0,023 \quad (5) \quad \text{με } R^2 = 0,9987$$

όπου C_{cat} : η συγκέντρωση εκχυλίσματος [mg κατεχίνης/mL].

Τέλος, το περιεχόμενο του εκχυλίσματος σε ολικά φλαβονοειδή υπολογίζεται μέσω της σχέσης:

$$\text{TFC} \left[\frac{\text{mg κατεχίνης}}{\text{g WR}} \right] = \frac{C_{\text{cat}} \left[\frac{\text{mg κατεχίνης}}{\text{mL εκχυλίσματος}} \right] \cdot V_{\text{extr}} [\text{mL}] \cdot D}{m_{\text{WR}} [\text{g}]} \quad (6)$$

όπου V_{extr} : ο όγκος εκχυλίσματος [mL], D : παράγοντας αραιώσης και m_{WR} : μάζα άγριου τριαντάφυλλου που χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλιση [g].^[12]

2.7. Σχηματισμός Φιλμ Φυσικών Βαθέως Ευτηκτικών Διαλυτών-Χιτοζάνης

Για το σχηματισμό φιλμ χιτοζάνης με χρήση των NaDES διαλύεται συγκεκριμένη ποσότητα χιτοζάνης σε υδατικό διάλυμα NaDES ή υδατικό διάλυμα NaDES-εκχυλίσματος 100 mL και περιεκτικότητας 1, 2 ή 5% w/v. Το διάλυμα τοποθετείται σε μαγνητικό αναδευτήρα και αφήνεται μέχρι τη πλήρη διάλυση της χιτοζάνης. Σε πολλές περιπτώσεις χρησιμοποιείται λουτρό υπερήχων προκειμένου να υποβοηθηθεί η διάλυση της χιτοζάνης. Στη συνέχεια, το διάλυμα τοποθετείται για διήθηση υπό κενό και μεταφέρονται από 45 mL σε δύο κρυσταλλωτήρια με εμβαδόν επιφάνειας ίσο με 25 cm². Τέλος, τα κρυσταλλωτήρια μεταφέρονται σε φούρνο στους 45 °C για περίπου 1,5-2 d μέχρι να εξατμιστεί όλο το νερό, όπως φαίνεται στο Σχήμα 17.^[27]



Σχήμα 17: Κρυσταλλωτήρια με υδατικό διάλυμα χιτοζάνης-NaDES στον φούρνο προς σχηματισμό φιλμ

Όταν επέλθει το χρονικό διάστημα 1,5-2 d και εφόσον έχει σχηματιστεί στον πυθμένα του κρυσταλλωτηρίου το φιλμ, επιδιώκεται η αποκόλλησή του με τη βοήθεια σπαθίδας. Έπειτα, τοποθετείται σε γυάλινο τρυβλίο και αποθηκεύεται σε ξηραντήρα μέχρις ότου μελετηθούν οι φυσικοχημικές και μηχανικές ιδιότητές του.

Κατά την παρασκευή των φιλμ χρησιμοποιήθηκαν δύο χιτοζάνες (5-20 mPa · s και 20-100 mPa · s), τρεις NaDES (Bet:LA:W*, Gly:LA:W*, Gluc:LA:W*) και τρία εκχυλίσματα (από το περιβλήμα του άγριου τριαντάφυλλου, από τη βιομάζα και από τα φύλλα ελιάς). Τέλος, το μέγεθος των κρυσταλλωτηρίων που χρησιμοποιήθηκαν παρέμεινε ίδιο σε όλα τα φιλμ.

Στον παρακάτω πίνακα αναγράφονται όλα τα φιλμ που δημιουργήθηκαν ανάλογα με το NaDES, τη χιτοζάνη και το εκχύλισμα που χρησιμοποιήθηκε και τη περιεκτικότητα του υδατικού διαλύματος αλλά και της χιτοζάνης.

Πίνακας 7: Φιλμ CS-NaDES/NaDES-Extr, περιεκτικότητα υδατικού διαλύματος, μοριακό βάρος και περιεκτικότητα χιτοζάνης και επαναλήψεις κάθε φιλμ

| Συμβολισμός Φιλμ | NaDES/NaDES -εκχύλισμα | Περιεκτικότητα υδατ. διαλ. (% w/v) | Χιτοζάνη (mPa · s) | Περιεκτικότητα χιτοζάνης (% w/v) | Δοκιμές |
|------------------|------------------------|------------------------------------|--------------------|----------------------------------|---------|
| V1 | Acetic Acid | 1 | 5-20 | 0,2 | 2 |
| V2 | Acetic Acid | 1 | 20-100 | 0,2 | 2 |
| V3 | Bet:LA:W* | 1 | 5-20 | 0,2 | 12 |
| V4 | Bet:LA:W* | 1 | 20-100 | 0,2 | 8 |
| V5 | Gly:LA:W* | 1 | 5-20 | 0,2 | 2 |
| V6 | Gly:LA:W* | 1 | 20-100 | 0,2 | 2 |
| V7 | Gluc:LA:W* | 1 | 5-20 | 0,2 | 4 |
| V8 | Gluc:LA:W* | 1 | 20-100 | 0,2 | 4 |

| | | | | | |
|-----|-----------------------------|---|--------|------|---|
| V9 | Bet:LA:W* | 5 | 20-100 | 0,2 | 2 |
| V10 | Bet:LA:W* | 5 | 20-100 | 0,5 | 2 |
| V11 | Bet:LA:W* | 5 | 20-100 | 1 | 2 |
| V12 | Bet:LA:W*-WR Extract | 1 | 20-100 | 0,2 | 2 |
| V13 | Bet:LA:W*-WR Extract | 2 | 20-100 | 0,2 | 1 |
| V14 | Bet:LA:W* | 1 | 5-20 | 0,04 | 2 |
| V15 | Bet:LA:W* | 1 | 5-20 | 0,1 | 2 |
| V16 | Bet:LA:W*- Biomass | 1 | 20-100 | 0,2 | 4 |
| V17 | Bet:LA:W*- Biomass | 2 | 20-100 | 0,2 | 4 |
| V18 | Gluc:LA:W*- O.L. Extract | 1 | 20-100 | 0,2 | 2 |

2.8. Χαρακτηρισμός Φιλμ

2.8.1. Μέτρηση Μάζας

Σε ζυγό ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων ζυγίζεται κάθε κρυσταλλωτήριο πριν προστεθεί σε αυτό το υδατικό διάλυμα προς σχηματισμό των φιλμ. Εφόσον σχηματιστεί το φιλμ, ζυγίζεται το κρυσταλλωτήριο μαζί με το φιλμ και υπολογίζεται η μάζα κάθε φιλμ από τη σχέση:

$$m_{\text{φιλμ}} = m_{\text{κρυσταλ+φιλμ}} - m_{\text{κρυσταλ}} \quad (7)$$

2.8.2. Μέτρηση Πάχους

Για τη μέτρηση του πάχους των φιλμ χρησιμοποιείται ψηφιακό παχύμετρο (Σχήμα 18). Το φιλμ τοποθετείται στη μεταλλική μπάρα, αυτή κατεβαίνει μέχρις ότου να βρει αντίσταση και καταγράφεται η μέτρηση. Η μέτρηση επαναλαμβάνεται τουλάχιστον τρεις φορές και σε διαφορετικά σημεία του φιλμ προκειμένου να ληφθούν αξιόπιστα αποτελέσματα και επειδή ενδέχεται να υπάρχει ανομοιογένεια πάχους. Η τελική τιμή του πάχους είναι ο μέσος όρος των τριών μετρήσεων.



Σχήμα 18: Ψηφιακό παχύμετρο

2.8.3. Μέτρηση Διαπερατότητας Υδρατμών, Water Vapor Permeability (WVP)

Η διαπερατότητα υδρατμών των φιλμ (WVP) προσδιορίζεται σύμφωνα με την πρότυπη μέθοδο ASTM 2016 (Standard Test Method for Water Vapor Transmission of Materials). Αρχικά, μεταφέρονται 3 mL υπερκάθαρου νερού σε ένα vial επιτυγχάνοντας RH=100%, το οποίο κλείνεται με το φιλμ. Το εμβαδόν της επιφάνειας που καλύπτει το φιλμ είναι ίσο με 5,76 cm². Επιβεβαιώνεται ότι το εσωτερικό του vial δεν έρχεται σε επαφή με την

ατμόσφαιρα με λαστιχάκια και parafilm (Σχήμα 19). Το σύστημα ζυγίζεται τη χρονική στιγμή $t=0$ s και τοποθετείται σε ξηραντήρα (RH=0%). Με τον τρόπο αυτό, το νερό που απομακρύνεται από το vial διέρχεται αναγκαστικά μέσα από το φιλμ. Λαμβάνονται αρκετές μετρήσεις μάζας μέσα στο πρώτο 24ωρο και έπειτα αραιώνονται σε βάθος 10 d.

Υπολογίζεται, λοιπόν, ο ρυθμός μεταφοράς υδρατμών ως εξής:

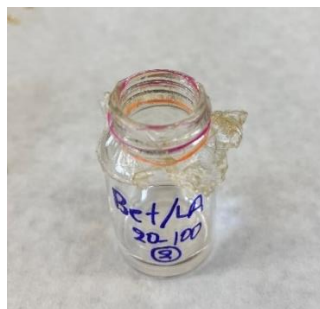
$$WVTR = \frac{a}{A} \quad (8)$$

όπου WVTR: ρυθμός μεταφοράς υδρατμών $\left[\frac{\text{g}}{\text{m}^2 \cdot \text{min}}\right]$ a: κλίση του διαγράμματος μάζας-χρόνου [g/s] και A: εμβαδόν επιφάνειας φιλμ [m^2].

Τελικά, η διαπερατότητα υδρατμών υπολογίζεται από τη σχέση:

$$WVP = WVTR \cdot \frac{d}{\Delta P} \quad (9)$$

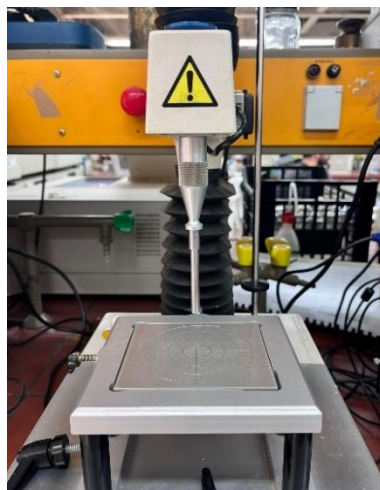
όπου WVP: διαπερατότητα υδρατμών $\left[\frac{\text{g}}{\text{m} \cdot \text{s} \cdot \text{Pa}}\right]$, d: πάχος φιλμ [m] και ΔP : μερική πίεση ατμών [Pa] (στους 20 °C είναι ίση με 2339 Pa).^[59]



Σχήμα 19: Φιλμ σε vial προς μέτρηση διαλυτότητας υδρατμών

2.8.4. Ανάλυση Υφής, Texture Profile Analysis (TPA)

Η ανάλυση υφής (TPA) είναι μία μέθοδος προσδιορισμού των μηχανικών ιδιοτήτων κυρίως στα τρόφιμα. Χρησιμοποιείται ο αναλυτής υφής TA-XT2i (Σχήμα 20), το λογισμικό Texture Exponent 32, τα δύο probe διείδυσης από ανοξείδωτο χάλυβα και μία πλάκα στήριξης. Πραγματοποιούνται δύο αναλύσεις, δύο δοκιμές συμπίεσης και μία δοκιμή θραύσης για κάθε φιλμ.^[27]



Σχήμα 20: Αναλυτής υφής TA-XT2i

Αφού βαθμονομηθεί το όργανο, το φιλμ τοποθετείται στην πλάκα στήριξης, όπως φαίνεται στο Σχήμα 21, καλύπτεται από τη δεύτερη πλάκα και επιβεβαιώνεται η καλή επαφή των πλακιδίων μέσω την σύσφιξης των τεσσάρων σφικτήρων. Στη συνέχεια, η πλάκα στήριξης τοποθετείται στον αναλυτή υψής και πραγματοποιούνται οι δοκιμές συμπίεσης και θραύσης.^[27]



Σχήμα 21: Φιλμ τοποθετημένο στη πλάκα στήριξης

2.8.4.1. Δοκιμή Συμπίεσης

Για την διεξαγωγή της δοκιμής συμπίεσης ρυθμίζονται οι παρακάτω συνθήκες στο λογισμικό:

Πίνακας 8: Ρυθμίσεις αναλυτή υψής για δοκιμή συμπίεσης

| | | |
|------------------------|-------------|--------|
| Test Mode | Compression | - |
| Pre-Test Speed | 5,00 | mm/sec |
| Test Speed | 1,00 | mm/sec |
| Post-Test Speed | 2,00 | mm/sec |
| Distance | 5,000 | mm |
| Count | 2 | - |

Χρησιμοποιείται το probe του Σχήματος 22, το οποίο είναι από ανοξείδωτο χάλυβα. Έπειτα από τη δοκιμή συμπίεσης, λαμβάνονται δεδομένα για την εξάρτηση της δύναμης από τον χρόνο, από τα οποία μπορούν να προσδιοριστούν η συνεκτικότητα, η ελαστικότητα, η ανθεκτικότητα και η προσκολλησιμότητα κάθε φιλμ.



Σχήμα 22: Probe για δοκιμή συμπίεσης

2.8.4.2. Δοκιμή Θραύσης

Για την διεξαγωγή της δοκιμής θραύσης ρυθμίζονται οι παρακάτω συνθήκες στο λογισμικό:

Πίνακας 9: Ρυθμίσεις αναλυτή υφής για δοκιμή θραύσης

| | | |
|------------------------|-------------|--------|
| Test Mode | Compression | - |
| Pre-Test Speed | 5,00 | mm/sec |
| Test Speed | 1,00 | mm/sec |
| Post-Test Speed | 2,00 | mm/sec |
| Distance | 20,000 | mm |
| Count | 1 | - |

Χρησιμοποιείται το probe του Σχήματος 23, το οποίο είναι από ανοξείδωτο χάλυβα. Έπειτα από τη δοκιμή θραύσης και κατ' επέκταση από τη θραύση του φιλμ, λαμβάνονται από το διάγραμμα δύναμης-χρόνου αποτελέσματα για τη δύναμη θραύσης (Film Burst Strength), δηλαδή τη σκληρότητα του φιλμ, και για την επιμήκυνση κατά τη θραύση (Distance at Burst), δηλαδή την ευθραυστότητα του φιλμ.



Σχήμα 23: Probe για δοκιμή θραύσης

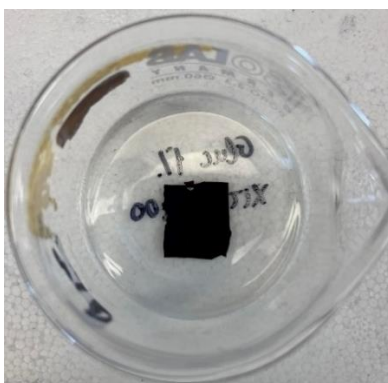
2.8.5. Δοκιμές Διαλυτότητας

2.8.5.1. Μέθοδος Pereira-Andrade, Water Solubility (WS)

Κατά τη μέθοδο Pereira-Andrade κόβεται από κάθε φιλμ ένα τετράγωνο κομμάτι με συγκεκριμένο εμβαδόν επιφάνειας, όπως φαίνεται στο Σχήμα 24. Το κομμάτι αυτό τοποθετείται για ξήρανση σε φούρνο στους 50 °C για 24 h και έπειτα ζυγίζεται σε ζυγό ακριβείας προσδιορίζοντας την αρχική ξηρή μάζα. Στη συνέχεια, προστίθεται συγκεκριμένη ποσότητα υπερκάρου νερού έτσι ώστε η αναλογία εμβαδού επιφάνειας/όγκου νερού να είναι ίση με 0,08 cm²/mL. Το σύστημα τοποθετείται σε περιοδική ανάδευση σε ανακινητήρα στις 70 rpm και αφήνεται για 24 h. Τέλος, το δείγμα αφαιρείται από το νερό και επανατοποθετείται για ξήρανση σε φούρνο στους 50 °C για 24 h και ζυγίζεται προκειμένου να προσδιοριστεί η τελική ξηρή μάζα. Η διαλυτότητα του φιλμ στο νερό (WS) υπολογίζεται από τη σχέση:

$$WS (\%) = \frac{M_i - M_f}{M_i} \cdot 100 \quad (10)$$

όπου M_i : αρχική ξηρή μάζα [g] και M_f : τελική ξηρή μάζα [g].^[60]



Σχήμα 24: Δείγμα φιλμ προς μέτρηση διαλυτότητας

2.8.5.2. Χρήση Διαλύματος Καυστικού Νατρίου (NaOH, 1 M)

Σε ποτήρι ζέσεως τοποθετούνται 10 mL υπερκάθαρου νερού και ένα κομμάτι από το φιλμ. Στη συνέχεια, προστίθεται διάλυμα NaOH συγκέντρωσης 1 M μέχρις ότου το pH να είναι ίσο με 10. Το σύστημα αφήνεται για 48 h προκειμένου να παρατηρηθεί οπτικά η διάλυση ή μη διάλυση κάθε φιλμ. Έπειτα μετριέται το pH και ρυθμίζεται στο 12. Το σύστημα αφήνεται εκ νέου για 48 h.

2.8.6. Μέτρηση Αντιοξειδωτικής Δράσης – AAPH

Η αντιοξειδωτική δράση των φιλμ προσδιορίζεται μέσω της μεθόδου AAPH. Αναλυτικότερα, αφορά την ικανότητα των ενώσεων που μελετώνται να αναστέλλουν την οξείδωση του λινολεϊκού οξέος που προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες που παράγονται μέσω του AAPH. Η έκταση της οξείδωσης και η αναστολή αυτής προσδιορίζεται μέσω φασματοφωτομέτρου UV-Vis στα 234 nm.

Προκειμένου να διεξαχθεί η μέθοδος παρασκευάζονται τα εξής διαλύματα:

- NaOH (1 M)

Παρασκευάζεται διάλυμα καυστικού νατρίου τελικού όγκου 150 mL διαλύοντας 5,99 g στερεού καυστικού νατρίου σε 150 mL υπερκάθαρου νερού.

- Borate Buffer

Αρχικά, παρασκευάζεται υδατικό διάλυμα βορικού οξέος συγκέντρωσης 50 mM ($M_r = 61,839 \text{ g/mol}$) διαλύοντας 309,2 mg στερεού βορικού οξέος σε 100 mL υπερκάθαρου νερού και προστίθενται 20 mL διαλύματος NaOH 1 M μέχρι τη πλήρη διάλυση. Στη συνέχεια, ρυθμίζεται το pH ίσο με 9 με την προσθήκη διαλύματος HCl 1 M (περίπου 17 mL). Τέλος, προστίθεται υπερκάθαρο νερό έως τελικό όγκο 200 mL.

- Phosphate Buffer (PBS)

Αρχικά, παρασκευάζεται υδατικό διάλυμα KH_2PO_4 συγκέντρωσης 0,0123 M διαλύοντας 502,2 mg στερεού KH_2PO_4 ($M_r = 136,086 \text{ g/mol}$) σε 120 mL υπερκάθαρου νερού. Επίσης, παρασκευάζεται υδατικό διάλυμα K_2HPO_4 συγκέντρωσης 0,0377 M διαλύοντας 1969,9 mg στερεού K_2HPO_4 ($M_r = 174,176 \text{ g/mol}$) σε 120 mL υπερκάθαρου νερού. Τα δύο διαλύματα αυτά αναμιγνύονται και ρυθμίζεται το pH ίσο με 7,4 μέσω προσθήκης διαλύματος NaOH 1 M ή διαλύματος HCl 1 M. Τέλος, προστίθεται υπερκάθαρο νερό έως τελικό όγκο 300 mL.

- Διάλυμα Λινολεϊκού Οξέος

Παρασκευάζεται διάλυμα tween 20 μέσω την προσθήκης 550 mg tween 20 σε 10 mL PBS. Σε vial των 30 mL προστίθενται 125 μ L διαλύματος tween 20 και 2,5 mL PBS και αναδεύονται σε μαγνητικό αναδευτήρα. Έπειτα, προστίθενται στάγδην 125 μ L λινολεϊκό οξύ και 1,5 mL διαλύματος NaOH 1 M σταδιακά μέσω τριών επαναλήψεων από 500 μ L κάθε φορά. Τέλος και εφόσον το διάλυμα είναι διαυγές, προστίθενται 21 mL από το borate buffer.

- Διάλυμα Blank

Για την παρασκευή του blank διαλύματος ακολουθείται η ίδια διαδικασία με μοναδική διαφορά την απουσία των 125 μ L του λινολεϊκού οξέος.

- Διάλυμα AAPH

Το διάλυμα AAPH παρασκευάζεται λίγο πριν την διεξαγωγή των μετρήσεων, καθώς το AAPH είναι ασταθές και ευαίσθητο στο φως. Σε vial προστίθενται 50 mg AAPH ($M_r = 271,1$ g/mol) και 4,61 mL PBS, αυτό καλύπτεται με αλουμινόχαρτο και αναδεύεται στο vortex μέχρι την πλήρη διάλυση του AAPH.

Αρχικά, προκειμένου να προσδιοριστεί η αντιοξειδωτική δράση κάθε φιλμ παρασκευάζονται διαλύματα των 8 mL που έχουν τη σύσταση του υδατικού διαλύματος το οποίο σχηματίζει το φιλμ. Για παράδειγμα, στην περίπτωση του V7 προστίθενται 80 mg Gluc:LA:W* σε 8 mL υπερκάθαρου νερού και διαλύονται 16 mg χιτοζάνης 5-20 mPa · s σε αυτό. Η ίδια διαδικασία παρασκευής των προς εξέταση δειγμάτων επαναλαμβάνεται για τα φιλμ V7, V8, V12, V13, V16, V17 και V18.

Εφόσον ρυθμιστεί στο UV-Vis η απορρόφηση να μετριέται στα 234 nm και το PBS διατηρείται σε σταθερή θερμοκρασία 37 °C, μετριέται το baseline. Αναλυτικότερα, σε δύο κυψελίδες τοποθετούνται 1302 μ L PBS, 14 μ L υπερκάθαρο νερό, 14 μ L διάλυμα blank και 70 μ L PBS. Οι κυψελίδες τοποθετούνται στις δύο κενές θέσεις του φασματοφωτόμετρου και επιλέγεται η εντολή «BLANK» στο λογισμικό του υπολογιστή. Στη συνέχεια, αφαιρείται η μπροστινή κυψελίδα, ενώ η δεύτερη παραμένει στο φασματοφωτόμετρο καθ' όλη τη διάρκεια των μετρήσεων. Η πρώτη κυψελίδα αδειάζεται και προστίθεται εκ νέου η ίδια σύσταση με μοναδική διαφορά ότι στη θέση των 70 μ L PBS τοποθετούνται 70 μ L AAPH και λαμβάνεται η μέτρηση. Η κυψελίδα αφαιρείται, αδειάζεται και παρασκευάζεται η σύσταση του τελευταίου διαλύματος με μοναδική διαφορά ότι στη θέση των 14 μ L διαλύματος blank τοποθετούνται 14 μ L διαλύματος λινολεϊκού οξέος (control) και λαμβάνεται η μέτρηση. Τέλος, η κυψελίδα αφαιρείται, αδειάζεται και παρασκευάζεται η σύσταση του τελευταίου διαλύματος με μοναδική διαφορά ότι στη θέση των 14 μ L υπερκάθαρου νερού τοποθετούνται 14 μ L δείγματος προς εξέταση και λαμβάνεται η μέτρηση. Κάθε μέτρηση διεξάγεται επιλέγοντας την εντολή «SAMPLE» στο λογισμικό του υπολογιστή την ίδια στιγμή που προστίθεται το AAPH στην κυψελίδα η οποία βρίσκεται ήδη τοποθετημένη στο φασματοφωτόμετρο και λαμβάνονται τιμές για την απορρόφηση τις χρονικές στιγμές 0 και 1 min. Οι μετρήσεις του AAPH, του control και του δείγματος επαναλαμβάνονται πάνω από 2-3 φορές προκειμένου να υπάρχει επαναληψιμότητα και οι μετρήσεις να είναι περισσότερο αξιόπιστες.

Τελικά, το ποσοστό παρεμπόδισης της λιπιδικής υπεροξειδωσης για κάθε φιλμ υπολογίζεται ως εξής:

$$\% \text{ Παρεμπόδιση} = 100 - \frac{\text{Δείγμα Αναφοράς} - \text{Δείγμα}}{\text{Control} - \text{Τυφλό}} \quad (11)$$

2.8.7. Φασματοσκοπία Υπερύθρου FT-IR (ATR)

Η φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier και τεχνική εξασθενημένης ολικής ανάκλασης (ATR) πραγματοποιείται μέσω του φασματόμετρου Bruker Alpha II (Σχήμα 25). Σκοπός της μεθόδου αυτής είναι ο προσδιορισμός των δομικών χαρακτηριστικών των φιλμ μέσω των φασμάτων που λαμβάνονται στο εύρος 4000-400 cm^{-1} . Αναλυτικότερα, κόβεται ένα μικρό κομμάτι από το φιλμ, τοποθετείται στον υποδοχέα του δείγματος και έρχεται σε επαφή με τον κρύσταλλο του φασματόμετρου. Τέλος, μέσω της πρέσας το δείγμα ακτινοβολείται και λαμβάνεται το φάσμα. Η ανάλυση αυτή πραγματοποιείται για κάθε φιλμ.



Σχήμα 25: Φασματόμετρο FT-IR Bruker Alpha II

2.9. Μελέτη Βιοαποικοδομησιμότητας

Η μελέτη βιοαποικοδομησιμότητας των φιλμ πραγματοποιήθηκε μέσω της πρότυπης μεθόδου για τον προσδιορισμό της αερόβιας βιοαποικοδόμησης σε χώμα ASTM 5988-12. Για την άρτια διεξαγωγή της μεθόδου είναι απαραίτητες οι παρακάτω παράμετροι:

- Χρήση χώματος που προέρχεται από ίσα μέρη δείγματος φυσικού και γόνιμου χώματος από τουλάχιστον τρεις διαφορετικές περιοχές χωραφιών ή δασών (εργαστηριακό μίγμα). Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μίγμα φυσικού χώματος και κομπόστ.
- Μέτρηση δείγματος 200-1000 mg ανά 500 g χώματος.
- Χρήση χώματος με pH μεταξύ 6-8.
- Διατήρηση ποσοστού νερού 80-100% της ικανότητας συγκράτησης υγρασίας (Moisture Holding Capacity, MHC).

Χρησιμοποιείται φυτόχωμα γενικής χρήσης που περιέχει κομπόστ από φυτικά υπολείμματα και οργανικό λίπασμα. Περιέχει οργανική ουσία 65%, ξηρά ουσία 35%, N: 20-35 mg/L, P₂O₅: 495-800 mg/L, K₂O: 1600-2300 mg/L, έχει pH=6,7 και δυνατότητα συγκράτησης νερού 65%. Η μελέτη βιοαποικοδομησιμότητας πραγματοποιήθηκε για τα φιλμ με το εκχύλισμα που προέρχεται από τη βιομάζα.

Κάθε φιλμ κόβεται στη μέση σχηματίζοντας δύο ημικυκλικά δείγματα περίπου ίδιας μάζας. Στη συνέχεια, τοποθετούνται δύο δείγματα αντιδιαμετρικά σε μία γλάστρα σε ύψος 6 cm από την επιφάνεια του εδάφους, αφού πρώτα ζυγιστούν, όπως φαίνεται στο Σχήμα 26. Σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές ένα δείγμα αφαιρείται, ξεπλένεται με

υπερκάθαρο νερό και τοποθετείται σε ξηραντήρα υπό κενό για 3-4 d. Τέλος, το δείγμα αφαιρείται από τον ξηραντήρα και ζυγίζεται εκ νέου προκειμένου να προσδιοριστεί η απώλεια μάζας για τη χρονική στιγμή που αφαιρέθηκε το φιλμ από το χώμα.



Σχήμα 26: Δείγματα φιλμ σε βάθος 6 cm προς μελέτη βιοαποικοδομησιμότητας

Κεφάλαιο 3

Αποτελέσματα - Συζήτηση

3. Αποτελέσματα – Συζήτηση

3.1. Χαρακτηρισμός NaDES

Έπειτα από την παρασκευή των φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών ακολούθησε μια σειρά αναλύσεων προκειμένου να γίνει ο χαρακτηρισμός τους. Συγκεκριμένα, προσδιορίστηκε το pH, η πυκνότητα και η πολικότητά τους σύμφωνα με τις μεθόδους που αναλύθηκαν στο Κεφάλαιο 2.

3.1.1. Μέτρηση pH

Σύμφωνα με τη μέθοδο που αναλύθηκε στην Ενότητα 2.4.1, προσδιορίζεται με τη βοήθεια πεχαμέτρου το pH κάθε NaDES σε διάφορες αραιώσεις με νερό, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Αναλυτικότερα, μετριέται το pH των NaDES Βεταΐνη:D,L-Γαλακτικό Οξύ (Bet:LA:W*), Γλυκίνη:D,L-Γαλακτικό Οξύ (Gly:LA:W*) και Γλυκόζη:D,L-Γαλακτικό Οξύ (Gluc:LA:W*) σε υδατικά διαλύματα με διαφορετική % περιεκτικότητα κατ' όγκο σε NaDES. Τα αποτελέσματα αναγράφονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 10: Μετρήσεις pH για NaDES Βεταΐνη-D,L-Γαλακτικό Οξύ (Bet:LA:W*)

| Βεταΐνη:D,L-Γαλακτικό Οξύ (Bet:LA:W*) | |
|--|------|
| % Περιεκτικότητα σε NaDES (% v/v) | pH |
| 100 | 3,24 |
| 75 | 3,04 |
| 50 | 2,82 |
| 25 | 2,65 |
| 10 | 2,57 |
| 5 | 2,57 |

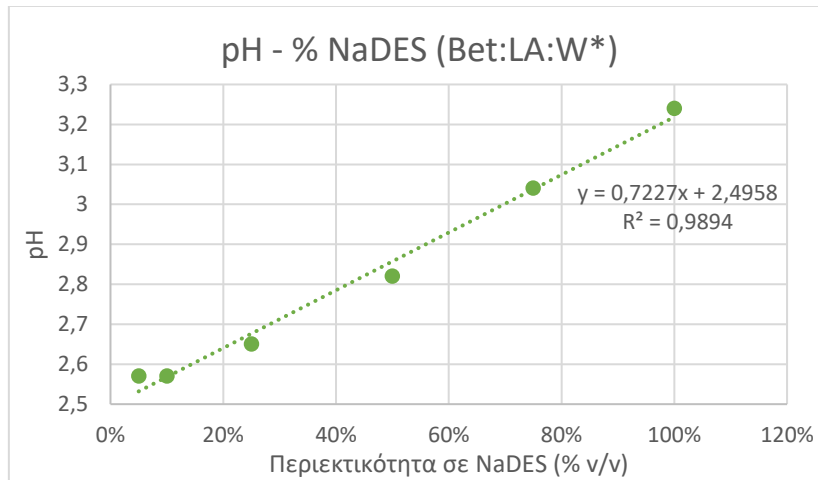
Πίνακας 11: Μετρήσεις pH για NaDES Γλυκίνη-D,L-Γαλακτικό Οξύ (Gly:LA:W*)

| Γλυκίνη:D,L-Γαλακτικό Οξύ (Gly:LA:W*) | |
|--|------|
| % Περιεκτικότητα σε NaDES (% v/v) | pH |
| 100 | 2,17 |
| 75 | 2,34 |
| 50 | 2,41 |
| 25 | 2,47 |
| 10 | 2,52 |
| 5 | 2,55 |
| 1 | 2,55 |

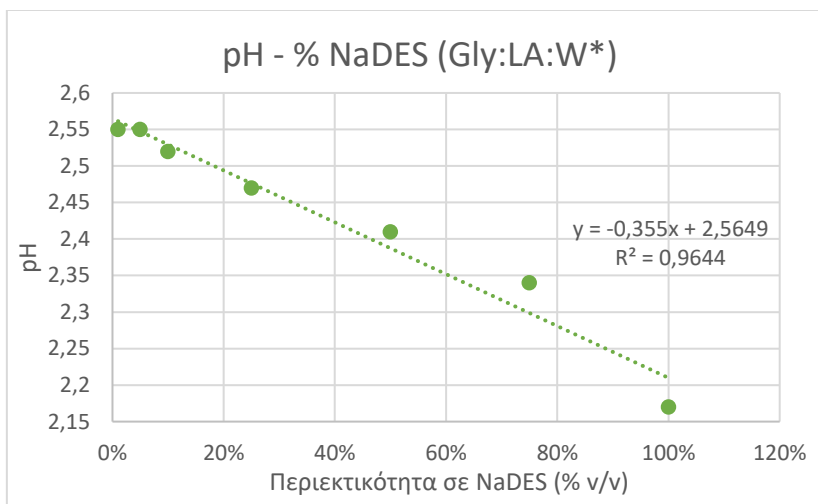
Πίνακας 12: Μετρήσεις pH για NaDES Γλυκόζη-D,L-Γαλακτικό Οξύ (Gluc:LA:W*)

| Γλυκόζη:D,L-Γαλακτικό Οξύ (Gluc:LA:W*) | |
|---|------|
| % Περιεκτικότητα σε NaDES (% v/v) | pH |
| 100 | 0,67 |
| 75 | 0,98 |
| 50 | 1,22 |
| 25 | 1,55 |
| 10 | 1,78 |
| 5 | 1,94 |

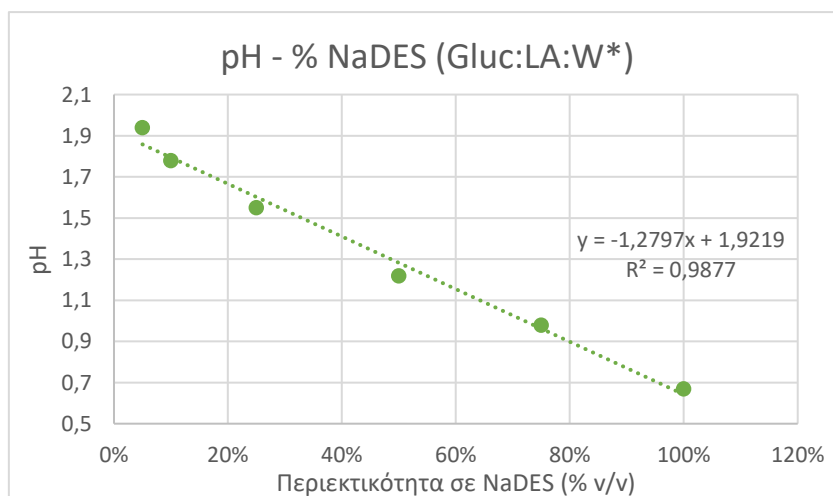
Έπειτα, κατασκευάζεται για κάθε NaDES το διάγραμμα του pH συναρτήσει της % περιεκτικότητας κατ' όγκο του υδατικού διαλύματος σε NaDES. Επιλέγεται γραμμική γραμμή τάσης με εργαλείο το excel και καταγράφεται η εξίσωση της ευθείας και ο συντελεστής R².



Διάγραμμα 3: Γραφική παράσταση του pH συναρτήσει της % περιεκτικότητας σε NaDES για το Bet:LA:W*



Διάγραμμα 4: Γραφική παράσταση του pH συναρτήσει της % περιεκτικότητας σε NaDES για το Gly:LA:W*



Διάγραμμα 5: Γραφική παράσταση του pH συναρτήσει της % περιεκτικότητας σε NaDES για το Gluc:LA:W*

Από τα παραπάνω αποτελέσματα συμπεραίνεται ότι και οι τρεις NaDES που παρασκευάστηκαν παρουσιάζουν αρκετά χαμηλές τιμές pH, καθιστώντας τους όξινους διαλύτες. Πιο συγκεκριμένα, οι NaDES Bet:LA:W*, Gly:LA:W* και Gluc:LA:W* έχουν pH ίσο με 3,24, 2,17 και 0,67 αντίστοιχα. Οι χαμηλές τιμές του pH αυτές οφείλονται στο D,L-Γαλακτικό Οξύ που χρησιμοποιήθηκε ως δότης δεσμού υδρογόνου (HBD) και στις τρεις περιπτώσεις. Επίσης, στην περίπτωση του NaDES Gluc:LA:W* το pH έχει πολύ χαμηλή τιμή λόγω της γλυκόζης που χρησιμοποιείται ως δέκτης δεσμού υδρογόνου (HBA).

Συμπεραίνεται ότι η γραμμική γραμμή τάσης που εφαρμόστηκε είναι πολύ αντιπροσωπευτική και στους τρεις NaDES, καθώς ο συντελεστής R^2 λαμβάνει τιμές αρκετά κοντά στο 1. Σημαντική παρατήρηση αποτελεί ότι η αύξηση της περιεκτικότητας του NaDES σε νερό οδηγεί σε μείωση του pH στην περίπτωση του NaDES Bet:LA:W*, ενώ στις περιπτώσεις των NaDES Gly:LA:W* και Gluc:LA:W* παρατηρείται το αντίθετο, δηλαδή η αύξηση της περιεκτικότητας του NaDES σε νερό οδηγεί σε αύξηση του pH.

Εξίσου σημαντικό είναι ότι σε πολύ μεγάλες αραιώσεις των NaDES Bet:LA:W* και Gly:LA:W* (<10% v/v) παρατηρείται ένα πλατό στην τιμή του pH. Αναλυτικότερα, στην περίπτωση του Bet:LA:W* το pH παραμένει σταθερό και ίσο με 2,57 σε αραιώσεις μικρότερες και ίσες του 10% v/v, ενώ στην περίπτωση του Gly:LA:W* το pH παραμένει σταθερό και ίσο με 2,55 σε αραιώσεις μικρότερες και ίσες του 5% v/v. Σε πολύ μεγάλες αραιώσεις μειώνονται οι δεσμοί υδρογόνου με αποτέλεσμα οι NaDES να χάνουν τις ιδιότητές τους και να αποτελούν φυσικά μίγματα των επιμέρους συστατικών. Επομένως, συμπεραίνεται ότι οι NaDES Bet:LA:W* και Gly:LA:W* μετατρέπονται σε φυσικά μίγματα σε αραιώσεις 10% v/v και 5% v/v αντίστοιχα. Τέλος, στην περίπτωση του NaDES Gluc/LA δεν παρατηρείται πλατό στην τιμή του pH μεταξύ 5% v/v και 10% v/v, συνεπώς θεωρείται ότι μετατρέπεται σε φυσικό μίγμα σε περιεκτικότητα σε NaDES μικρότερη από 5% v/v.

3.1.2. Μέτρηση Πυκνότητας

Η πυκνότητα των NaDES υπολογίστηκε μέσω της μεθόδου που αναλύθηκε στην Ενότητα 2.4.2, δηλαδή μέσω της ζύγισης συγκεκριμένου όγκου του NaDES με οχτώ επαναλήψεις.

Πίνακας 13: Ζύγιση 100 μ L από κάθε NaDES 8 φορές

| Μέτρηση | Μάζα (mg) | | | | | | | |
|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 1 ^η | 2 ^η | 3 ^η | 4 ^η | 5 ^η | 6 ^η | 7 ^η | 8 ^η |
| Bet:LA:W* | 118,5 | 123,1 | 116,7 | 114,3 | 114,1 | 119,3 | 115,1 | 95,6 |
| Gly:LA:W* | 107,4 | 98,8 | 110,4 | 111,8 | 104,4 | 107,5 | 102,4 | 107,2 |
| Gluc:LA:W* | 126,1 | 130,4 | 123,2 | 128,8 | 125,5 | 125,3 | 122,2 | 141,8 |

Από τις μετρήσεις αυτές προκύπτει η μέση τιμή της μάζας και κατ' επέκταση η πυκνότητα του NaDES από τη σχέση $\rho = \frac{m}{V}$.

Πίνακας 14: Μέσος όρος μάζας, όγκος που ζυγίστηκε και πυκνότητα των NaDES

| NaDES | M.O. Μάζας (mg) | Όγκος (μ L) | Πυκνότητα (g/mL) |
|------------|-----------------|------------------|------------------|
| Bet:LA:W* | 114,6 | 100 | 1,15 |
| Gly:LA:W* | 106,2 | 100 | 1,06 |
| Gluc:LA:W* | 127,9 | 100 | 1,28 |

Συμπεραίνεται, λοιπόν, ότι μεγαλύτερη πυκνότητα παρουσιάζει ο NaDES Γλυκόζη:D,L-Γαλακτικό Οξύ, έπειτα ο NaDES Βεταΐνη:D,L-Γαλακτικό Οξύ και τέλος ο NaDES Γλυκίνη:D,L-Γαλακτικό Οξύ. Το αποτέλεσμα αυτό παρατηρείται και οπτικά.

3.1.3. Μέτρηση Πολικότητας

Η πολικότητα των NaDES υπολογίζεται σύμφωνα με τη μέθοδο που αναλύθηκε στην Ενότητα 2.4.3. Πιο συγκεκριμένα, μέσω του φασματοφωτόμετρου UV-Vis προσδιορίζεται το μήκος κύματος (λ_{\max}) στο οποίο κάθε NaDES εμφανίζει τη μέγιστη απορρόφηση σε εύρος 400-700 nm μετά την προσθήκη του δείκτη Nile Red. Μέσω της σχέσης (1) προσδιορίζεται η ενέργεια μοριακής μετάβασης E_{NR} και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 15.

Πίνακας 15: Πολικότητα των NaDES με χρήση του δείκτη Nile Red

| NaDES | λ_{\max} (nm) | E_{NR} (kcal/mol) |
|------------|-----------------------|---------------------|
| Bet:LA:W* | 575,33 | 49,69 |
| Gly:LA:W* | 591 | 48,38 |
| Gluc:LA:W* | 598 | 47,81 |

Βιβλιογραφικά προσδιορίζεται η πολικότητα του νερού με τη μέθοδο με δείκτη τον Nile Red ίση με 48,20 kcal/mol.^[19] Σύμφωνα με την τιμή αυτή, συμπεραίνεται ότι ο NaDES Bet:LA:W* είναι λιγότερο πολικός από το νερό καθώς έχει μεγαλύτερη τιμή ενέργειας μοριακής μετάβασης, ο NaDES Gly:LA:W* έχει πολύ κοντινή τιμή με αυτή του νερού αλλά είναι λιγότερο πολικός και τέλος, ο NaDES Gluc/LA φαίνεται να είναι περισσότερο πολικός από το νερό εφόσον η τιμή της ενέργειας μοριακής μετάβασης είναι μικρότερη από αυτή του νερού.

3.2. Χαρακτηρισμός Εκχυλισμάτων

Πραγματοποιήθηκαν τρεις εκχυλίσεις, μία στην οποία χρησιμοποιήθηκε ως πρώτη ύλη το περίβλημα του καρπού του άγριου τριαντάφυλλου, μία στην οποία χρησιμοποιήθηκε το υπόλειμμα της επεξεργασίας του καρπού προκειμένου να παραληφθεί το αιθέριο έλαιο (βιομάζα) και μία στην οποία χρησιμοποιήθηκαν φύλλα ελιάς. Οι πρώτες δύο εκχυλίσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του NaDES Bet:LA:W* και συγκεκριμένα σε υδατικό διάλυμα 50% w/w, ενώ η δεύτερη πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του NaDES Gluc:LA:W* και εφαρμόστηκαν ίδιες συνθήκες εκχύλισης.

Για τον χαρακτηρισμό των εκχυλισμάτων σκοπός είναι ο προσδιορισμός της συνολικής τους περιεκτικότητας σε φαινολικές ενώσεις (TPC) και της συνολικής τους περιεκτικότητας σε φλαβονοειδή (TFC), όπως αναλύθηκε στις Ενότητες 2.6.1 και 2.6.2.

3.2.1. Μέτρηση Ολικού Περιεχόμενου Φαινολικών Ενώσεων (TPC)

Για τη διεξαγωγή της μεθόδου χρησιμοποιείται αραιώση 10% των εκχυλισμάτων του περιβλήματος και της βιομάζας, ενώ το εκχύλισμα των φύλλων ελιάς δεν χρησιμοποιείται αραιωμένο. Έπειτα από την μέτρηση σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis στα 755 nm προκύπτουν οι παρακάτω απορροφήσεις για τις τρεις εκχυλίσεις:

Πίνακας 16: Τιμές blank και απορροφήσεων για εκχύλισμα περιβλήματος και βιομάζας στα 755 nm

| Εκχύλιση | Blank | Μέση Τιμή Blank | Απορρόφηση | Μέση Τιμή Απορρόφησης | Διορθωμένη Απορρόφηση |
|-----------|-------|-----------------|------------|-----------------------|-----------------------|
| Περίβλημα | 0,074 | 0,072 | 0,372 | 0,332 | 0,260 |
| | 0,070 | | 0,291 | | |
| Βιομάζα | 0,068 | 0,068 | 0,183 | 0,193 | 0,125 |

| | | | | | |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 0,063 | | 0,191 | | |
| | 0,072 | | 0,205 | | |
| Ελιά | 0,065 | 0,066 | 0,546 | 0,591 | 0,525 |
| | 0,067 | | 0,635 | | |

Στη συνέχεια, υπολογίζεται η συγκέντρωση του εκχυλίσματος από τη σχέση (3), όπου το A αντιπροσωπεύει τη διορθωμένη μέση τιμή της απορρόφησης και προσδιορίζεται από την αφαίρεση της απορρόφησης του τυφλού από αυτή του δείγματος.

Πίνακας 17: Τιμές συγκέντρωσης εκχυλίσματος C_{gal}

| Εκχύλιση | Συγκέντρωση εκχυλίσματος (mg γαλλικού οξέος/mL) |
|-----------|---|
| Περίβλημα | 0,240 |
| Βιομάζα | 0,089 |
| Ελιά | 0,538 |

Για τις εκχυλίσεις του περιβλήματος και της βιομάζας η τιμή του D είναι ίση με 10, καθώς η αραιώση που χρησιμοποιήθηκε για την διεξαγωγή της μεθόδου TPC είναι 10% v/v. Η μάζα της πρώτης ύλης που χρησιμοποιήθηκε είναι σταθερή και στις δύο περιπτώσεις και ίση με 202,8 mg. Τέλος, ο όγκος του εκχυλίσματος που προέκυψε υπολογίζεται ως εξής:

$$V_{\text{extr}} = \frac{m_{\text{Bet:LA:W*}}}{\rho_{\text{Bet:LA:W*}}} + \frac{m_{\text{H}_2\text{O}}}{\rho_{\text{H}_2\text{O}}} = \left(\frac{1,5}{1,15} + \frac{1,5}{1} \right) \text{ mL} = 2,804 \text{ mL}$$

Για την εκχύλιση των φύλλων ελιάς η τιμή του D είναι ίση με 1, καθώς δεν πραγματοποιήθηκε κάποια αραιώση για την διεξαγωγή της μεθόδου TPC. Η μάζα της πρώτης ύλης, δηλαδή των φύλλων ελιάς, είναι ίση με 1 g. Άρα, ο όγκος του εκχυλίσματος που προέκυψε υπολογίζεται ως εξής:

$$V'_{\text{extr}} = \frac{m_{\text{Gluc:LA:W*}}}{\rho_{\text{Gluc:LA:W*}}} = \frac{30}{1,28} \text{ mL} = 23,438 \text{ mL}$$

Τελικά, το περιεχόμενο του κάθε εκχυλίσματος σε φαινολικές ενώσεις προσδιορίζεται μέσω της σχέσης (4) και προκύπτει:

Πίνακας 18: Τιμές ολικού περιεχομένου φαινολικών ενώσεων (TPC)

| Εκχύλιση | TPC (mg γαλλικού οξέος/ g WR) |
|-----------|-------------------------------|
| Περίβλημα | 33,17 |
| Βιομάζα | 12,29 |
| Ελιά | 12,61 |

Παρατηρείται ότι το περιεχόμενο σε φαινολικές ενώσεις που υπολογίστηκε για το εκχύλισμα που προέρχεται από το περίβλημα του καρπού του άγριου τριαντάφυλλου είναι αρκετά μεγαλύτερο από αυτό για το εκχύλισμα που προέρχεται από τη βιομάζα και από την ελιά. Η παρατήρηση αυτή είναι λογική, καθώς η βιομάζα αποτελεί υπόλειμμα της επεξεργασίας του καρπού προκειμένου να παραληφθεί το αιθέριο έλαιο, δηλαδή έχει υποστεί ήδη επεξεργασία και θεωρητικά αποτελεί απόβλητο επειδή έχουν παραληφθεί οι βιοενεργές ενώσεις που εμπεριέχονται στον καρπό. Ωστόσο, το γεγονός ότι εμπεριέχονται φαινολικές ενώσεις σε μικρό ποσοστό δίνει έναυσμα για περαιτέρω μελέτη και αξιοποίηση του υπολείμματος και όχι την απόρριψή του.

3.2.2. Μέτρηση Ολικού Περιεχομένου Φλαβονοειδών Ενώσεων (TFC)

Για τη διεξαγωγή της μεθόδου χρησιμοποιείται αραιώση 10% των εκχυλισμάτων του περιβλήματος και της βιομάζας, ενώ το εκχύλισμα των φύλλων ελιάς δεν χρησιμοποιείται αραιωμένο. Έπειτα από την μέτρηση σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis στα 510 nm προκύπτουν οι παρακάτω απορροφήσεις για τις τρεις εκχυλίσεις:

Πίνακας 19: Τιμές blank και απορροφήσεων για εκχύλισμα περιβλήματος και βιομάζας στα 510 nm

| Εκχύλιση | Blank | Μέση Τιμή Blank | Απορρόφηση | Μέση Τιμή Απορρόφησης | Διορθωμένη Απορρόφηση |
|-----------|-------|-----------------|------------|-----------------------|-----------------------|
| Περίβλημα | 0,048 | 0,0475 | 0,198 | 0,188 | 0,141 |
| | 0,047 | | 0,178 | | |
| Βιομάζα | 0,043 | 0,039 | 0,171 | 0,175 | 0,136 |
| | 0,037 | | 0,176 | | |
| | 0,037 | | 0,179 | | |
| Ελιά | 0,037 | 0,037 | 0,074 | 0,082 | 0,045 |
| | 0,037 | | 0,082 | | |
| | 0,038 | | 0,090 | | |

Στη συνέχεια, υπολογίζεται η συγκέντρωση του εκχυλίσματος από τη σχέση (5), όπου το A αντιπροσωπεύει τη διορθωμένη μέση τιμή της απορρόφησης και προσδιορίζεται από την αφαίρεση της απορρόφησης του τυφλού από αυτή του δείγματος.

Πίνακας 20: Τιμές συγκέντρωσης εκχυλίσματος C_{cat}

| Εκχύλιση | Συγκέντρωση εκχυλίσματος (mg κατεχίνης/mL) |
|-----------|--|
| Περίβλημα | 0,081 |
| Βιομάζα | 0,078 |
| Ελιά | 0,010 |

Για τις εκχυλίσεις του περιβλήματος και της βιομάζας η τιμή του D είναι ίση με 10, καθώς η αραιώση που χρησιμοποιήθηκε για την διεξαγωγή της μεθόδου TFC είναι 10% v/v. Η μάζα της πρώτης ύλης που χρησιμοποιήθηκε είναι σταθερή και στις δύο περιπτώσεις και ίση με 202,8 mg. Ο όγκος του εκχυλίσματος είναι ίσος με 2,804 mL, όπως υπολογίστηκε προηγουμένως. Για την εκχύλιση των φύλλων ελιάς η τιμή του D είναι ίση με 1, καθώς δεν πραγματοποιήθηκε κάποια αραιώση για την διεξαγωγή της μεθόδου TFC. Η μάζα της πρώτης ύλης, δηλαδή των φύλλων ελιάς, είναι ίση με 1 g και ο όγκος του εκχυλίσματος είναι ίσος με 23,438 mL, όπως υπολογίστηκε προηγουμένως. Τελικά, το περιεχόμενο του κάθε εκχυλίσματος σε φλαβονοειδή προσδιορίζεται μέσω της σχέσης (6) και προκύπτει:

Πίνακας 21: Τιμές ολικού περιεχομένου φλαβονοειδών ενώσεων (TFC)

| Εκχύλιση | TFC (mg κατεχίνης/ g WR) |
|-----------|--------------------------|
| Περίβλημα | 11,27 |
| Βιομάζα | 10,84 |
| Ελιά | 0,24 |


Παρατηρείται ότι το περιεχόμενο σε φλαβονοειδή που υπολογίστηκε για το εκχύλισμα που προέρχεται από το περίβλημα του καρπού του άγριου τριαντάφυλλου είναι ελάχιστα μεγαλύτερο από αυτό που προέρχεται από τη βιομάζα. Ωστόσο, η διαφορά των δύο τιμών

αναμένεται μεγαλύτερη επειδή η βιομάζα έχει υποστεί ήδη επεξεργασία, συνεπώς αναμένεται μικρή τιμή. Επίσης, η χαμηλή τιμή του περιεχόμενου σε φλαβονοειδή στο περίβλημα είναι λογική καθώς αναμένεται υψηλή τιμή TFC εντός του καρπού του άγριου τριαντάφυλλου. Όσον αφορά το εκχύλισμα των φύλλων ελιάς παρατηρείται ότι το περιεχόμενο σε φλαβονοειδή είναι ελάχιστο και σχεδόν μηδενικό. Συνεπώς, στο εκχύλισμα αυτό δεν περιέχονται φλαβονοειδή.

3.3. Σχηματισμός Φιλμ Φυσικών Βαθέως Ευτηκτικών Διαλυτών-Χιτοζάνης


Αρχικά, εφαρμόζεται η μέθοδος που αναλύθηκε στην Ενότητα 2.7 με χρήση υδατικού διαλύματος οξικού οξέος 1% w/v προκειμένου να επιβεβαιωθεί η μέθοδος σχηματισμού των φιλμ. Στη συνέχεια, χρησιμοποιούνται οι τρεις NaDES που παρασκευάστηκαν με σκοπό την εύρεση αυτού που παρουσιάζει τα βέλτιστα αποτελέσματα και χρήζει περαιτέρω μελέτης. Στη συγκεκριμένη περίπτωση ο NaDES που παρουσίασε τα καλύτερα αποτελέσματα είναι ο Bet:LA:W*. Για αυτό, οι εκχυλίσεις και κατ' επέκταση ο σχηματισμός των φιλμ με τα εκχυλίσματα αυτά πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του NaDES Bet:LA:W*. Όμως, στην περίπτωση της εκχύλισης των φύλλων ελιάς χρησιμοποιήθηκε ο NaDES Gluc:LA:W*, ο οποίος φαίνεται να είναι υπεύθυνος για την αντίδραση Maillard που εντοπίστηκε στο σχηματισμό κάποιων φιλμ. Οι περισσότερες δοκιμές φιλμ πραγματοποιήθηκαν με την χιτοζάνη μεγαλύτερου μοριακού βάρους, καθώς παρουσίασε καλύτερα αποτελέσματα. Στους παρακάτω πίνακες παρατίθενται τα οπτικά αποτελέσματα.





Πίνακας 22: Σχηματισμός φιλμ με χρήση οξικού οξέος

| Συμβολισμός Φιλμ | NaDES/NaDES -εκχύλισμα | Περιεκτικότητα υδατ. διαλ. (% w/v) | Χιτοζάνη (mPa · s) | Περιεκτικότητα χιτοζάνης (% w/v) | Εικόνες |
|------------------|------------------------|------------------------------------|--------------------|----------------------------------|---|
| V1 | Acetic Acid | 1 | 5-20 | 0,2 |  |
| V2 | Acetic Acid | 1 | 20-100 | 0,2 | - |

Παρασκευάζονται φιλμ με υδατικό διάλυμα οξικού οξέος 1% w/v με χιτοζάνη με δύο μοριακά βάρη αλλά στην ίδια περιεκτικότητα 0,2% w/v προκειμένου να δοκιμαστεί η μέθοδος. Τα φιλμ που προέκυψαν είναι εντελώς διαφανή, όπως φαίνεται στην εικόνα του φιλμ V1, και πολύ λεπτά, καθιστώντας την αφαίρεσή τους από τα κρυσταλλωτήρια δύσκολη. Το φιλμ V2 φαίνεται να έχει μικρότερο πάχος από το φιλμ V1, συνεπώς δεν επιτεύχθηκε η εξαγωγή του από το κρυσταλλωτήριο. Τέλος, παρατηρείται ότι και τα δύο φιλμ είναι αρκετά ψαθυρά και έχουν μικρή ελαστικότητα.

Πίνακας 23: Σχηματισμός φιλμ με χρήση NaDES Bet:LA:W*

| Συμβολισμός Φιλμ | NaDES/NaDES -εκχύλισμα | Περιεκτικότητα υδατ. διαλ. (% w/v) | Χιτοζάνη (mPa · s) | Περιεκτικότητα χιτοζάνης (% w/v) | Εικόνες |
|------------------|------------------------|------------------------------------|--------------------|----------------------------------|---|
| V3 | Bet:LA:W* | 1 | 5-20 | 0,2 |  |

| | | | | | |
|-----|-----------|---|--------|------|---|
| V4 | Bet:LA:W* | 1 | 20-100 | 0,2 |  |
| V9 | Bet:LA:W* | 5 | 20-100 | 0,2 |  |
| V10 | Bet:LA:W* | 5 | 20-100 | 0,5 |  |
| V11 | Bet:LA:W* | 5 | 20-100 | 1 |  |
| V14 | Bet:LA:W* | 1 | 5-20 | 0,04 | - |
| V15 | Bet:LA:W* | 1 | 5-20 | 0,1 | - |



Στην κατηγορία των φιλμ που παρασκευάστηκαν με NaDES Bet:LA:W* έγινε εκτενής μελέτη και λήφθηκαν πολλά αποτελέσματα. Αρχικά, παρασκευάστηκαν τα φιλμ V3 και V4, όπως αναλύθηκε στην περίπτωση του οξικού οξέος, με μοναδική διαφορά τη χρήση του διαλύτη Bet:LA:W* έναντι του οξικού οξέος. Το φιλμ V3 που σχηματίστηκε με χρήση της χιτοζάνης μικρότερου μοριακού βάρους (5-20 mPa·s) έχει πιο κίτρινο χρώμα από το φιλμ V4 που σχηματίστηκε με χρήση της χιτοζάνης μεγαλύτερου μοριακού βάρους (20-100 mPa·s). Το οπτικό αποτέλεσμα αυτό, οφείλεται στην χιτοζάνη μικρότερου μοριακού βάρους, η οποία έχει μεγαλύτερο βαθμό αποακετυλίωσης της χιτίνης και διαλύεται ευκολότερα. Αντίθετα, στην χιτοζάνη μεγαλύτερου μοριακού βάρους ο βαθμός αποακετυλίωσης είναι μικρότερος και η χιτοζάνη διαλύεται δυσκολότερα με αποτέλεσμα το φιλμ να είναι πιο διαφανές. Επίσης, παρατηρείται ότι και τα δύο φιλμ έχουν ελαστικότητα καθώς αφαιρούνται εύκολα από τα κρυσταλλωτήρια χωρίς να διαλύονται. Τέλος, είναι αρκετά κολλώδη με αποτέλεσμα να διπλώνονται.

Στη συνέχεια, παρασκευάστηκαν υδατικά διαλύματα του NaDES Bet:LA:W* μεγαλύτερης περιεκτικότητας σε NaDES και ίσης με 5% w/v. Σε αυτά, δοκιμάστηκαν τρεις διαφορετικές περιεκτικότητες σε χιτοζάνη 0,2, 0,5 και 1% w/v. Πιο συγκεκριμένα, συγκρίνεται το φιλμ V11 με το φιλμ V4 καθώς έχουν αντιστοιχία στις περιεκτικότητες. Επίσης, δοκιμάζονται μικρότερες περιεκτικότητες σε χιτοζάνη προκειμένου να μελετηθεί η πλαστικοποίησή της. Στα τρία αυτά φιλμ (V9, V10, V11) χρησιμοποιείται η χιτοζάνη μεγαλύτερου μοριακού βάρους. Η κύρια και σημαντικότερη διαφορά του V11 από το V4 είναι ότι έχει εμφανώς μεγαλύτερο πάχος, είναι συμπαγές και δεν διπλώνει. Ωστόσο, φαίνεται να είναι αρκετά ελαστικό. Το φιλμ V10 το οποίο έχει τη μισή ποσότητα χιτοζάνης από το V11 είναι πιο λεπτό, είναι συμπαγές και εντελώς διαφανές. Στην περίπτωση του φιλμ V9, το οποίο έχει την μικρότερη περιεκτικότητα σε χιτοζάνη, παρατηρείται ότι η πλαστικοποίηση δεν έχει πραγματοποιηθεί πλήρως και το φιλμ έχει αρκετά κολλώδη μορφή. Έπειτα, τα τρία φιλμ αποθηκεύτηκαν σε διηθητικό χαρτί και μετά από 20 μέρες παρατηρήθηκε ότι το V9 και το V10 έχασαν εντελώς τη δομή τους

λαμβάνοντας τη μορφή gel, το οποίο ενδεχομένως να οδηγεί στο συμπέρασμα ότι είναι υγροσκοπικά.



Τέλος, παρασκευάζονται δύο υδατικά διαλύματα Bet:LA:W* 1% w/v με χιτοζάνη 5-20 mPa·s και περιεκτικότητα σε αυτήν 0,1 και 0,04% w/v, ώστε τα φιλμ που θα προκύψουν να συγκριθούν με τα V10 και V9 αντίστοιχα ως προς την επιλογή της χιτοζάνης. Παρατηρείται ότι το φιλμ V14 δεν σχηματίστηκε και είχε τη μορφή gel εξαρχής και όχι έπειτα από 20 μέρες, όπως στην περίπτωση του V9. Επίσης, το φιλμ V15 ενώ είχε σχηματιστεί, δεν ήταν δυνατή η εξαγωγή του από το κρυσταλλωτήριο επειδή ήταν αρκετά λεπτό. Σημαντικό ρόλο σε αυτό ενδέχεται να έχει η περιεκτικότητα σε NaDES που είναι 5 φορές μικρότερη, παρ' όλο που η αναλογία NaDES-χιτοζάνη είναι ίδια και στις δύο περιπτώσεις. Ωστόσο, ακόμα και αν σχηματίζονταν στην αρχή, έπειτα από κάποιο χρονικό διάστημα θα έχαναν τη δομή τους λόγω μικρής περιεκτικότητας σε χιτοζάνη. Εκτός αυτού, είναι πιθανό η επιλογή της χιτοζάνης με μικρότερο μοριακό βάρος να πλαστικοποιείται δυσκολότερα από την χιτοζάνη με μεγαλύτερο μοριακό βάρος.

Πίνακας 24: Σχηματισμός φιλμ με χρήση NaDES Gly:LA:W*

| Συμβολισμός Φιλμ | NaDES/NaDES -εκχύλισμα | Περιεκτικότητα υδατ. διαλ. (% w/v) | Χιτοζάνη (mPa · s) | Περιεκτικότητα χιτοζάνης (% w/v) | Εικόνες |
|------------------|------------------------|------------------------------------|--------------------|----------------------------------|---|
| V5 | Gly:LA:W* | 1 | 5-20 | 0,2 |  |
| V6 | Gly:LA:W* | 1 | 20-100 | 0,2 |  |



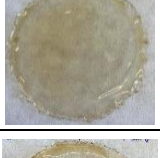


Εξίσου σημαντική αποτελεί η δοκιμή παρασκευής φιλμ με χρήση του NaDES Gly:LA:W*. Παρατηρείται ότι το φιλμ V5 έχει πιο κίτρινο χρώμα από το φιλμ V6, το οποίο οφείλεται στη χιτοζάνη με μικρότερο μοριακό βάρος και κατ' επέκταση με μεγαλύτερο βαθμό αποακετυλίωσης, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως. Κανένα από τα δύο φιλμ δεν αφαιρέθηκε από το κρυσταλλωτήριο καθώς παρουσιάζουν αρκετά κολλώδη μορφή με άσπρα στίγματα και στην προσπάθεια αφαίρεσής τους διαλύονται.

Πίνακας 25: Σχηματισμός φιλμ με χρήση NaDES Gluc:LA:W*

| Συμβολισμός Φιλμ | NaDES/NaDES -εκχύλισμα | Περιεκτικότητα υδατ. διαλ. (% w/v) | Χιτοζάνη (mPa · s) | Περιεκτικότητα χιτοζάνης (% w/v) | Εικόνες |
|------------------|------------------------|------------------------------------|--------------------|----------------------------------|---|
| V7 | Gluc:LA:W* | 1 | 5-20 | 0,2 |  |
| V8 | Gluc:LA:W* | 1 | 20-100 | 0,2 |  |

Στη συνέχεια, παρασκευάστηκαν φιλμ με χρήση του NaDES Gluc:LA:W*. Όπως φαίνεται και στις εικόνες των φιλμ V7 και V8, τα φιλμ έχουν αποκτήσει ένα σκούρο καφέ χρώμα. Το χρώμα αυτό προκύπτει λόγω της αντίδρασης Maillard, η οποία πραγματοποιείται μεταξύ της χιτοζάνης και της γλυκόζης με τη χρήση θερμότητας. Πιο συγκεκριμένα, η χιτοζάνη, λόγω της παρουσίας ελεύθερων αμινομάδων, μπορεί να αντιδράσει με την ομάδα καρβονυλίου της γλυκόζης συμμετέχοντας στην αντίδραση Maillard, εφόσον τοποθετούνται στο φούρνο προς σχηματισμό φιλμ. Η αντίδραση Maillard πραγματοποιείται σε πολλά στάδια, συνεπώς δεν είναι εφικτός ο προσδιορισμός του σταδίου στο οποίο βρίσκονται τα φιλμ αυτά. Ωστόσο, ακριβώς επειδή αποκτούν αρκετά σκούρο καφέ χρώμα και έχουν αφεθεί στον φούρνο για 2 d, συμπεραίνεται ότι βρίσκονται σε αρκετά προχωρημένο στάδιο. Τέλος, η εξαγωγή τους από τα κρυσταλλωτήρια είναι δύσκολη καθώς είναι αρκετά ψαθυρά και σπάνε εύκολα.

Πίνακας 26: Σχηματισμός φιλμ με χρήση εκχυλισμάτων περιβλήματος καρπού άγριου τριαντάφυλλου, βιομάζας και φύλλων ελιάς

| Συμβολισμός Φιλμ | NaDES/NaDES -εκχύλισμα | Περιεκτικότητα υδατ. διαλ. (% w/v) | Χιτοζάνη (mPa · s) | Περιεκτικότητα χιτοζάνης (% w/v) | Εικόνες |
|------------------|-------------------------|------------------------------------|--------------------|----------------------------------|---|
| V12 | Bet:LA:W*-WR Extract | 1 | 20-100 | 0,2 |  |
| V13 | Bet:LA:W*-WR Extract | 2 | 20-100 | 0,2 |  |
| V16 | Bet:LA:W*-Biomass | 1 | 20-100 | 0,2 |  |
| V17 | Bet:LA:W*-Biomass | 2 | 20-100 | 0,2 |  |
| V18 | Gluc:LA:W*-O.L. Extract | 1 | 20-100 | 0,2 |  |

Σημαντικό μέρος της μελέτης των φιλμ αποτελεί και ο σχηματισμός τους με χρήση πολλών και διαφορετικών εκχυλισμάτων. Κατά την παρασκευή των φιλμ αυτών χρησιμοποιείται η χιτοζάνη 20-100 mPa·s σε περιεκτικότητα 0,2% w/v και τα υδατικά διαλύματα έχουν περιεκτικότητα σε εκχύλισμα 1 ή 2% w/v ανάλογα με τον διαλύτη και την αραίωση που χρησιμοποιήθηκε κατά την εκχύλιση. Αναλυτικότερα, στις εκχυλίσεις του περιβλήματος του καρπού του άγριου τριαντάφυλλου και της βιομάζας χρησιμοποιείται διαλύτης Bet:LA:W* αραιωμένος 50% w/w, συνεπώς τα φιλμ που είναι συγκρίσιμα του V4 είναι τα V13 και V17. Αντίθετα, στην εκχύλιση των φύλλων ελιάς

χρησιμοποιήθηκε διαλύτης Gluc:LA:W* χωρίς αραίωση και κατ' επέκταση το φιλμ V18 είναι συγκρίσιμο με το V8.

Τα φιλμ που προέρχονται από την εκχύλιση του περιβλήματος του καρπού του άγριου τριαντάφυλλου (V12, V13) έχουν αρκετά έντονο κίτρινο χρώμα. Το γεγονός αυτό, οφείλεται στο εκχύλισμα το οποίο έχει εξαρχής κίτρινο χρώμα λόγω των βιοενεργών ενώσεων που εμπεριέχει. Το φιλμ V13 έχει εμφανώς πιο σκούρο χρώμα, επειδή η περιεκτικότητά του σε εκχύλισμα είναι διπλάσια από αυτή του φιλμ V12. Τα δύο φιλμ αυτά, εξάγονται ευκολότερα από τα κρυσταλλωτήρια συγκριτικά με το φιλμ V4 και είναι λιγότερο κολλώδη από αυτά.

Τα φιλμ που προέρχονται από την εκχύλιση του υπολείμματος της επεξεργασίας του καρπού προκειμένου να παραληφθεί το αιθέριο έλαιο (V16, V17) είναι λιγότερο κίτρινα από το V4 και από τα V12 και V13, ωστόσο παρατηρείται θολότητα σε αυτά. Αυτό συμβαίνει καθώς το εκχύλισμα του υπολείμματος περιέχει μικρότερη ποσότητα φαινολικών και φλαβονοειδών ενώσεων έναντι του εκχυλίσματος του περιβλήματος. Επίσης, σημαντικό αποτελεί το γεγονός ότι το συγκεκριμένο εκχύλισμα προκύπτει από πρώτη ύλη η οποία έχει υποστεί ήδη επεξεργασία. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, το φιλμ V17 έχει πιο σκούρο χρώμα από το φιλμ V16, λόγω της περιεκτικότητας σε εκχύλισμα η οποία είναι διπλάσια. Τέλος, τα δύο φιλμ αφαιρούνται εύκολα από τα κρυσταλλωτήρια και είναι λιγότερο κολλώδη από τα φιλμ με το εκχύλισμα του περιβλήματος.

Το τελευταίο φιλμ που παρασκευάστηκε προέρχεται από την εκχύλιση φύλλων ελιάς (V18), στην οποία χρησιμοποιήθηκε ο NaDES Gluc:LA:W*. Το φιλμ V18, λοιπόν, κατά τον σχηματισμό του αποκτά σκούρο καφέ χρώμα, το οποίο είναι λογικό εφόσον χρησιμοποιείται ο διαλύτης Gluc:LA:W* που, όπως προαναφέρθηκε, οδηγεί στην αντίδραση Maillard. Παρατηρείται ότι έχει παρόμοια χαρακτηριστικά με το φιλμ V8, δηλαδή αποκολλάται αρκετά δύσκολα από το κρυσταλλωτήριο και είναι αρκετά ψαθυρό με αποτέλεσμα να σπάει εύκολα.

3.4. Χαρακτηρισμός Φιλμ

Προκειμένου να χαρακτηριστούν τα φιλμ μελετήθηκαν και προσδιορίστηκαν πολλές ιδιότητές τους. Αναλυτικότερα, προσδιορίστηκαν η μάζα, το πάχος, η διαπερατότητα υδρατμών (WVP), η ελαστικότητα, η συνεκτικότητα, η ανθεκτικότητα, η προσκολλησιμότητα, η σκληρότητα, η ευθραυστότητα, η διαλυτότητα στο νερό (WS) και η αντιοξειδωτική δράση των φιλμ. Τέλος, πραγματοποιήθηκε δομικός χαρακτηρισμός μέσω της φασματοσκοπίας υπερύθρου FT-IR (ATR) και μελετήθηκε η βιοαποικοδομησιμότητά τους.

3.4.1. Μέτρηση Μάζας

Η μέτρηση της μάζας είναι από τις κυριότερες ιδιότητες χαρακτηρισμού των φιλμ. Ο προσδιορισμός της γίνεται σύμφωνα με τη μέθοδο που αναλύθηκε στην ενότητα 2.8.1. Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζεται η μάζα κάθε φιλμ, η οποία υπολογίστηκε μέσω της σχέσης (7). Τα φιλμ τα οποία παρασκευάστηκαν περισσότερες από μία φορές ζυγίζονται και προκύπτει η μέση τιμή της μάζας των φιλμ.

Πίνακας 27: Υπολογισμός μάζας φιλμ

| Συμβολισμός Φιλμ | Σύσταση Φιλμ | Μάζα Κρυσταλλωτηρίου+Φιλμ (g) | Μάζα Κρυσταλλωτηρίου (g) | Μάζα Φιλμ (g) | Μ.Ο. Μάζας Φιλμ (g) |
|------------------|---------------|-------------------------------|--------------------------|---------------|---------------------|
| V3 | Bet:LA:W* 1% | 57,8896 | 57,4156 | 0,474 | 0,4878 |
| | CS 5-20, 0,2% | 53,8752 | 53,3909 | 0,4843 | |

| | | | | | |
|-----|--|---------|---------|--------|--------|
| | | 55,0239 | 54,5208 | 0,5031 | |
| | | 53,2998 | 52,8101 | 0,4897 | |
| V4 | Bet:LA:W* 1% CS 20-100, 0,2% | 57,9292 | 57,4207 | 0,5085 | 0,4954 |
| | | 55,245 | 54,7397 | 0,5053 | |
| | | 55,1888 | 54,7068 | 0,482 | |
| | | 55,0032 | 54,5176 | 0,4856 | |
| V14 | Bet:LA:W* 1% CS 5-20, 0,04% | 55,1141 | 54,7102 | 0,4039 | 0,4033 |
| | | 57,3291 | 56,9264 | 0,4027 | |
| V15 | Bet:LA:W* 1% CS 5-20, 0,1% | 53,4232 | 52,9874 | 0,4358 | 0,4340 |
| | | 54,9294 | 54,4972 | 0,4322 | |
| V7 | Gluc:LA:W* 1% CS 5-20, 0,2% | 59,1605 | 58,8247 | 0,3358 | 0,3386 |
| | | 55,2396 | 54,8983 | 0,3413 | |
| V8 | Gluc:LA:W* 1% CS 20-100, 0,2% | 51,3764 | 51,0328 | 0,3436 | 0,3454 |
| | | 56,143 | 55,7959 | 0,3471 | |
| V16 | Bet:LA:W*- Biomass 1% CS 20-100, 0,2% | 53,2748 | 52,983 | 0,2918 | 0,2938 |
| | | 53,0687 | 52,773 | 0,2957 | |
| V17 | Bet:LA:W*- Biomass 2% CS 20-100, 0,2% | 53,2662 | 52,7932 | 0,473 | 0,4885 |
| | | 57,4275 | 56,9236 | 0,5039 | |
| V18 | Gluc:LA:W*-O.L. Extract 1% CS 20-100, 0,2% | 57,738 | 57,4098 | 0,3282 | 0,3310 |
| | | 55,0699 | 54,7361 | 0,3338 | |

Παρατηρείται ότι στα φιλμ V14, V15 και V3, όπου σχηματίζονται με υδατικό διάλυμα Bet:LA:W* 1% w/v, με χιτοζάνη 5-20 mPa · s και περιεκτικότητα σε αυτήν 0,04, 0,1 και 0,2% w/v αντίστοιχα, όσο αυξάνεται η περιεκτικότητα χιτοζάνης αυξάνεται και η μάζα του φιλμ. Επίσης, όσον αφορά τα φιλμ V3 και V4, όπου η διαφορά τους έγκειται αποκλειστικά στο μοριακό βάρος της χιτοζάνης, παρατηρούνται κοντινές τιμές μάζας και η διαφορά τους είναι μικρότερη από 0,008 g. Συνεπώς, συμπεραίνεται ότι η επιλογή χιτοζάνης επηρεάζει ελάχιστα τη μάζα των φιλμ, εφόσον διατηρούνται τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά σταθερά.

Σχετικά με τα φιλμ που παρασκευάστηκαν με χρήση του NaDES Gluc:LA:W* παρατηρείται ότι έχουν μικρότερη μάζα από τα φιλμ με NaDES Bet:LA:W*. Αυτό ενδεχομένως να οφείλεται στο περιεχόμενο νερό. Πιο συγκεκριμένα, τα φιλμ με NaDES Bet:LA:W* οπτικά είναι πιο ελαστικά και κολλώδη από τα φιλμ με NaDES Gluc:LA:W* τα οποία είναι ψαθυρά, δηλαδή ενδέχεται να μην έχει εξατμιστεί όλο το νερό κατά την παραμονή τους στο φούρνο. Βέβαια, σημαντικό ρόλο σε αυτό το αποτέλεσμα ενδέχεται να έχει και η αντίδραση Maillard. Τέλος, στα φιλμ V7 και V8, όπου η διαφορά τους έγκειται αποκλειστικά στο μοριακό βάρος της χιτοζάνης, παρατηρούνται κοντινές τιμές μάζας και η διαφορά τους είναι μικρότερη από 0,007 g, επιβεβαιώνονται το συμπέρασμα ότι η επιλογή της χιτοζάνης επηρεάζει ελάχιστα τη μάζα των φιλμ.

Στα φιλμ V16 και V17, τα οποία προκύπτουν από το εκχύλισμα βιομάζας και διαφέρουν στην περιεκτικότητά τους σε αυτό, παρατηρείται αρκετά μεγάλη απόκλιση στη μάζα και συγκεκριμένα 0,2 g. Η απόκλιση αυτή είναι λογική καθώς το φιλμ V17 περιέχει τη διπλάσια ποσότητα εκχυλίσματος από το φιλμ V16 και έχει μάζα λίγο λιγότερη από τη διπλάσια μάζα του V16. Απόρροια αυτού αποτελεί το συμπέρασμα ότι η περιεκτικότητα σε NaDES ή σε NaDES-εκχύλισμα επηρεάζει σημαντικά τη μάζα του φιλμ. Στην περίπτωση του φιλμ V18, το οποίο περιέχει το εκχύλισμα φύλλων ελιάς με χρήση του

NaDES Gluc:LA:W*, παρατηρείται ότι έχει μικρότερη αλλά πολύ κοντινή τιμή μάζας με αυτή του φιλμ V8. Επίσης, συγκριτικά με το φιλμ V17 έχει μικρότερη μάζα, το οποίο επιβεβαιώνει το συμπέρασμα ότι τα φιλμ με Bet:LA:W* έχουν μεγαλύτερη μάζα από τα φιλμ με Gluc:LA:W*.

3.4.2. Μέτρηση Πάχους

Η μέτρηση του πάχους των φιλμ έχει σημαντικό ρόλο στον χαρακτηρισμό των φιλμ. Η μέτρηση πραγματοποιείται με ψηφιακό παχύμετρο, όπως αναλύθηκε στην ενότητα 2.8.2. Έτσι, λαμβάνονται και αναγράφονται στον παρακάτω πίνακα οι τιμές πάχους για κάθε φιλμ, οι οποίες προκύπτουν από τον μέσο όρο όλων των μετρήσεων και όλων των δοκιμών για κάθε φιλμ.

Πίνακας 28: Μέτρηση πάχους φιλμ

| Συμβολισμός Φιλμ | NaDES/NaDES-εκχύλισμα | Μ.Ο. Πάχους (mm) |
|------------------|--|------------------|
| V1 | Acetic Acid 1% CS 5-20, 0,2% | 0,039 |
| V3 | Bet:LA:W* 1% CS 5-20, 0,2% | 0,108 |
| V4 | Bet:LA:W* 1% CS 20-100, 0,2% | 0,118 |
| V6 | Gly:LA:W* 1% CS 20-100, 0,2% | 0,261 |
| V8 | Gluc:LA:W* 1% CS 20-100, 0,2% | 0,114 |
| V11 | Bet:LA:W* 5% CS 20-100, 1% | 0,470 |
| V12 | Bet:LA:W*-WR Extract 1% CS 20-100, 0,2% | 0,107 |
| V13 | Bet:LA:W*-WR Extract 2% CS 20-100, 0,2% | 0,171 |
| V16 | Bet:LA:W*-Biomass 1% CS 20-100, 0,2% | 0,078 |
| V17 | Bet:LA:W*-Biomass 2% CS 20-100, 0,2% | 0,137 |
| V18 | Gluc:LA:W*-O.L. Extract 1% CS 20-100, 0,2% | 0,096 |

Σε πολλά φιλμ δεν ήταν εφικτή η αφαίρεσή τους από τα κρυσταλλωτήρια ή κάποια δεν σχηματίστηκαν, με αποτέλεσμα να μην υπάρχει μέτρηση πάχους για αυτά. Αρχικά, μετρήθηκε το πάχος του φιλμ που παρασκευάστηκε με οξικό οξύ ως φιλμ αναφοράς και συμπεραίνεται ότι έχει το μικρότερο πάχος από όλα τα φιλμ. Στη συνέχεια, στα φιλμ V3 και V4, όπου διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τη χιτοζάνη που χρησιμοποιήθηκε, παρατηρείται μικρή διαφορά στο πάχος με μεγαλύτερο αυτό του φιλμ V4. Το ίδιο αποτέλεσμα παρατηρήθηκε και στη σύγκριση της μάζας των δύο αυτών φιλμ. Άρα, η επιλογή της χιτοζάνης επηρεάζει ελάχιστα το πάχος των φιλμ. Όσον αφορά το φιλμ V11, στο οποίο η αναλογία περιεκτικότητας NaDES-χιτοζάνης είναι ίδια με αυτή στο φιλμ V4, παρατηρείται υψηλή τιμή πάχους. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην υψηλή περιεκτικότητα σε NaDES Bet:LA:W* στο φιλμ V11. Το φιλμ αυτό παρουσιάζει και την υψηλότερη τιμή πάχους από όλα τα φιλμ.

Το φιλμ V6 φαίνεται να έχει αρκετά υψηλή τιμή πάχους. Συγκριτικά με το φιλμ V4, με το οποίο διαφέρουν στην επιλογή του NaDES, το V6 έχει παραπάνω από το διπλάσιο πάχος του V4. Αντίστοιχα, το φιλμ V8, που επίσης διαφέρει στην επιλογή του NaDES από τα V4 και V6, λαμβάνει τιμή πάχους ελάχιστα μικρότερη αλλά πολύ κοντινή με αυτή του φιλμ V4.

Στην κατηγορία των φιλμ που παρασκευάστηκαν με χρήση εκχυλίσματος, εξετάστηκε το πάχος σε φιλμ με εκχύλισμα του περιβλήματος του άγριου τριαντάφυλλου, της βιομάζας και των φύλλων ελιάς σε περιεκτικότητες 1 και 2% w/v διατηρώντας σταθερή την χιτοζάνη και την περιεκτικότητα σε αυτήν. Στην περίπτωση των φιλμ V12, V13 και V16, V17 όπου διαφέρουν στην περιεκτικότητα σε εκχύλισμα, παρατηρείται ότι το πάχος είναι σχεδόν διπλάσιο στα φιλμ με περιεκτικότητα σε εκχύλισμα 2% w/v έναντι των

φιλμ με 1% w/v. Το συμπέρασμα αυτό είναι λογικό, καθώς η μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε εκχύλισμα μεταφράζεται σε μεγαλύτερο περιεχόμενο σε φαινολικές ενώσεις και φλαβονοειδή. Οι ενώσεις αυτές αποτελούνται από πολλούς αρωματικούς δακτυλίους και κατ' επέκταση οδηγούν στη διαμόρφωση ενός πλέγματος με περισσότερο κενό όγκο, άρα και μεγαλύτερο πάχος. Τα φιλμ V13 και V17 έχουν μεγαλύτερο πάχος από αυτό του φιλμ V4, το οποίο οφείλεται στην παρουσία των φαινολικών και φλαβονοειδών ενώσεων. Στην περίπτωση του φιλμ V18, το οποίο περιέχει το εκχύλισμα φύλλων ελιάς με χρήση του NaDES Gluc:LA:W*, παρατηρείται ότι έχει μικρότερη αλλά αρκετά κοντινή τιμή πάχους με αυτή του φιλμ V8. Επίσης, συγκριτικά με τα φιλμ V13 και V17 έχει μικρότερο πάχος, το οποίο επιβεβαιώνει το συμπέρασμα ότι τα φιλμ με Bet:LA:W* έχουν μεγαλύτερο πάχος από τα φιλμ με Gluc:LA:W*.

3.4.3. Μέτρηση Διαπερατότητας Υδρατμών, Water Vapor Permeability (WVP)

Η διαπερατότητα υδρατμών των φιλμ (WVP) αποτελεί μία από τις σημαντικότερες ιδιότητες για τον χαρακτηρισμό των φιλμ. Ανάλογα με την εφαρμογή που έχει κάθε φιλμ, η επιθυμητή διαπερατότητα υδρατμών διαφέρει. Για παράδειγμα, στη χρήση ενός φιλμ ως επίθεμα πληγής είναι επιθυμητή η διαπερατότητα υδρατμών και όχι ο πλήρης αποκλεισμός της πληγής από την ατμόσφαιρα προκειμένου να ενισχυθεί η επούλωση. Αντίθετα, στη χρήση ενός φιλμ ως υλικό συσκευασίας ή επικάλυψη ενός τροφίμου είναι επιθυμητή μικρή τιμή διαπερατότητας υδρατμών, ώστε να συντηρηθεί το τρόφιμο και να μην υποστεί γρήγορα αλλοίωση.

Η μέτρηση της διαπερατότητας υδρατμών πραγματοποιήθηκε στα φιλμ που φαίνεται να παρουσιάζουν ελαστικότητα, να διαθέτουν επιφάνεια προς μελέτη και να μην έχουν χρησιμοποιηθεί σε κάποια άλλη καταστρεπτική μέθοδο. Τα φιλμ αυτά είναι τα V1, V3, V4, V12, V16 και V17. Μερικά από αυτά τα φιλμ μελετήθηκαν δύο φορές, έτσι ώστε να υπάρχει μεγαλύτερη ακρίβεια, λαμβάνοντας τη μέση τιμή των μετρήσεων αυτών. Αρχικά, προσδιορίστηκε η απώλεια μάζας του συστήματος για χρονικό διάστημα 24 h. Έπειτα, η ίδια μελέτη πραγματοποιήθηκε για χρονικό διάστημα 10 d. Έτσι, προκύπτουν τα αποτελέσματα των δύο παρακάτω πινάκων.

Πίνακας 29: Απώλεια μάζας συστήματος για μέτρηση διαπερατότητας υδρατμών WVP για 24 ώρες

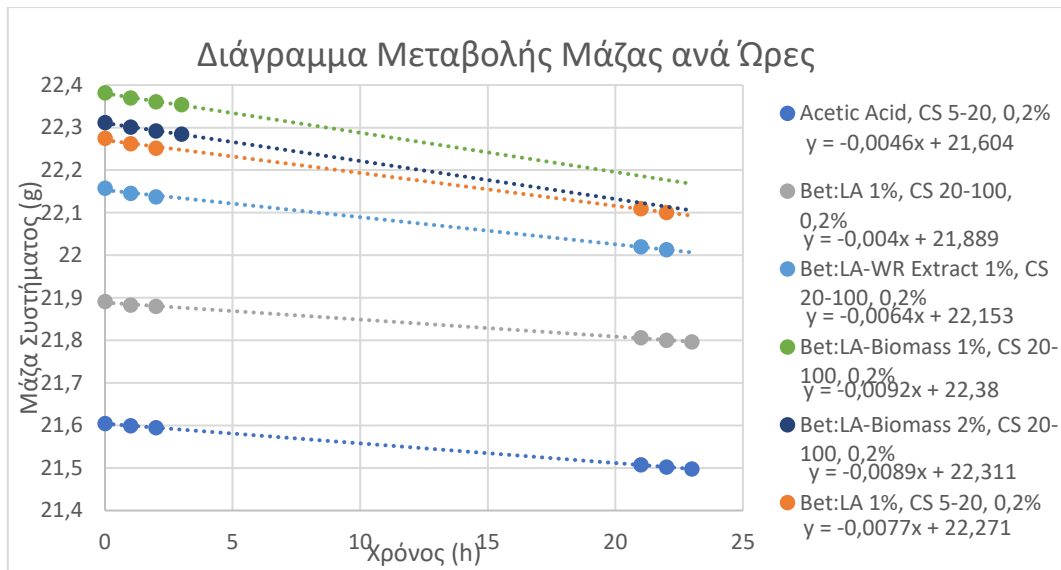
| | NaDES/NaDES-εκχύλισμα | Χρόνος (h) | | | | | | |
|----------|-----------------------------------|------------|---------|---------|---|---------|---------|---------|
| | | 0 | 1 | 2 | 3 | 21 | 22 | 23 |
| Μάζα (g) | Acetic Acid, CS 5-20, 0,2% (1) | 21,4890 | 21,4833 | 21,4789 | - | 21,3917 | 21,3866 | 21,3818 |
| | Acetic Acid, CS 5-20, 0,2% (2) | 21,7202 | 21,7149 | 21,7100 | - | 21,6235 | 21,6176 | 21,6131 |
| | Acetic Acid, CS 5-20, 0,2% V1 | 21,6046 | 21,5991 | 21,5945 | - | 21,5076 | 21,5021 | 21,4975 |
| | Bet:LA:W* 1%, CS 5-20, 0,2% (1) | 22,3662 | 22,3522 | 22,3414 | - | 22,1929 | 22,1830 | - |
| | Bet:LA:W* 1%, CS 5-20, 0,2% (2) | 22,1835 | 22,1718 | 22,162 | - | 22,0259 | 22,0173 | - |
| | Bet:LA:W* 1%, CS 5-20, 0,2% V3 | 22,2749 | 22,262 | 22,2517 | - | 22,1094 | 22,1002 | - |
| | Bet:LA:W* 1%, CS 20-100, 0,2% (1) | 21,8733 | 21,8657 | 21,8632 | - | 21,7888 | 21,7818 | 21,7785 |
| | Bet:LA:W* 1%, CS 20-100, 0,2% (2) | 21,9082 | 21,9001 | 21,8971 | - | 21,8238 | 21,8183 | 21,8141 |
| | Bet:LA:W* 1%, CS 20-100, 0,2% V4 | 21,8908 | 21,8829 | 21,8802 | - | 21,8063 | 21,8001 | 21,7963 |

| | | | | | | | | |
|--|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---|
| | Bet:LA:W*-WR Extract 1%, CS 20-100, 0,2% V12 | 22,1574 | 22,1456 | 22,1371 | - | 22,0200 | 22,0128 | - |
| | Bet:LA:W*-Biomass 1%, CS 20-100, 0,2% V16 | 22,3815 | 22,3698 | 22,3608 | 22,3537 | - | - | - |
| | Bet:LA:W*-Biomass 2%, CS 20-100, 0,2% V17 | 22,3116 | 22,3008 | 22,2922 | 22,2847 | - | - | - |

Πίνακας 30: Απώλεια μάζας συστήματος για μέτρηση διαπερατότητας υδρατμών WVP για 10 ημέρες

| NaDES/NaDES-εκχύλισμα | Χρόνος (d) | | | | | | | | | |
|-----------------------|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | |
| Μάζα (g) | Acetic Acid, CS 5-20, 0,2% (1) | 21,4890 | 21,3818 | 21,2870 | 21,2093 | | 20,8390 | | 20,6576 | 20,5581 |
| | Acetic Acid, CS 5-20, 0,2% (2) | 21,7202 | 21,6131 | 21,5161 | 21,4374 | | 21,0634 | | 20,8776 | 20,7765 |
| | Acetic Acid, CS 5-20, 0,2% V1 | 21,6046 | 21,4975 | 21,4015 | 21,3234 | | 20,9512 | | 20,7676 | 20,6673 |
| | Bet:LA:W* 1%, CS 5-20, 0,2% (1) | 22,3662 | 22,1830 | 21,9646 | 21,7638 | | 20,9665 | 20,7558 | 20,5834 | 20,4165 |
| | Bet:LA:W* 1%, CS 5-20, 0,2% (2) | 22,1835 | 22,0173 | 21,8312 | 21,6585 | | 20,9744 | 20,7772 | 20,6114 | 20,4498 |
| | Bet:LA:W* 1%, CS 5-20, 0,2% V3 | 22,2749 | 22,1002 | 21,8979 | 21,7112 | | 20,9705 | 20,7665 | 20,5974 | 20,4332 |
| | Bet:LA:W* 1%, CS 20-100, 0,2% (1) | 21,8733 | 21,7785 | 21,6899 | 21,6089 | | 21,2258 | | 21,0158 | 20,9078 |
| | Bet:LA:W* 1%, CS 20-100, 0,2% (2) | 21,9082 | 21,8141 | 21,7256 | 21,6480 | | 21,2561 | | 21,0411 | 20,9373 |
| | Bet:LA:W* 1%, CS 20-100, 0,2% V4 | 21,8908 | 21,7963 | 21,7077 | 21,6285 | | 21,2410 | | 21,0285 | 20,9226 |
| | Bet:LA:W*-WR Extract 1%, CS 20-100, 0,2% V12 | 22,1574 | 22,0128 | 21,8440 | 21,6875 | | 21,0373 | 20,8521 | 20,6948 | 20,5394 |
| | Bet:LA:W*-Biomass 1%, CS 20-100, 0,2% V16 | 22,3815 | | | 21,9448 | 21,5565 | 21,4422 | 21,2832 | | 21,1320 |
| | Bet:LA:W*-Biomass 2%, CS 20-100, 0,2% V17 | 22,3116 | | | 21,8874 | 21,4969 | 21,3782 | 21,2194 | | 21,0690 |

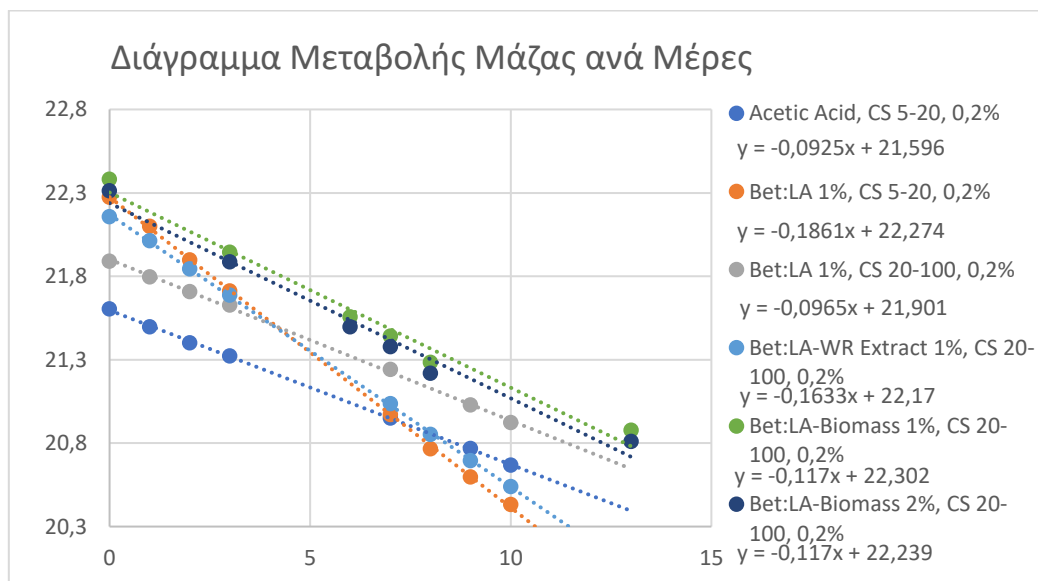
Έτσι, από τον Πίνακα 29 προκύπτει το παρακάτω διάγραμμα απώλειας μάζας του συστήματος συναρτήσεως του χρόνου για 24 h. Εφαρμόζεται γραμμική γραμμή τάσης για κάθε φιλμ και προκύπτει εξίσωση της μορφής $y=ax+b$, όπως φαίνεται στο υπόμνημα του διαγράμματος.



Διάγραμμα 6: Διάγραμμα μεταβολής μάζας του συστήματος συναρτήσει του χρόνου σε ώρες

Στο διάγραμμα αυτό, παρατηρείται ότι όλα τα φιλμ παρουσιάζουν παρόμοια κλίση, δηλαδή έχουν παρόμοιο ρυθμό απώλειας μάζας. Το συμπέρασμα αυτό είναι λογικό καθώς το χρονικό διάστημα στο οποίο γίνεται η μελέτη είναι οι 24 h και κατ' επέκταση δεν παρατηρούνται μεγάλες διαφορές στη μάζα του κάθε συστήματος. Επίσης, παρατηρείται ότι μεγαλύτερη κλίση, δηλαδή ρυθμό απώλειας μάζας, παρουσιάζουν τα φιλμ με εκχύλισμα έναντι των φιλμ με διαλύτη ή NaDES. Τέλος, εξίσου σημαντικό αποτελεί ότι το φιλμ V3 παρουσιάζει μεγαλύτερη κλίση από το φιλμ V4, τα οποία διαφέρουν μεταξύ τους ως προς την επιλογή της χιτοζάνης.

Αντίστοιχα, από τον Πίνακα 30 προκύπτει το παρακάτω διάγραμμα απώλειας μάζας του συστήματος συναρτήσει του χρόνου για 10 d. Εφαρμόζεται γραμμική γραμμή τάσης για κάθε φιλμ και προκύπτει εξίσωση της μορφής $y=ax+b$, όπως φαίνεται στο υπόμνημα του διαγράμματος.



Διάγραμμα 7: Διάγραμμα μεταβολής μάζας του συστήματος συναρτήσει του χρόνου σε ημέρες

Στο διάγραμμα αυτό, παρατηρούνται αρκετές διαφορές στις κλίσεις των εξισώσεων κάθε φιλμ, άρα κα' επέκταση διαφορετικοί ρυθμοί απώλειας μάζας. Συγκριτικά με το Διάγραμμα 6, το γεγονός αυτό είναι λογικό καθώς το χρονικό διάστημα μελέτης είναι 10 d. Αναλυτικότερα, μεγαλύτερη κλίση παρουσιάζουν τα φιλμ V3 και V12. Στην περίπτωση του φιλμ V3 το αποτέλεσμα ενδέχεται να είναι λανθασμένο, καθώς αναμένεται παρόμοια συμπεριφορά με αυτή του φιλμ V4. Ωστόσο, παρατηρείται μεγαλύτερη κλίση στο φιλμ V3 έναντι του φιλμ V4, τα οποία διαφέρουν ως προς την επιλογή χιτοζάνης. Η υψηλή κλίση πιθανώς οφείλεται σε σχάση του φιλμ και κατ' επέκταση επαφή με την ατμόσφαιρα. Επίσης, τα υπόλοιπα φιλμ έχουν κοντινές τιμές κλίσης, συνεπώς η διαπερατότητά τους καθορίζεται κυρίως από το πάχος τους. Τέλος, εξίσου σημαντική αποτελεί η παρατήρηση ότι τα φιλμ με εκχύλισμα βιομάζας έχουν τον ίδιο ρυθμό απώλειας μάζας, συνεπώς η περιεκτικότητα του φιλμ σε εκχύλισμα δεν επηρεάζει τον ρυθμό αυτό.

Από τα παραπάνω διαγράμματα προκύπτει ο Πίνακας 31 στον οποίο συνοψίζονται οι απόλυτες τιμές των κλίσεων για κάθε φιλμ, τόσο στην μελέτη σε χρονικό διάστημα 24 h όσο και στην μελέτη σε χρονικό διάστημα 10 d.

Πίνακας 31: Ρυθμός απώλειας μάζας του συστήματος για χρονικά διαστήματα 24 ωρών και 10 ημερών

| Συμβολισμός Φιλμ | NaDES/NaDES-εκχύλισμα | a (24 h) | a (10 d) |
|------------------|--|----------|----------|
| V1 | Acetic Acid, CS 5-20, 0,2% | 0,0046 | 0,0925 |
| V3 | Bet:LA:W* 1%, CS 5-20, 0,2% | 0,0077 | 0,1861 |
| V4 | Bet:LA:W* 1%, CS 20-100, 0,2% | 0,004 | 0,0965 |
| V12 | Bet:LA:W*-WR Extract 1%, CS 20-100, 0,2% | 0,0064 | 0,1633 |
| V16 | Bet:LA:W*-Biomass 1%, CS 20-100, 0,2% | 0,0092 | 0,117 |
| V17 | Bet:LA:W*-Biomass 2%, CS 20-100, 0,2% | 0,0089 | 0,117 |

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στην ενότητα 2.8.3, το εμβαδόν επιφάνειας του φιλμ που μελετήθηκε είναι ίσο με 5,76 cm² και η μερική πίεση ατμών σε θερμοκρασία περιβάλλοντος είναι ίση με 2339 Pa. Επίσης, το πάχος των φιλμ αναγράφεται στον Πίνακα 28. Εφαρμόζοντας, λοιπόν, τις σχέσεις (8) και (9) με τις κατάλληλες μετατροπές μονάδων προκύπτει:

Πίνακας 32: Διαπερατότητα υδρατμών WVTR για κάθε φιλμ για χρονικά διαστήματα 24 ωρών και 10 ημερών

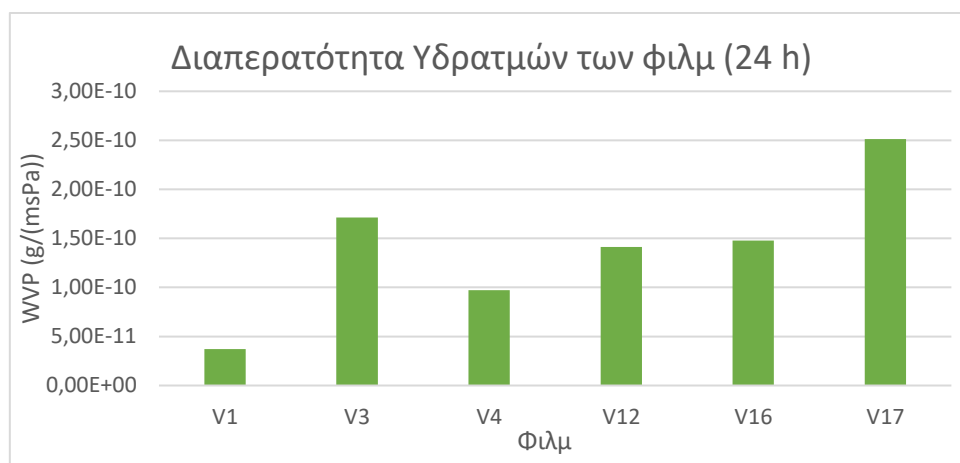
| Συμβολισμός Φιλμ | NaDES/NaDES-εκχύλισμα | WVTR (24 h) ($\frac{g}{m^2 \cdot min}$) | WVTR (10 d) ($\frac{g}{m^2 \cdot min}$) | WVP (24 h) ($\frac{g}{m \cdot s \cdot Pa}$) | WVP (10 d) ($\frac{g}{m \cdot s \cdot Pa}$) |
|------------------|---|--|--|--|--|
| V1 | Acetic Acid, CS 5-20, 0,2% | 0,1331 | 0,1115 | 3,6989E-11 | 3,0991E-11 |
| V3 | Bet:LA:W* 1%, CS 5-20, 0,2% | 0,2228 | 0,2244 | 1,7146E-10 | 1,7266E-10 |
| V4 | Bet:LA:W* 1%, CS 20-100, 0,2% | 0,1157 | 0,1163 | 9,7317E-11 | 9,7823E-11 |
| V12 | Bet:LA:W*-WR Extract 1%, CS 20-100, 0,2% | 0,1852 | 0,1969 | 1,4119E-10 | 1,5011E-10 |
| V16 | Bet:LA:W*-Biomass 1%, CS 20-100, 0,2% | 0,2662 | 0,1411 | 1,4795E-10 | 7,8400E-11 |
| V17 | Bet:LA:W*-Biomass 2%, CS 20-100, 0,2% | 0,2575 | 0,1411 | 2,5139E-10 | 1,3770E-10 |

Βιβλιογραφικά προσδιορίζεται ότι ο ρυθμός μεταφοράς υδρατμών στο κανονικό δέρμα είναι ίσος με $0,1417 \frac{g}{m^2 \cdot min}$, στο τραυματισμένο δέρμα ίσος με $0,1938 \frac{g}{m^2 \cdot min}$ και στο δέρμα

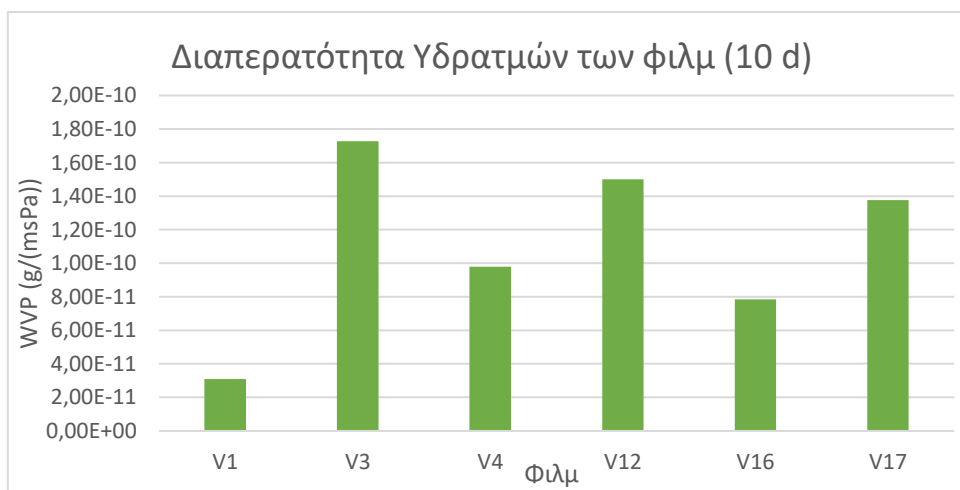
που έχει υποστεί έγκαυμα πρώτου βαθμού ίσος με $3,5681 \frac{\text{g}}{\text{m}^2 \cdot \text{min}}$. Συνεπώς, ένα κατάλληλο επίθεμα, έτσι ώστε να μην συμβαίνει πλήρης αφυδάτωση ή εφίδρωση, πρέπει να λαμβάνει τιμή ενδιάμεσα από αυτή του κανονικού δέρματος και του εγκαύματος πρώτου βαθμού. Η τιμή επιλέγεται ίση με $1,736 \frac{\text{g}}{\text{m}^2 \cdot \text{min}}$.^[61]

Τα φιλμ που μελετήθηκαν παρατηρείται ότι εμφανίζουν τιμές κοντά σε αυτές του κανονικού δέρματος και του τραυματισμένου δέρματος. Συγκεκριμένα, το V1 και το V4 παρουσιάζουν τιμή χαμηλότερη από αυτή του κανονικού δέρματος, ενώ τα υπόλοιπα λαμβάνουν τιμές πολύ κοντινές με αυτή του τραυματισμένου δέρματος και κατ'επέκταση είναι καταλληλότερα ως επιθέματα πληγών. Όσον αφορά τα φιλμ V16 και V17 παρατηρείται ότι ο ρυθμός μεταφοράς υδρατμών στις 10 d είναι σημαντικά μικρότερος από ότι στις 24 h που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως επίθεμα σε πληγή.

Προκειμένου να ερμηνευτούν τα αποτελέσματα του Πίνακα 32 κατασκευάζονται δύο διαγράμματα στηλών, ένα για τη διαπερατότητα υδρατμών στις 24 h και ένα για τη διαπερατότητα υδρατμών στις 10 d.



Διάγραμμα 8: Διαπερατότητα υδρατμών των φιλμ για χρονικό διάστημα 24 ωρών



Διάγραμμα 9: Διαπερατότητα υδρατμών των φιλμ για χρονικό διάστημα 10 ημερών

Αρχικά, παρατηρείται ότι και στα δύο διαγράμματα το φιλμ V3 παρουσιάζει μεγαλύτερη διαπερατότητα υδρατμών από το φιλμ V4. Τα δύο αυτά φιλμ διαφέρουν μεταξύ τους ως προς την επιλογή χιτοζάνης και συγκεκριμένα το φιλμ V3 έχει χιτοζάνη με μοριακό βάρος 5-20 mPa·s, ενώ το φιλμ V4 έχει χιτοζάνη με μοριακό βάρος 20-100 mPa·s. Συνεπώς, τα

φιλμ που παρασκευάζονται με χρήση NaDES Bet:LA:W* και χιτοζάνη 5-20 mPa·s έχουν μεγαλύτερη διαπερατότητα υδρατμών από αυτά με χιτοζάνη 20-100 mPa·s. Επίσης, συγκρίνοντας τα φιλμ V16 και V17 λαμβάνεται το συμπέρασμα ότι τα φιλμ με μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε εκχύλισμα βιομάζας παρουσιάζουν μεγαλύτερη διαπερατότητα υδρατμών.

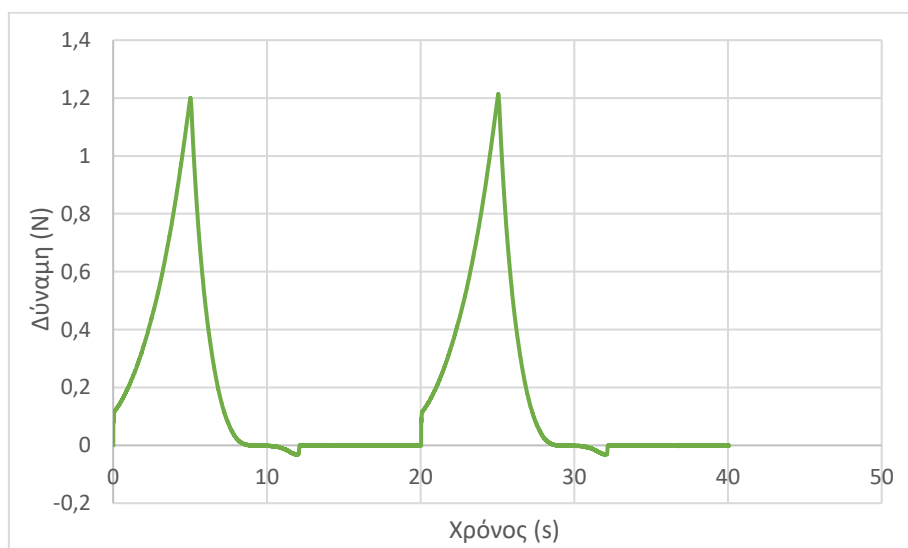
Εξίσου σημαντικό αποτελεί το γεγονός ότι η διαπερατότητα υδρατμών των φιλμ V1, V3, V4 και V12 είναι σχεδόν σταθερή στην μελέτη των 24 h και των 10 d. Αντίθετα, όσον αφορά τα φιλμ V16 και V17, που προκύπτουν από το εκχύλισμα βιομάζας, έχουν μεγαλύτερη διαπερατότητα υδρατμών στην μελέτη των 24 h έναντι των 10 d που εμφανίζουν αρκετά μικρότερη διαπερατότητα. Συγκεκριμένα, στην ανάλυση των 24 h η διαπερατότητα υδρατμών λαμβάνει τιμές σχεδόν διπλάσιες από αυτές της ανάλυσης των 10 d.

Παρατηρείται ότι μεγαλύτερη διαπερατότητα υδρατμών στην ανάλυση των 24 h παρουσιάζει το φιλμ V17, ενώ στη μελέτη των 10 d το φιλμ V3. Μικρότερη διαπερατότητα υδρατμών έχει το φιλμ V1 και στις δύο αναλύσεις. Επίσης, από το Διάγραμμα 8 φαίνεται ότι τα φιλμ V12 και V16 έχουν κοντινή τιμή διαπερατότητας υδρατμών. Τα φιλμ αυτά διαφέρουν ως προς την σύσταση του εκχυλίσματος διατηρώντας τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά ίδια (περιεκτικότητα εκχυλίσματος, χιτοζάνη, περιεκτικότητα χιτοζάνης).

3.4.4. Ανάλυση Υφής, Texture Profile Analysis (TPA)

3.4.4.1. Δοκιμή Συμπίεσης

Η δοκιμή συμπίεσης πραγματοποιήθηκε σε όσα φιλμ κάλυπταν πλήρως την πλάκα υποστήριξης. Σε μερικά από αυτά τα φιλμ πραγματοποιήθηκαν πολλαπλές μετρήσεις καθώς είχαν παρασκευαστεί παραπάνω από μία φορές. Σε αυτά τα φιλμ υπολογίζεται η μέση τιμή για τη προσκολλησιμότητα, τη συνεκτικότητα, την ελαστικότητα και την ανθεκτικότητα. Σύμφωνα με το πειραματικό μέρος, κάθε μέτρηση συμπίεσης αποτελείται από δύο συμπίεσης με αποτέλεσμα το διάγραμμα δύναμης συναρτήσει του χρόνου που προκύπτει να είναι της μορφής:



Διάγραμμα 10: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δοκιμή συμπίεσης

Από κάθε φιλμ, λοιπόν, προκύπτει ένα τέτοιο διάγραμμα. Τα διαγράμματα αυτά συνοψίζονται στο παράρτημα 1 της διπλωματικής εργασίας.

Αναλυτικότερα, από το διάγραμμα αυτό προκύπτουν πληροφορίες για πολλές ιδιότητες των φιλμ, όπως η προσκολλησιμότητα, η συνεκτικότητα, η ελαστικότητα και η ανθεκτικότητα. Η προσκολλησιμότητα είναι το αρνητικό εμβαδό μεταξύ της πρώτης και δεύτερης διείδυσης του στελέχους και αντιστοιχεί στο έργο που απαιτείται για την απομάκρυνση του στελέχους από το δείγμα. Η συνεκτικότητα είναι ο λόγος του εμβαδού κατά τη δεύτερη διείδυση προς το αντίστοιχο εμβαδό της πρώτης διείδυσης. Η ελαστικότητα προκύπτει από τον λόγο του χρόνου της δεύτερης διείδυσης μέχρι τη μέγιστη δύναμη προς τον αντίστοιχο χρόνο της πρώτης διείδυσης και εκφράζει την ικανότητα επαναφοράς του δείγματος στο αρχικό του σχήμα μετά την εφαρμογή συγκεκριμένης παραμόρφωσης. Τέλος, η ανθεκτικότητα αποτελεί το λόγο του εμβαδού αποσυμπίεσης του δείγματος προς το εμβαδό συμπίεσής του κατά τη πρώτη διείδυση.

Τα φιλμ για τα οποία πραγματοποιήθηκε δοκιμή συμπίεσης είναι τα V3, V4, V11, V12, V13, V16 και V17. Δοκιμή συμπίεσης εφαρμόστηκε και στο φιλμ V8 όμως επήλθε θραύση. Εφόσον υπολογίστηκε η μέση τιμή κάθε ιδιότητας για τα φιλμ που πραγματοποιήθηκε συμπίεση περισσότερες από μία φορές, τα αποτελέσματα αναγράφονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 33: Προσκολλησιμότητα, συνεκτικότητα, ελαστικότητα και ανθεκτικότητα κάθε φιλμ

| NaDES/NaDES-εκχύλισμα | Προσκολλησιμότητα (N·s) | Συνεκτικότητα | Ελαστικότητα | Ανθεκτικότητα |
|---|-------------------------|---------------|--------------|---------------|
| Bet:LA:W* 1%, CS 5-20, 0,2% V3 | 0,1454 | 1,0704 | 0,9878 | 0,5212 |
| Bet:LA:W* 1%, CS 20-100, 0,2% V4 | 0,0040 | 1,0718 | 0,9993 | 0,5003 |
| Bet:LA:W* 5%, CS 20-100, 1% V11 | 0,0201 | 1,1054 | 0,9935 | 0,4229 |
| Bet:LA:W*-WR Extract 1%, CS 20-100, 0,2% V12 | 0,0443 | 1,2151 | 1,0000 | 0,2024 |
| Bet:LA:W*-WR Extract 2%, CS 20-100, 0,2% V13 | 0,0346 | 0,9765 | 1,0020 | 0,4970 |
| Bet:LA:W*-Biomass 1%, CS 20-100, 0,2% V16 | 0,0441 | 1,0555 | 0,9621 | 0,3972 |
| Bet:LA:W*-Biomass 2%, CS 20-100, 0,2% V17 | 0,0363 | 1,0589 | 0,9905 | 0,4970 |

Τη μεγαλύτερη τιμή προσκολλησιμότητας εμφανίζει το φιλμ V3 με μεγάλη απόκλιση από τη προσκολλησιμότητα των υπόλοιπων φιλμ. Το συμπέρασμα αυτό παρατηρήθηκε και οπτικά καθώς το συγκεκριμένο φιλμ διπλωνόταν και κόλλαγε πολύ στις μεταλλικές επιφάνειες. Συγκριτικά με το φιλμ V4, με το οποίο διαφέρουν ως προς τη χιτοζάνη, διακρίνεται μεγάλη απόκλιση καθώς το φιλμ V4 παρουσιάζει πολύ μικρή προσκολλησιμότητα. Συνεπώς, το μοριακό βάρος της χιτοζάνης επηρεάζει σημαντικά την προσκολλησιμότητα. Επίσης, παρατηρείται ότι ο διπλασιασμός της περιεκτικότητας του φιλμ σε εκχύλισμα, είτε περιβλήματος είτε βιομάζας, οδηγεί σε μείωση της προσκολλησιμότητας.

Όσον αφορά τη συνεκτικότητα παρατηρούνται κοντινές τιμές σε όλα τα φιλμ. Ειδικότερα, τα φιλμ V3 και V4 έχουν σχεδόν την ίδια τιμή συνεκτικότητας, άρα η επιλογή της χιτοζάνης δεν επηρεάζει τη συνεκτικότητα των φιλμ. Το ίδιο συμβαίνει μεταξύ των φιλμ V16 και V17 τα οποία διαφέρουν ως προς την περιεκτικότητα σε εκχύλισμα. Ωστόσο, ενώ σύμφωνα με αυτά φαίνεται ότι η περιεκτικότητα εκχυλίσματος δεν

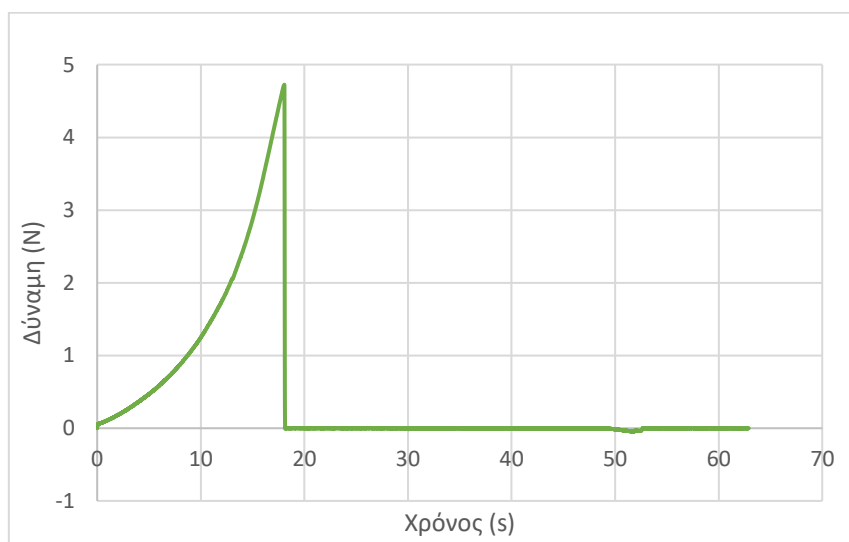
επηρεάζει τη συνεκτικότητα, στην περίπτωση των φιλμ V12 και V13 παρατηρούνται οι δύο ακραίες τιμές συνεκτικότητας με μικρότερη αυτή του φιλμ V13.

Σχετικά με την ελαστικότητα, φαίνεται ότι όλα τα φιλμ λαμβάνουν κοντινές τιμές. Η μεγαλύτερη ελαστικότητα συναντάται στα φιλμ που παρασκευάστηκαν με χρήση του εκχυλίσματος από το περίβλημα του καρπού του άγριου τριαντάφυλλου. Αντίθετα, η μικρότερη ελαστικότητα διακρίνεται στα φιλμ που παρασκευάστηκαν με χρήση του εκχυλίσματος από τη βιομάζα. Επίσης, παρατηρείται ότι τα φιλμ που σχηματίστηκαν με χρήση NaDES Bet:LA:W*, ασχέτως των υπόλοιπων συνθηκών, παρουσιάζουν κοντινές τιμές ελαστικότητας. Συνεπώς, σημαντικό ρόλο στην ελαστικότητα του φιλμ έχει η επιλογή του NaDES ή του NaDES-εκχυλίσματος που θα χρησιμοποιηθεί.

Τέλος, τη μεγαλύτερη τιμή ανθεκτικότητας παρουσιάζει το φιλμ V3. Το φιλμ V4 λαμβάνει την αμέσως επόμενη μεγαλύτερη τιμή ανθεκτικότητας καθιστώντας τα φιλμ από NaDES Bet:LA:W* τα πιο ανθεκτικά. Ωστόσο, στην περίπτωση του φιλμ V11, όπου η περιεκτικότητα σε NaDES έχει πενταπλασιαστεί, παρατηρείται μείωση της ανθεκτικότητας. Επίσης, εξίσου σημαντικό αποτελεί ότι τα φιλμ V13 και V17 έχουν την ίδια τιμή ανθεκτικότητας και τα φιλμ V12 και V16 παρουσιάζουν τις μικρότερες τιμές ανθεκτικότητας. Συνεπώς, η περιεκτικότητα σε εκχύλισμα επηρεάζει σημαντικά την ανθεκτικότητα του φιλμ.

3.4.4.2. Δοκιμή Θραύσης

Η δοκιμή θραύσης πραγματοποιήθηκε μετά τη δοκιμή συμπίεσης σε όσα φιλμ κάλυπταν πλήρως την πλάκα υποστήριξης. Σε μερικά από αυτά τα φιλμ πραγματοποιήθηκαν πολλαπλές μετρήσεις καθώς είχαν παρασκευαστεί παραπάνω από μία φορά. Σε αυτά τα φιλμ υπολογίζεται η μέση τιμή για τη σκληρότητα (Burst Strength) και την ευθραυστότητα (Distance at Burst). Σύμφωνα με το πειραματικό μέρος, κάθε μέτρηση θραύσης γίνεται μία φορά, εφόσον το φιλμ καταστρέφεται, με αποτέλεσμα το διάγραμμα δύναμης συναρτήσει του χρόνου που προκύπτει να είναι της μορφής:



Διάγραμμα 11: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δοκιμή θραύσης

Από κάθε φιλμ, λοιπόν, προκύπτει ένα τέτοιο διάγραμμα. Τα διαγράμματα αυτά συνοψίζονται στο παράρτημα 2 της διπλωματικής εργασίας.

Από το παραπάνω διάγραμμα προσδιορίζονται δύο σημαντικές ιδιότητες των φιλμ η σκληρότητα (Burst Strength) και η ευθραυστότητα (Distance at Burst). Η σκληρότητα

του φιλμ ή αλλιώς burst strength είναι η μέγιστη δύναμη που ασκείται από το στέλεχος στο φιλμ κατά τη διείδυση και επέρχεται σχάση του φιλμ. Αντίστοιχα, η ευθραυστότητα ή αλλιώς distance at burst αποτελεί την απόσταση που διανύει το στέλεχος κατά τη διείδυση μέχρι τη σχάση του φιλμ.

Τα φιλμ για τα οποία πραγματοποιήθηκε δοκιμή θραύσης είναι τα V3, V4, V11, V12, V13, V16 και V17. Δεν εφαρμόστηκε δοκιμή θραύσης στο φιλμ V8, καθώς επήλθε σχάση κατά τη δοκιμή συμπίεσης. Εφόσον υπολογίστηκε η μέση τιμή κάθε ιδιότητας για τα φιλμ που πραγματοποιήθηκε θραύση περισσότερες από μία φορές, τα αποτελέσματα αναγράφονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 34: Σκληρότητα και ευθραυστότητα κάθε φιλμ

| Συμβολισμός Φιλμ | NaDES/NaDES-εκχύλισμα | Σκληρότητα (Burst Strength) (N) | Ευθραυστότητα (Distance at burst) (mm) |
|------------------|--|---------------------------------|--|
| V3 | Bet:LA:W* 1%, CS 5-20, 0,2% | 1,6788 | 33,1373 |
| V4 | Bet:LA:W* 1%, CS 20-100, 0,2% | 5,0070 | 31,1200 |
| V11 | Bet:LA:W* 5%, CS 20-100, 1% | 31,9695 | 29,5730 |
| V12 | Bet:LA:W*-WR Extract 1%, CS 20-100, 0,2% | 16,4622 | 26,6550 |
| V13 | Bet:LA:W*-WR Extract 2%, CS 20-100, 0,2% | 5,9122 | 26,8780 |
| V16 | Bet:LA:W*-Biomass 1%, CS 20-100, 0,2% | 10,6849 | 33,1200 |
| V17 | Bet:LA:W*-Biomass 2%, CS 20-100, 0,2% | 4,7692 | 33,1070 |

Τη μεγαλύτερη τιμή σκληρότητας παρουσιάζει το φιλμ V11, ενώ τη μικρότερη το φιλμ V3. Αναλυτικότερα, συγκρίνοντας τα φιλμ V3 και V4 παρατηρείται σημαντική αύξηση στη σκληρότητα του φιλμ V4. Τα δύο φιλμ αυτά διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το μοριακό βάρος της χιτοζάνης. Άρα, τα φιλμ που παρασκευάζονται με χιτοζάνη μεγαλύτερου μοριακού βάρους παρουσιάζουν μεγαλύτερη σκληρότητα από αυτά με χιτοζάνη μικρότερου μοριακού βάρους, διατηρώντας τις υπόλοιπες συνθήκες ίδιες (περιεκτικότητα NaDES, περιεκτικότητα χιτοζάνης). Στην περίπτωση του φιλμ V11 παρατηρείται ραγδαία αύξηση στη σκληρότητα. Το γεγονός αυτό οφείλεται στη περιεκτικότητα σε NaDES που στο συγκεκριμένο φιλμ είναι πενταπλάσια από αυτή του V4. Φαίνεται, λοιπόν, ότι η περιεκτικότητα σε διαλύτη επηρεάζει σημαντικά τη σκληρότητα του φιλμ.

Στην κατηγορία των εκχυλισμάτων και συγκρίνοντας τα φιλμ V12, V13 και V16, V17 μεταξύ τους, συμπεραίνεται ότι η αύξηση της περιεκτικότητας των φιλμ σε εκχύλισμα οδηγεί σε μείωση της σκληρότητας παραπάνω από το μισό. Συνεπώς, η περιεκτικότητα σε εκχύλισμα είναι σημαντικός παράγοντας επιρροής της σκληρότητας. Επίσης, συγκρίνοντας τα φιλμ V13 και V17 με το φιλμ V4, όπου έχουν ίδιες συνθήκες, παρατηρούνται παρόμοιες τιμές σκληρότητας με μεγαλύτερη αυτή του φιλμ V13. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι, εκτός από το φιλμ V11, τα φιλμ V12 και V16 παρουσιάζουν υψηλή σκληρότητα.

Όσον αφορά την ευθραυστότητα, τη μεγαλύτερη τιμή παρουσιάζει το φιλμ V3 το οποίο έχει και τη μικρότερη σκληρότητα. Στη συνέχεια, επιλέγοντας χιτοζάνη με μεγαλύτερο μοριακό βάρος από αυτή στο φιλμ V3 παρατηρείται μείωση της ευθραυστότητας του φιλμ. Επίσης, αυξάνοντας τη περιεκτικότητα σε NaDES και χιτοζάνη (V11), παρατηρείται μείωση της ευθραυστότητας σε αντίθεση με την σκληρότητα όπου παρατηρείται ραγδαία αύξηση.

Έπειτα, στη περίπτωση των φιλμ V12, V13 και V16, V17, τα οποία περιέχουν εκχύλισμα περιβλήματος και εκχύλισμα βιομάζας αντίστοιχα, παρατηρείται παρόμοια τιμή ευθραυστότητας ανά ζεύγος φιλμ. Πιο συγκεκριμένα, τα φιλμ V12 και V13 με εκχύλισμα περιβλήματος έχουν πολύ κοντινές τιμές ευθραυστότητας καθώς και τις μικρότερες από όλα τα φιλμ. Αντίστοιχα, τα φιλμ V16 και V17 με εκχύλισμα βιομάζας έχουν πολύ κοντινές τιμές ευθραυστότητας και αρκετά υψηλές φτάνοντας την ευθραυστότητα του φιλμ V3. Τελικά, η επιλογή της σύστασης του εκχυλίσματος και όχι της περιεκτικότητας σε αυτό επηρεάζει σημαντικά την ευθραυστότητα.

3.4.5. Δοκιμές Διαλυτότητας

3.4.5.1. Μέθοδος Pereira-Andrade, Water Solubility (WS)

Ακολουθώντας τη μέθοδο Pereira-Andrade που περιγράφηκε στην ενότητα 2.8.5.1, από κάθε φιλμ που μελετήθηκε κόβεται ένα τετράγωνο κομμάτι συγκεκριμένων διαστάσεων και κατ' επέκταση εμβαδού επιφάνειας. Εφόσον ξηράθηκε και ζυγίστηκε προστίθεται κατάλληλη ποσότητα υπερκάθαρου νερού έτσι ώστε να διατηρείται ο λόγος εμβαδού επιφάνειας προς όγκο νερού σταθερός και ίσος με $0,08 \text{ cm}^2/\text{mL}$. Στον παρακάτω πίνακα, λοιπόν, αναγράφονται το εμβαδόν επιφάνειας κάθε φιλμ που εξετάστηκε και η ποσότητα νερού που προστέθηκε.

Πίνακας 35: Εμβαδόν επιφάνειας και όγκος υπερκάθαρου νερού για κάθε φιλμ για μέτρηση διαλυτότητας (WS)

| Συμβολισμός Φιλμ | NaDES/NaDES-εκχύλισμα | Εμβαδόν Επιφάνειας (cm^2) | Όγκος Υπερκάθαρου Νερού (mL) |
|------------------|---|--------------------------------------|------------------------------|
| V3 | Bet:LA:W* 1%, CS 5-20, 0,2% | 2,25 | 28,125 |
| V4 | Bet:LA:W* 1%, CS 20-100, 0,2% | 4 | 50 |
| V8 | Gluc:LA:W* 1% CS 20-100, 0,2% | 1,44 | 18 |
| V11 | Bet:LA:W* 5%, CS 20-100, 1% | 4 | 50 |
| V12 | Bet:LA:W*-WR Extract 1%, CS 20-100, 0,2% | 0,9 | 11,25 |
| V13 | Bet:LA:W*-WR Extract 2%, CS 20-100, 0,2% | 1,2 | 15 |
| V16 | Bet:LA:W*-Biomass 1%, CS 20-100, 0,2% | 3,24 | 40,5 |
| V17 | Bet:LA:W*-Biomass 2%, CS 20-100, 0,2% | 3,6 | 45 |
| V18 | Gluc:LA:W*-O.L. Extract 1%, CS 20-100, 0,2% | 1 | 12,5 |

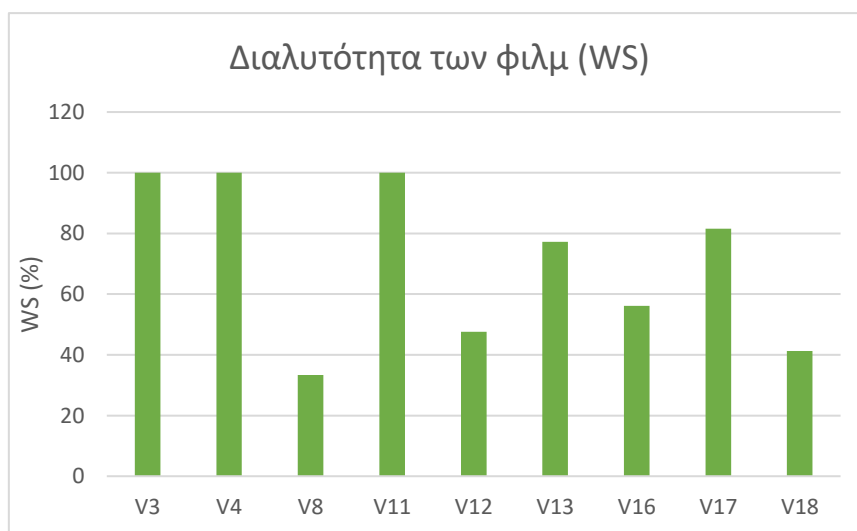
Αρχικά, ζυγίζονται τα σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν. Στη συνέχεια, πριν προστεθεί το νερό και εφόσον έχει ξηραθεί το φιλμ για 1 d, ζυγίζεται μαζί με το σκεύος του. Μία ημέρα μετά την προσθήκη του νερού παρατηρείται ότι τα φιλμ V3, V4 και V11 είχαν διαλυθεί, συνεπώς θεωρούνται πλήρως υδατοδιαλυτά (WS=100%). Τα υπόλοιπα φιλμ τοποθετούνται εκ νέου για ξήρανση και έπειτα ζυγίζονται μαζί με το σκεύος τους. Προκειμένου να εφαρμοστεί η σχέση (10) προς τον υπολογισμό της διαλυτότητας των φιλμ στο νερό, αφαιρείται η μάζα του σκεύους από τις μετρήσεις πριν και μετά την προσθήκη νερού. Τελικά, προκύπτει:

Πίνακας 36: Υπολογισμός διαλυτότητας (WS) για κάθε φιλμ

| Συμβολισμός Φιλμ | NaDES/NaDES-εκχύλισμα | Φιλμ ξηρό πριν (g) | Φιλμ ξηρό μετά (g) | WS (%) |
|------------------|--|--------------------|--------------------|--------|
| V3 | Bet:LA:W* 1%, CS 5-20, 0,2% | 0,0140 | 0,0000 | 100,00 |
| V4 | Bet:LA:W* 1%, CS 20-100, 0,2% | 0,0332 | 0,0000 | 100,00 |
| V8 | Gluc:LA:W* 1% CS 20-100, 0,2% | 0,0141 | 0,0094 | 33,33 |
| V11 | Bet:LA:W* 5%, CS 20-100, 1% | 0,2697 | 0,0000 | 100,00 |
| V12 | Bet:LA:W*-WR Extract 1%, CS 20-100, 0,2% | 0,0103 | 0,0054 | 47,57 |
| V13 | Bet:LA:W*-WR Extract 2%, CS 20-100, 0,2% | 0,0215 | 0,0049 | 77,21 |
| V16 | Bet:LA:W*-Biomass 1%, CS 20-100, 0,2% | 0,0244 | 0,0107 | 56,15 |
| V17 | Bet:LA:W*-Biomass 2%, CS 20-100, 0,2% | 0,0417 | 0,0077 | 81,53 |
| V18 | Gluc:LA:W*-O.L. Extract 1%, CS 20-100, 0,2% | 0,0138 | 0,0081 | 41,30 |

Αξίζει να σημειωθεί ότι μετά την προσθήκη του υπερκάθαρου νερού τα φιλμ που έχουν παρασκευαστεί με το εκχύλισμα του περιβλήματος μαζεύονται σχηματίζοντας κύλινδρο. Το γεγονός αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα φιλμ V12 και V13 ενδέχεται να έχουν υδρόφοβο χαρακτήρα. Επίσης, τα φιλμ που έχουν παρασκευαστεί με το εκχύλισμα βιομάζας, έπειτα από την παραμονή τους στο νερό για μία ημέρα, ήταν διεσταλμένα και είχαν αποκτήσει μορφή gel.

Τα αποτελέσματα του Πίνακα 36 απεικονίζονται στο παρακάτω διάγραμμα στηλών:



Διάγραμμα 12: Διαλυτότητα των φιλμ (WS)

Τη μικρότερη διαλυτότητα στο νερό παρουσιάζουν τα φιλμ V8 και V18. Πιο συγκεκριμένα, συμπεραίνεται ότι φιλμ που παρασκευάζονται με χρήση του NaDES Gluc:LA:W* διαλύονται δύσκολα στο νερό. Αντίθετα, όπως προαναφέρθηκε, τα φιλμ που σχηματίζονται με χρήση του NaDES Bet:LA:W* είναι πλήρως υδατοδιαλυτά.

Όσον αφορά τα φιλμ που παρασκευάζονται με εκχύλισμα περιβλήματος και βιομάζας, παρατηρείται ότι δεν διαλύονται πλήρως στο νερό παρ' όλο που τα συγκεκριμένα

εκχυλίσματα έχουν προκύψει με χρήση NaDES Bet:LA:W*. Πιο συγκεκριμένα, συγκρίνοντας τα φιλμ V12 και V16, τα οποία έχουν την ίδια περιεκτικότητα εκχυλίσματος αλλά διαφέρουν ως προς τη σύσταση του εκχυλίσματος, παρατηρείται ότι το φιλμ V12 έχει μικρότερη διαλυτότητα από το φιλμ V16. Ωστόσο, και στις δύο περιπτώσεις διπλασιάζοντας την περιεκτικότητα του εκχυλίσματος (V13 και V17) παρατηρείται μεγάλη αύξηση της διαλυτότητας κατά 25-30%. Συνεπώς, φαίνεται ότι όσο αυξάνεται η περιεκτικότητα του φιλμ σε εκχύλισμα, αυξάνεται και η διαλυτότητά του στο νερό.

3.4.5.2. Χρήση Διαλύματος Κανστικού Νατρίου (NaOH, 1 M)

Η μελέτη της διαλυτότητας (οπτικά) με χρήση διαλύματος κανστικού νατρίου εφαρμόστηκε μόνο στα φιλμ που παρασκευάστηκαν με τη χρήση εκχυλίσματος, δηλαδή στα V12, V13, V16, V17 και V18. Εφόσον ρυθμίστηκε το pH ίσο με 10 και το σύστημα αφέθηκε για 2 d, μετρείται εκ νέου το pH και προκύπτει:

Πίνακας 37: pH διαλυμάτων κατά τη μελέτη διαλυτότητας με χρήση διαλύματος NaOH

| Συμβολισμός Φιλμ | NaDES/NaDES-εκχύλισμα | pH |
|------------------|---|------|
| V12 | Bet:LA:W*-WR Extract 1%, CS 20-100, 0,2% | 8,5 |
| V13 | Bet:LA:W*-WR Extract 2%, CS 20-100, 0,2% | 8,7 |
| V16 | Bet:LA:W*-Biomass 1%, CS 20-100, 0,2% | 9,7 |
| V17 | Bet:LA:W*-Biomass 2%, CS 20-100, 0,2% | 9,54 |
| V18 | Gluc:LA:W*-O.L. Extract 1%, CS 20-100, 0,2% | 8,75 |

Στη συνέχεια, το pH ρυθμίζεται ίσο με 12 και το σύστημα αφήνεται εκ νέου για 2 d. Οπτικά παρατηρείται ότι και τα πέντε φιλμ παραμένουν αδιάλυτα. Ωστόσο, από τη μείωση του pH που παρατηρήθηκε μετά τις 2 πρώτες μέρες, συμπεραίνεται ότι ένα μέρος των φιλμ έχει διαλυθεί οδηγώντας σε μείωση του pH. Πιο συγκεκριμένα, σημαντική μείωση παρατηρείται στα φιλμ που έχουν παρασκευαστεί με χρήση εκχυλίσματος από το περίβλημα του άγριου τριαντάφυλλου, καθώς και εκχυλίσματος από τα φύλλα ελιάς.

3.4.6. Μέτρηση Αντιοξειδωτικής Δράσης – AAPH

Η αντιοξειδωτική δράση μελετήθηκε στα φιλμ που παρασκευάστηκαν με χρήση του NaDES Gluc:LA:W*, καθώς και με χρήση εκχυλισμάτων. Αρχικά, για τον υπολογισμό του ποσοστού παρεμπόδισης της λιπιδικής υπεροξειδωσίας μέσω της σχέσης (10), μετριοούνται οι απορροφήσεις του AAPH σε χρόνους 0 και 1 min και αφαιρούνται από τις απορροφήσεις του Control στους αντίστοιχους χρόνους. Προσδιορίζεται ο μέσος όρος των απορροφήσεων στις δύο χρονικές στιγμές και έπειτα αφαιρείται η απορρόφηση σε χρόνο 0 min από αυτήν σε χρόνο 1 min. Στη συνέχεια, μετριοούνται οι απορροφήσεις του δείγματος στους ίδιους χρόνους και αφαιρούνται από αυτές οι απορροφήσεις του AAPH. Προσδιορίζεται ο μέσος όρος των απορροφήσεων στις δύο χρονικές στιγμές και έπειτα αφαιρείται η απορρόφηση σε χρόνο 0 min από αυτήν σε χρόνο 1 min.

Αναλυτικότερα, οι τιμές απορροφήσεων του AAPH και του Control για τα φιλμ V7 και V12 αναγράφονται στον Πίνακα 37, ενώ για τα φιλμ V8, V13, V16, V17 και V18 αναγράφονται στον Πίνακα 38.

Πίνακας 38: Απορροφήσεις AAPH και Control για τα φιλμ V7 και V12

| t (min) | A _{AAPH} | A _{Control} | | | A _{Control} -A _{AAPH} | | | Μέσος Όρος | A (t ₁ -t ₀) |
|---------|-------------------|----------------------|--------|--------|---|--------|--------|------------|-------------------------------------|
| 0 | 1,0436 | 1,2385 | 1,2414 | 1,3450 | 0,1949 | 0,1978 | 0,3014 | 0,2313 | 0,0506 |
| 1 | 1,0820 | 1,3125 | 1,3506 | 1,4288 | 0,2305 | 0,2686 | 0,3468 | 0,2820 | |

Πίνακας 39: Απορροφήσεις AAPH και Control για τα φιλμ V8, V13, V16, V17 και V18

| t (min) | A _{AAPH} | A _{Control} | | | A _{Control} -A _{AAPH} | | | Μέσος Όρος | A (t ₁ -t ₀) |
|---------|-------------------|----------------------|--------|--------|---|--------|--------|------------|-------------------------------------|
| 0 | 0,9068 | 1,2330 | 1,1747 | 1,2729 | 0,3262 | 0,2679 | 0,3661 | 0,3201 | 0,0734 |
| 1 | 0,9576 | 1,3310 | 1,3005 | 1,4218 | 0,3734 | 0,3429 | 0,4642 | 0,3935 | |

Έπειτα, μετρώντας τις απορροφήσεις κάθε δείγματος και χρησιμοποιώντας την απορρόφηση του AAPH προκύπτει:

Πίνακας 40: Απορροφήσεις των φιλμ

| Συμβολισμός Φιλμ | t (min) | A | | | A-A _{AAPH} | | | Μέσος Όρος | A (t ₁ -t ₀) |
|------------------|---------|--------|--------|--------|---------------------|--------|--------|------------|-------------------------------------|
| V7 | 0 | 1,2927 | 1,2300 | 1,2311 | 0,2491 | 0,1864 | 0,1875 | 0,2076 | 0,0204 |
| | 1 | 1,3599 | 1,2558 | 1,3143 | 0,2779 | 0,1738 | 0,2323 | 0,2280 | |
| V8 | 0 | 1,2788 | - | - | 0,3720 | - | - | 0,3720 | 0,0149 |
| | 1 | 1,3445 | - | - | 0,3869 | - | - | 0,3869 | |
| V12 | 0 | 1,3719 | 1,3938 | - | 0,3283 | 0,3502 | - | 0,3392 | 0,0195 |
| | 1 | 1,4016 | 1,4798 | - | 0,3196 | 0,3978 | - | 0,3587 | |
| V13 | 0 | 1,2942 | 1,1616 | - | 0,3874 | 0,2548 | - | 0,3211 | 0,0209 |
| | 1 | 1,4129 | 1,1863 | - | 0,4553 | 0,2287 | - | 0,3420 | |
| V16 | 0 | 1,2524 | 1,2902 | - | 0,3456 | 0,3834 | - | 0,3645 | 0,0152 |
| | 1 | 1,3188 | 1,3558 | - | 0,3612 | 0,3982 | - | 0,3797 | |
| V17 | 0 | 1,3386 | 1,0177 | - | 0,4318 | 0,1109 | - | 0,2714 | 0,0100 |
| | 1 | 1,3666 | 1,1113 | - | 0,4090 | 0,1537 | - | 0,2814 | |
| V18 | 0 | 1,1900 | 1,2506 | 1,2909 | 0,2832 | 0,3438 | 0,3841 | 0,3370 | 0,0200 |
| | 1 | 1,3157 | 1,3028 | 1,3254 | 0,3581 | 0,3452 | 0,3678 | 0,3570 | |

Τελικά, εφαρμόζοντας τη σχέση (11) προκύπτει η αντιοξειδωτική δράση για κάθε φιλμ.

Πίνακας 41: Αντιοξειδωτική δράση των φιλμ μέσω της μεθόδου AAPH

| Συμβολισμός Φιλμ | NaDES/NaDES-εκχύλισμα | % Παρεμπόδιση |
|------------------|---|---------------|
| V7 | Gluc:LA:W* 1% CS 5-20, 0,2% | 59,78 |
| V8 | Gluc:LA:W* 1% CS 20-100, 0,2% | 79,71 |
| V12 | Bet:LA:W*-WR Extract 1%, CS 20-100, 0,2% | 61,52 |
| V13 | Bet:LA:W*-WR Extract 2%, CS 20-100, 0,2% | 71,54 |
| V16 | Bet:LA:W*-Biomass 1%, CS 20-100, 0,2% | 79,30 |
| V17 | Bet:LA:W*-Biomass 2%, CS 20-100, 0,2% | 86,38 |
| V18 | Gluc:LA:W*-O.L. Extract 1%, CS 20-100, 0,2% | 72,76 |

Πολύ υψηλά ποσοστά παρεμπόδισης της λιπιδικής υπεροξειδωσης, άρα υψηλή αντιοξειδωτική δράση, παρουσιάζουν τα φιλμ V8, V16 και V17. Το φιλμ V8 παρασκευάστηκε με τη χρήση NaDES Gluc:LA:W*, ενώ τα V16 και V17 προκύπτουν με χρήση του εκχυλίσματος βιομάζας. Αντίθετα, τη χαμηλότερη αντιοξειδωτική δράση συγκριτικά με τα φιλμ που μελετήθηκαν, που όμως είναι αρκετά υψηλή τιμή, παρουσιάζει το φιλμ V7.

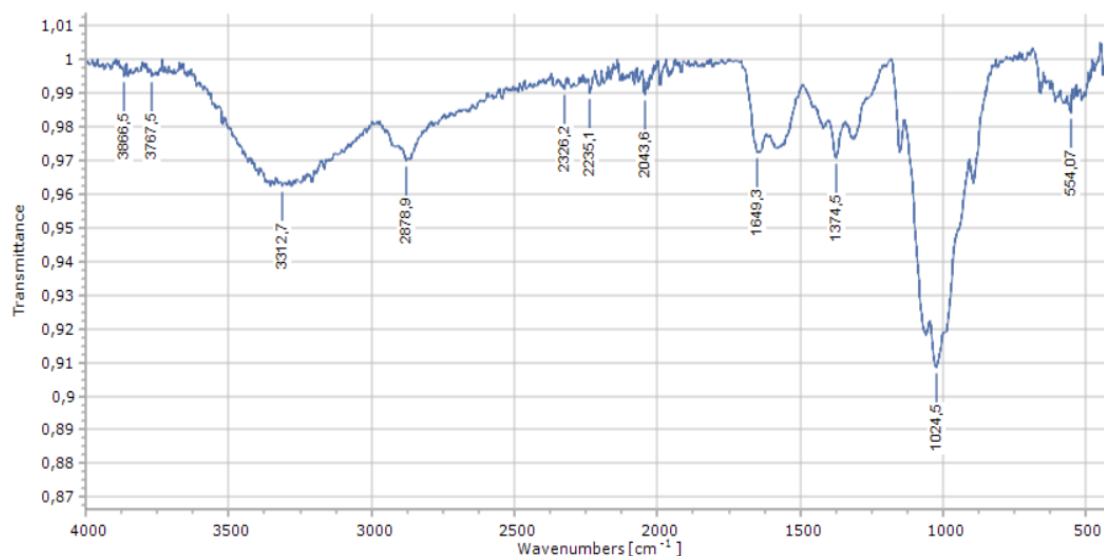
Αναλυτικότερα, συγκρίνοντας τα φιλμ V7 και V8 παρατηρείται αύξηση του ποσοστού παρεμπόδισης κατά 20%. Συγκεκριμένα, η χιτοζάνη 5-20 mPa · s έναντι της χιτοζάνης 20-

100 mPa · s, σε φιλμ με περιεκτικότητα 0,2% σε αυτήν και με χρήση NaDES Gluc:LA:W*, έχει μικρότερη αντιοξειδωτική δράση. Όσον αφορά το φιλμ V18, παρατηρείται υψηλό ποσοστό παρεμπόδισης το οποίο βρίσκεται μεταξύ του ποσοστού των φιλμ V7 και V8. Συνεπώς, το εκχύλισμα φύλλων ελιάς με χρήση NaDES Gluc:LA:W* σε φιλμ παρουσιάζει αρκετά υψηλή αντιοξειδωτική δράση, όμως είναι μικρότερη από αυτή του φιλμ που προκύπτει με χρήση NaDES Gluc:LA:W*.

Στην κατηγορία των φιλμ που παρασκευάστηκαν με χρήση εκχυλισμάτων από NaDES Bet:LA:W* συναντώνται υψηλά ποσοστά παρεμπόδισης. Πιο συγκεκριμένα, συγκρίνοντας το V12 με το V13 και το V16 με το V17, τα οποία διαφέρουν ως προς την περιεκτικότητα σε εκχύλισμα, παρατηρείται αύξηση του ποσοστού κατά 7-10%. Άρα, τα φιλμ που περιέχουν μεγαλύτερη ποσότητα εκχυλίσματος παρουσιάζουν υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση. Επίσης, στην κατηγορία αυτή φαίνεται ότι καλύτερα αποτελέσματα έχουν τα φιλμ που προκύπτουν με χρήση του εκχυλίσματος βιομάζας. Αυτό επιβεβαιώνεται καθώς το φιλμ V12 έναντι του V16 και αντίστοιχα το φιλμ V13 έναντι του V17 παρουσιάζουν μικρότερα ποσοστά παρεμπόδισης κατά 15-20%.

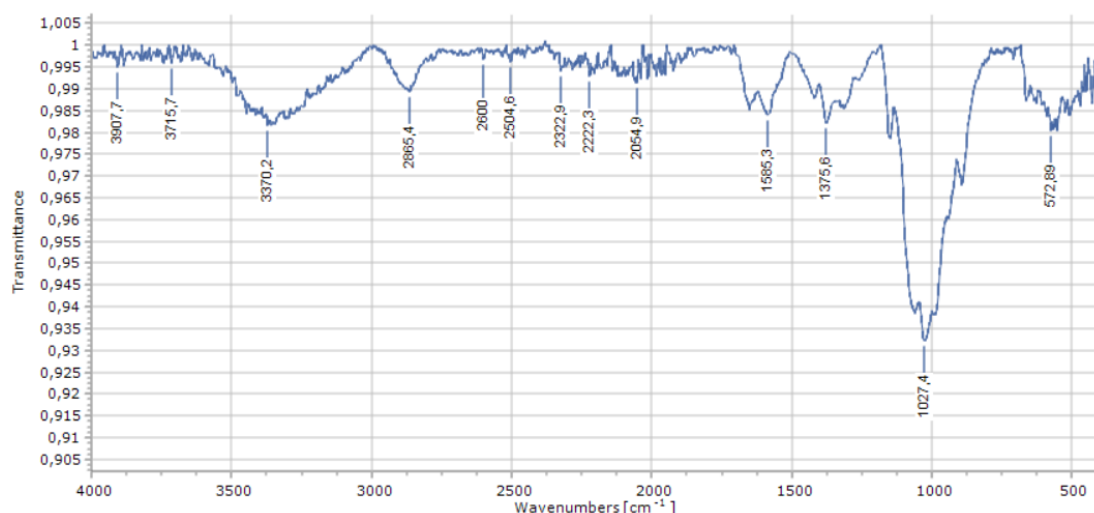
3.4.7. Φασματοσκοπία Υπερύθρου FT-IR (ATR)

Η φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier και τεχνική εξασθενημένης ολικής ανάκλασης (ATR) χρησιμοποιείται προκειμένου να προσδιοριστούν τα δομικά χαρακτηριστικά των φιλμ μέσω των φασμάτων στο εύρος 4000-400 cm⁻¹. Αρχικά, λαμβάνεται το φάσμα της χιτοζάνης 5-20 mPa · s και της χιτοζάνης 20-100 mPa · s και έπειτα προσδιορίζεται το φάσμα για τα φιλμ V3, V4, V7, V8, V11, V12, V13, V16, V17 και V18.



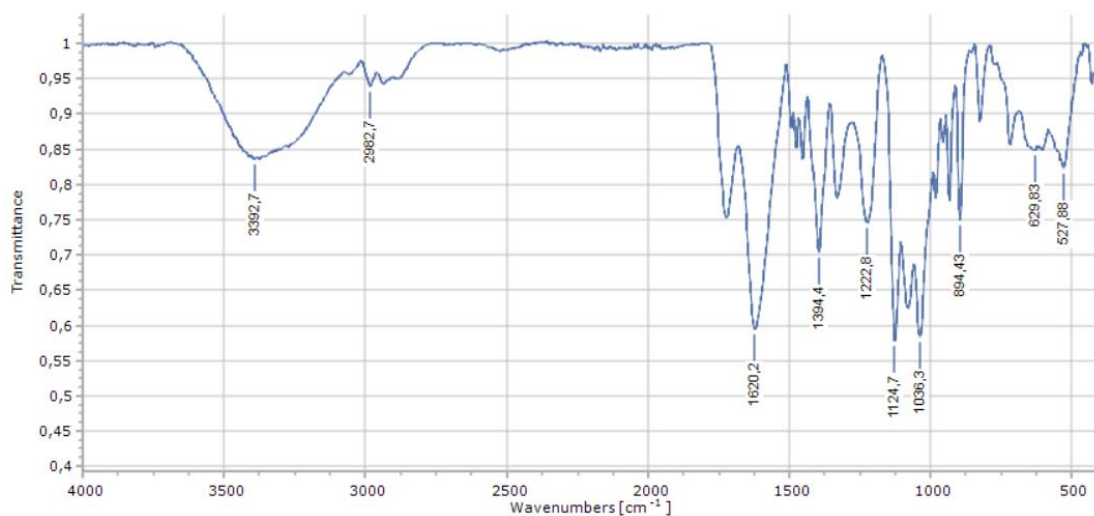
Διάγραμμα 13: Φάσμα FT-IR (ATR) για τη χιτοζάνη 5-20 mPa·s

Στο παραπάνω φάσμα της χιτοζάνης 5-20 mPa·s παρατηρείται μία ευρεία κορυφή με κυματαριθμό 3312,7 cm⁻¹. Βιβλιογραφικά το εύρος 3550-3200 αντιστοιχεί σε υδροξυλομάδα, συνεπώς η συγκεκριμένη τιμή αποδίδεται σε δόνηση τάσης των δεσμών O-H που εμπεριέχονται στη χιτοζάνη. Στο εύρος 3000-2800 cm⁻¹ όπου παρουσιάζεται κορυφή στα 2879 cm⁻¹, αποδίδεται σε δονήσεις ασύμμετρης τάσης των δεσμών C-H και N-H. Στη συνέχεια, ο κυματαριθμός 1649,3 cm⁻¹ αντιστοιχεί σε δόνηση τάσης των δεσμών C=O, ενώ ο κυματαριθμός 1375 cm⁻¹ αποδίδεται σε δόνηση κάμψης του -CH₃. Τέλος, η οξεία κορυφή που παρατηρείται στον κυματαριθμό 1025 cm⁻¹ αποδίδεται σε δόνηση ασύμμετρης τάσης των δεσμών C-O-C που εμπεριέχονται στο μόριο της χιτοζάνης.^[62, 63]



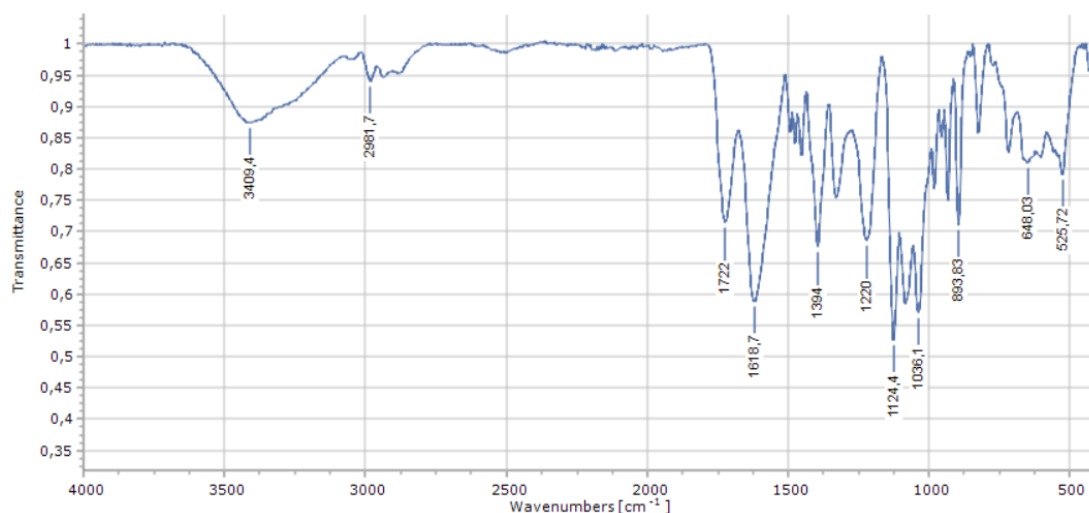
Διάγραμμα 14: Φάσμα FT-IR (ATR) για τη χιτοζάνη 20-100 mPa·s

Στο αντίστοιχο φάσμα για τη χιτοζάνη 20-100 mPa·s φαίνεται ότι παρουσιάζει σχεδόν τις ίδιες κορυφές με αυτές τις χιτοζάνης 5-20 mPa·s. Το συμπέρασμα αυτό είναι λογικό καθώς οι δύο χιτοζάνες δεν διαφέρουν στα δομικά τους χαρακτηριστικά, αλλά διαφέρουν ως προς το μοριακό βάρος. Κατ' επέκταση οι κορυφές αντιστοιχούν στις δονήσεις τάσης και κάμψης που αναλύθηκαν προηγουμένως, με μοναδική διαφορά ότι στη χιτοζάνη 20-100 mPa·s οι κορυφές έχουν υψηλότερη ένταση.



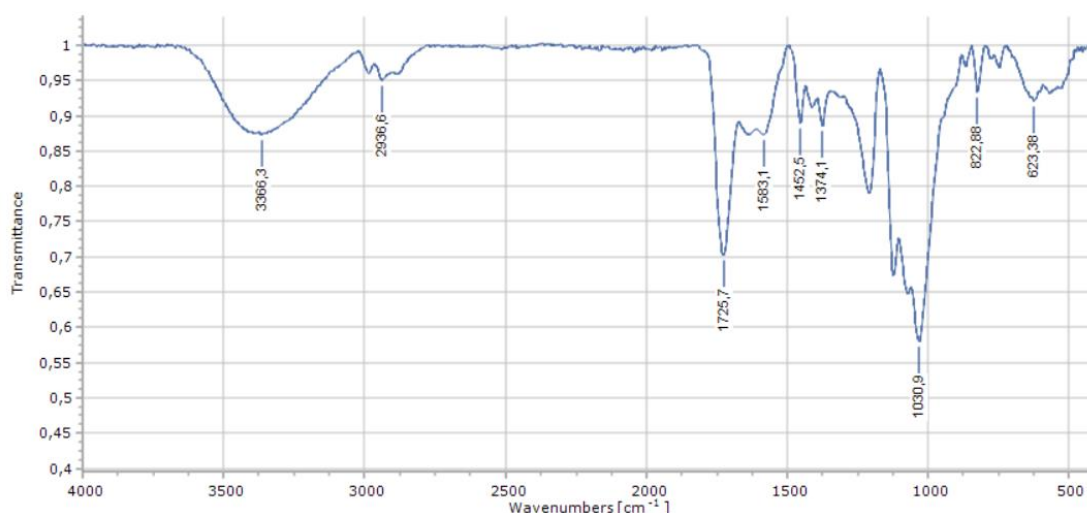
Διάγραμμα 15: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Bet:LA:W* 1% w/v, CS 5-20 mPa·s, 0,2% w/v (V3)

Όσον αφορά το φιλμ V3, το οποίο παρασκευάστηκε με χρήση NaDES Bet:LA:W* και χιτοζάνη 5-20 mPa·s, παρατηρείται μια ευρεία κορυφή σε κυματαριθμό 3393 cm^{-1} η οποία αποδίδεται σε δόνηση συμμετρικής τάσης των δεσμών N-H και σε δόνηση τάσης των δεσμών O-H. Έπειτα, παρατηρείται κορυφή στα 2983 cm^{-1} και αφορά τη δόνηση ασύμμετρης τάσης των δεσμών C-H. Επίσης, η κορυφή στα 1620 cm^{-1} αποδίδεται σε δόνηση τάσης του δεσμού C=O του καρβοξυλίου του γαλακτικού οξέος και σε δόνηση κάμψης του δεσμού N-H της βεταΐνης. Στα 1394 cm^{-1} παρατηρείται κορυφή που οφείλεται σε δόνηση κάμψης του $-\text{CH}_3$ και σε δονήσεις τάσης των δεσμών C-O και C-N, ενώ η δόνηση τάσης των δεσμών C-N συναντάται και στα 1125 και 1036 cm^{-1} . Τέλος, σε κυματαριθμό 894 cm^{-1} διαπιστώνεται κορυφή η οποία αποδίδεται στον δεσμό C-H.^[62, 63]



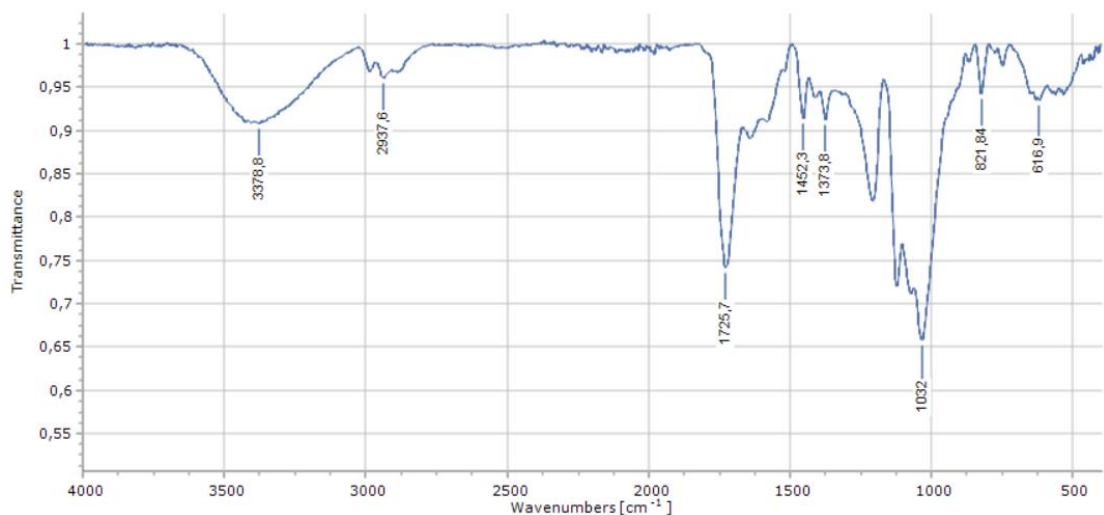
Διάγραμμα 16: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Bet:LA:W* 1% w/v, CS 20-100 mPa·s, 0,2% w/v (V4)

Το φάσμα του φιλμ V4 είναι παρεμφερές με αυτό του φιλμ V3. Η παρατήρηση αυτή είναι λογική καθώς και τα δύο φιλμ έχουν τα ίδια δομικά χαρακτηριστικά και διαφέρουν μόνο ως προς το μοριακό βάρος της χιτοζάνης. Συνεπώς, οι κορυφές του φάσματος αντιστοιχούν στις δονήσεις τάσης και κάμψης που περιγράφηκαν προηγουμένως.



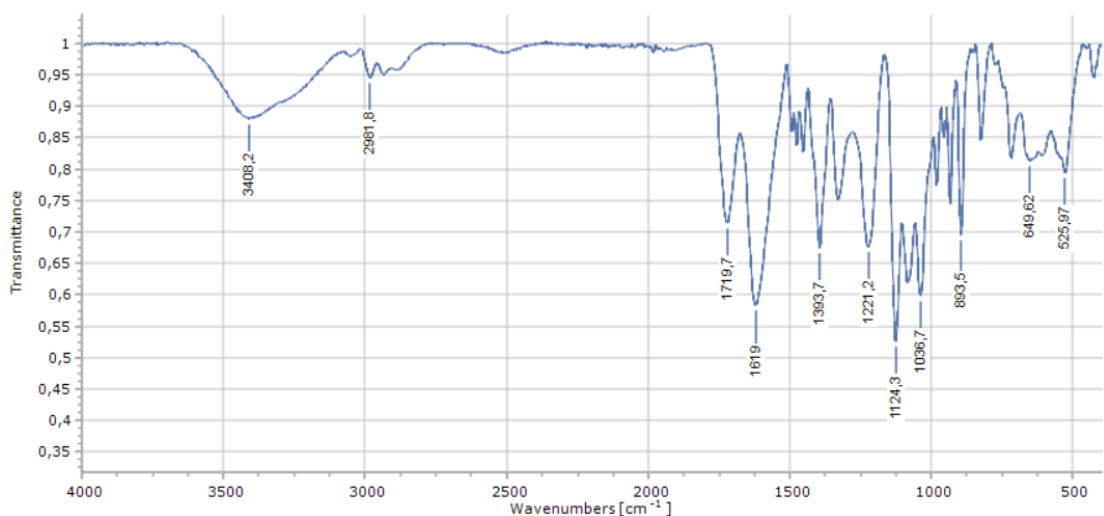
Διάγραμμα 17: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Gluc:LA:W* 1% w/v, CS 5-20 mPa·s, 0,2% w/v (V7)

Από το φάσμα του φιλμ V7, το οποίο παρασκευάστηκε με χρήση NaDES Gluc:LA:W* και χιτοζάνη 5-20 mPa·s, παρατηρείται μια ευρεία κορυφή με κυματαριθμό 3366 cm^{-1} η οποία αποδίδεται σε δόνηση συμμετρικής τάσης των δεσμών N-H της χιτοζάνης και σε δόνηση τάσης των δεσμών O-H των μορίων. Έπειτα, παρατηρείται μικρή κορυφή στα 2937 cm^{-1} , η οποία αντιστοιχεί σε δόνηση ασύμμετρης τάσης των δεσμών C-H των μορίων. Στη συνέχεια, διακρίνεται οξεία κορυφή με κυματαριθμό 1726 cm^{-1} , η οποία αποδίδεται σε δόνηση τάσης του δεσμού C=O του καρβοξυλίου του γαλακτικού οξέος. Επιπρόσθετα, συγκρίνοντας με το φάσμα του Διαγράμματος 14 παρατηρείται η μετατόπιση της κορυφής 1652 cm^{-1} στα 1633 cm^{-1} , δηλαδή η βάση Schiff (δεσμός C=N) η οποία σχηματίζεται κατά την αντίδραση Maillard. Επίσης, ο κυματαριθμός 1374 cm^{-1} αναφέρεται στις ομάδες -CH₃ των μορίων. Τέλος, στα 1031 cm^{-1} παρατηρείται κορυφή με μικρή ένταση, η οποία αντιστοιχεί σε δόνηση ασύμμετρης τάσης των δεσμών C-O-C που εμπεριέχονται στο μόριο της χιτοζάνης.^[62-64]



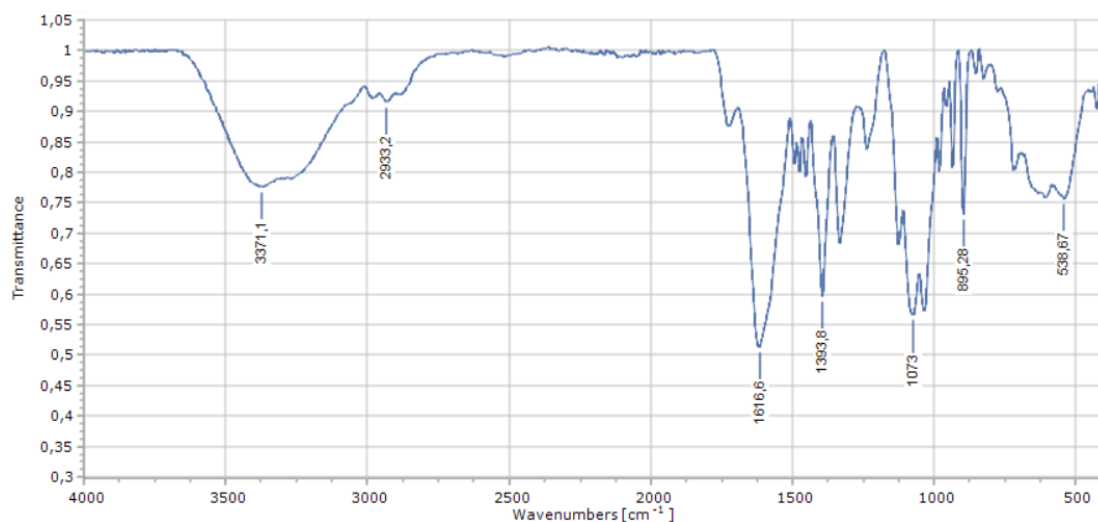
Διάγραμμα 18: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Gluc:LA:W* 1% w/v, CS 20-100 mPa·s, 0,2% w/v (V8)

Έτσι, όπως και στην περίπτωση σύγκρισης των φιλμ V3 και V4, παρατηρείται ότι το φάσμα του φιλμ V8 είναι πολύ κοντινό με αυτό του φιλμ V7. Τα δύο φιλμ έχουν τα ίδια δομικά χαρακτηριστικά και διαφέρουν μόνο ως προς το μοριακό βάρος της χιτοζάνης. Συνεπώς, οι κορυφές του φάσματος αντιστοιχούν στις δονήσεις τάσης και κάμψης που περιγράφηκαν προηγουμένως. Επίσης, παρατηρείται ότι έχουν μικρές διαφορές ως προς την ένταση των κορυφών και το φιλμ V8 έχει υψηλότερη ένταση. Το φαινόμενο αυτό παρατηρήθηκε και στη σύγκριση των δύο χιτοζανών, όπου η χιτοζάνη με το μεγαλύτερο μοριακό βάρος παρουσιάζει υψηλότερη ένταση.



Διάγραμμα 19: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Bet:LA:W* 5% w/v, CS 20-100 mPa·s, 1% w/v (V11)

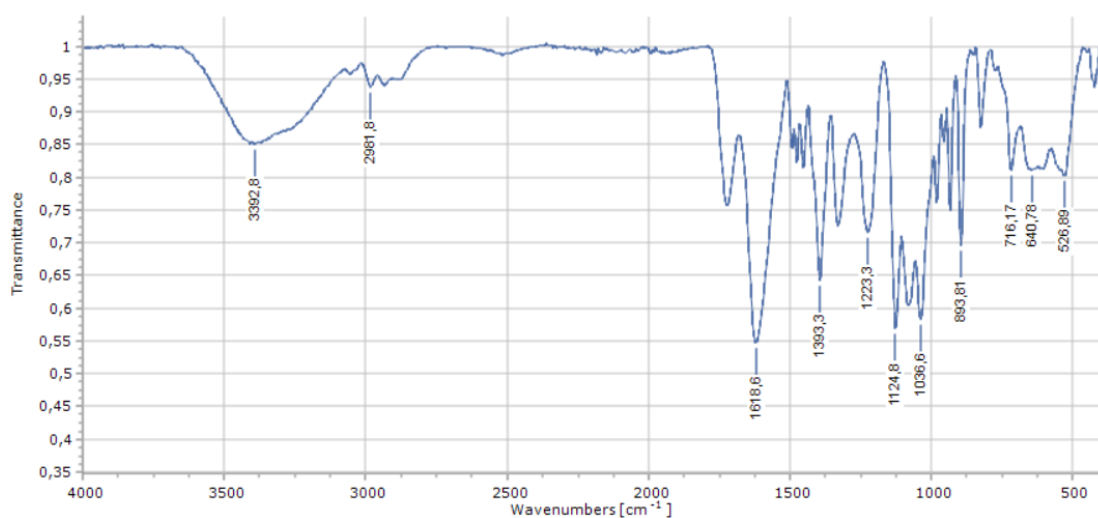
Σχετικά με το φάσμα του φιλμ V11, παρατηρείται ότι ταυτίζεται με αυτό του φιλμ V4. Το συμπέρασμα αυτό είναι λογικό, καθώς τα δύο φιλμ αυτά εμπεριέχουν τα ίδια συστατικά και διαφέρουν μόνο ως προς την περιεκτικότητα σε NaDES και σε χιτοζάνη, που όμως και οι δύο είναι πενταπλάσιες από αυτές του φιλμ V4. Το φάσμα FT-IR δίνει πληροφορίες για τα δομικά χαρακτηριστικά του φιλμ, συνεπώς η αλλαγή στις περιεκτικότητες δεν επηρεάζει το φάσμα. Κατ' επέκταση οι κορυφές που διακρίνονται αντιστοιχούν στις δονήσεις τάσης και κάμψης που αναλύθηκαν στο Διάγραμμα 16.



Διάγραμμα 20: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Bet:LA:W*-Extract 1% w/v, CS 20-100 mPa·s, 0,2% w/v (V12)

Μελετώντας το φάσμα του φιλμ V12, το οποίο σχηματίστηκε με χρήση εκχυλίσματος του περιβλήματος με NaDES Bet:LA:W* και χιτοζάνη 20-100 mPa·s, παρατηρείται ευρεία κορυφή στα 3371 cm⁻¹ και αποδίδεται σε δόνηση συμμετρική τάσης των δεσμών N-H και σε δόνηση τάσης των δεσμών O-H. Ο κυματαριθμός 2933 cm⁻¹ αντιστοιχεί σε δόνηση ασύμμετρης τάσης των δεσμών C-H των μορίων. Έπειτα, ο κυματαριθμός 1617 cm⁻¹ αποδίδεται σε δόνηση τάσης του δεσμού C=O του καρβοξυλίου του γαλακτικού οξέος και σε δόνηση κάμψης του δεσμού N-H της βεταίνης, ενώ ο 1394 cm⁻¹ οφείλεται σε δόνηση κάμψης του -CH₃ και σε δονήσεις τάσης των δεσμών C-O και C-N. Στα 1073 cm⁻¹ εμφανίζεται κορυφή η οποία αντιστοιχεί σε δόνηση τάσης του δεσμού C-O, η κορυφή στα 895 cm⁻¹ αντιστοιχεί σε δόνηση των δεσμών C-H και τέλος, η κορυφή στα 539 cm⁻¹ υποδηλώνει την ύπαρξη δεσμού C=C των αρωματικών δακτυλίων.^[62, 63]

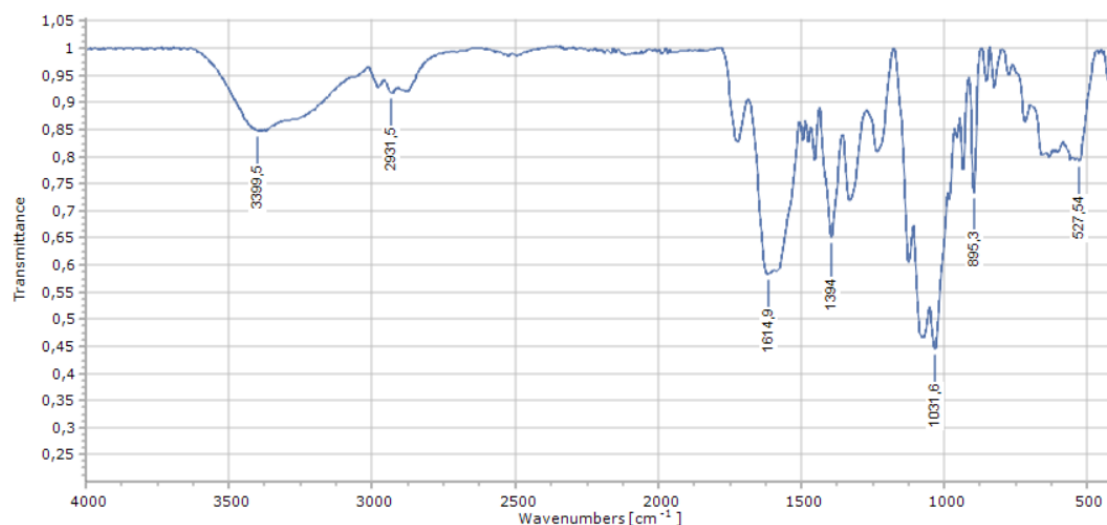
Συγκριτικά με το φιλμ V4, με το οποίο διαφέρουν ως προς την ενσωμάτωση εκχυλίσματος στο φιλμ, παρατηρούνται πολλές ομοιότητες στην καμπύλη του φάσματος. Επίσης, οι κορυφές τους έχουν μικρές αποκλίσεις. Ωστόσο, διαφέρουν ως προς την ένταση κάθε κορυφής.



Διάγραμμα 21: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Bet:LA:W*-Extract 2% w/v, CS 20-100 mPa·s, 0,2% w/v (V13)

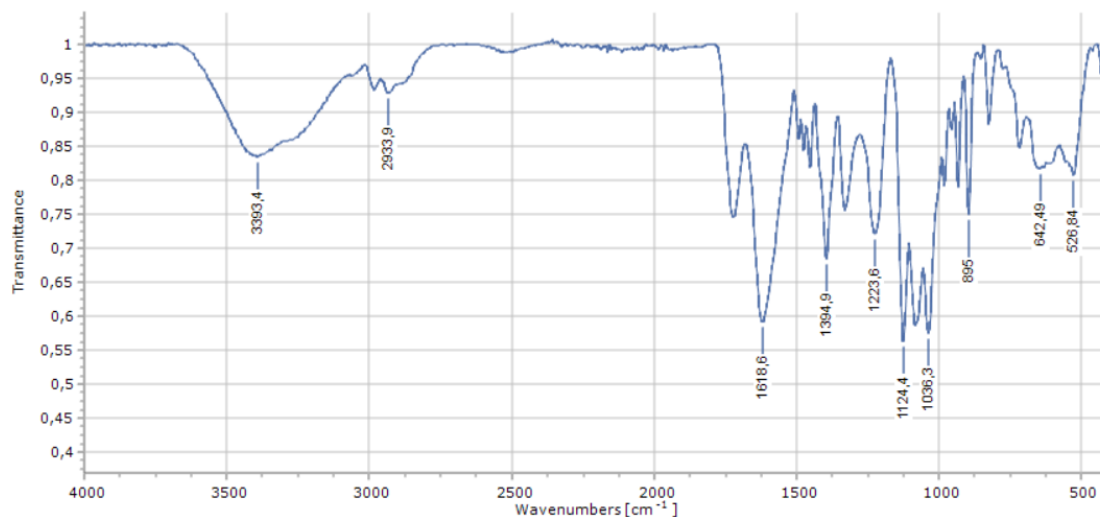
Το φάσμα του φιλμ V13, το οποίο σχηματίστηκε με χρήση εκχυλίσματος του περιβλήματος με NaDES Bet:LA:W* και χιτοζάνη 20-100 mPa·s, παρουσιάζει πολλές

ομοιότητες με αυτό του φιλμ V12. Συγκεκριμένα, τα φάσματα διαφέρουν ελάχιστα ως προς την ένταση των κορυφών και παρατηρούνται μικρές αποκλίσεις μεταξύ των κυματαριθμών. Το αποτέλεσμα αυτό είναι αναμενόμενο, καθώς τα δύο φιλμ έχουν τα ίδια συστατικά αλλά διαφέρουν ως προς την περιεκτικότητα του φιλμ σε εκχυλίσμα.



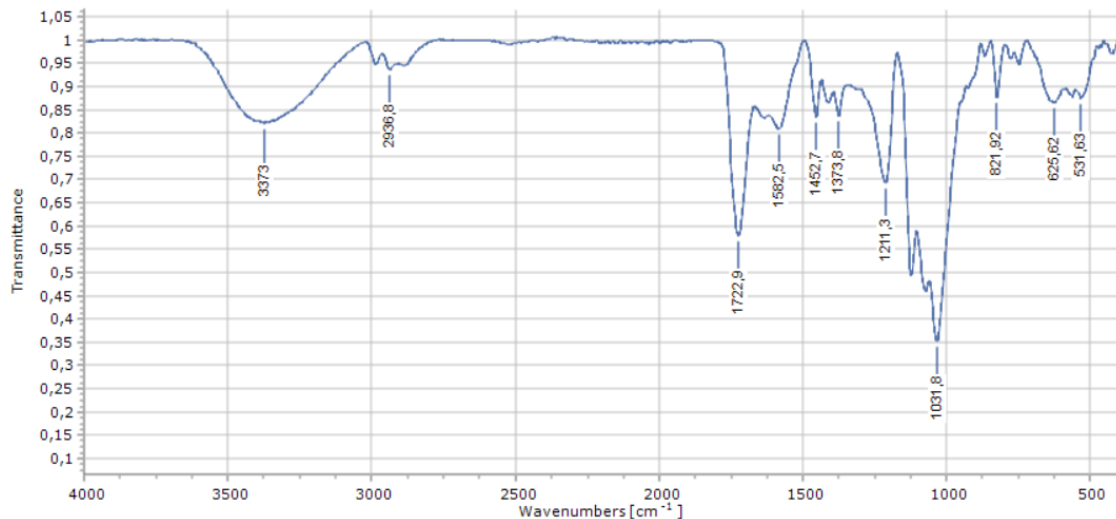
Διάγραμμα 22: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ *Bet:LA:W*-Biomass 1% w/v, CS 20-100 mPa·s, 0,2% w/v (V16)*

Όσον αφορά το φάσμα του φιλμ V16 συγκριτικά με το φιλμ V12, με το οποίο διαφέρουν μόνο ως προς τη σύσταση του εκχυλίσματος, παρατηρούνται πολλές ομοιότητες. Αναλυτικότερα, παρουσιάζουν σχεδόν τις ίδιες κορυφές και έχουν μικρές διαφορές ως προς την ένταση των κορυφών. Η παρατήρηση αυτή οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα δύο εκχυλίσματα (περίβλημα, βιομάζα) έχουν παρεμφερή δομικά χαρακτηριστικά, το οποίο είναι λογικό εφόσον και τα δύο εκχυλίσματα προέρχονται από το ίδιο φυτό, το άγριο τριαντάφυλλο.



Διάγραμμα 23: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ *Bet:LA:W*-Biomass 2% w/v, CS 20-100 mPa·s, 0,2% w/v (V17)*

Σχετικά με το φιλμ V17 παρατηρείται ότι το φάσμα του ταυτίζεται με αυτό του φιλμ V13. Το αποτέλεσμα αυτό είναι αναμενόμενο, καθώς τα δύο φιλμ διαφέρουν ως προς την επιλογή του εκχυλίσματος και προέρχονται από το ίδιο φυτό, το άγριο τριαντάφυλλο. Συνεπώς, οι κορυφές του φάσματος αντιστοιχούν στις δονήσεις τάσης και κάμψης που περιγράφηκαν για το φιλμ V13 και κατ' επέκταση για το φιλμ V12.



Διάγραμμα 24: Φάσμα FT-IR (ATR) για το φιλμ Gluc:LA:W*-Olive 1% w/v, CS 20-100 mPa·s, 0,2% w/v (V18)

Το φάσμα του φιλμ V18, το οποίο σχηματίστηκε με χρήση εκχυλίσματος των φύλλων ελιάς με NaDES Gluc:LA:W* και χιτοζάνη 20-100 mPa·s, παρουσιάζει κορυφές στους ίδιους κυματαριθμούς με το φιλμ V8, άρα κατ' επέκταση και με το φιλμ V7. Συνεπώς, οι κορυφές του φάσματος αντιστοιχούν στις δονήσεις τάσης και κάμψης που προσδιορίστηκαν στο φιλμ V7. Η μόνη διαφορά που παρατηρείται στο φάσμα αφορά την ένταση και συγκεκριμένα το φιλμ V18 παρουσιάζει χαμηλότερη ένταση.

3.5. Μελέτη Βιοαποικοδομησιμότητας

Η μελέτη βιοαποικοδομησιμότητας των φιλμ διεξάχθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο που αναλύθηκε στην ενότητα 2.9. Εξετάστηκαν τα φιλμ V16 και V17, δηλαδή τα φιλμ που παρασκευάστηκαν με χρήση Bet:LA:W* και εκχυλίσματος από το υπόλειμμα της επεξεργασίας του καρπού προκειμένου να παραληφθεί το αιθέριο έλαιο (βιομάζα) σε δύο διαφορετικές περιεκτικότητες.

Τα φιλμ κόβονται σε δύο ημικύκλια και ζυγίζονται πριν τοποθετηθούν στο χώμα. Έπειτα, αφήνονται σε βάθος 6 cm από την επιφάνεια του χώματος για 10 d λαμβάνοντας μέτρηση κάθε 2 d. Ωστόσο, παρατηρείται ότι το φιλμ με την μικρότερη περιεκτικότητα σε εκχύλισμα, δηλαδή το V16, είχε βιοαποικοδομηθεί πλήρως στις 2 d. Αντίθετα, στην περίπτωση του φιλμ V17 εντοπίστηκε ένα μικρό κομμάτι στις 2 d, συνεπώς δεν είχε βιοαποικοδομηθεί πλήρως. Έτσι, αφού το φιλμ τοποθετήθηκε για ξήρανση υπό κενό για 4 d, ζυγίζεται εκ νέου και υπολογίζεται το ποσοστό βιοαποικοδόμησης ως εξής:

$$\% \text{ Βιοαποικοδόμησης} = \frac{248,7 - 26,6}{248,7} \cdot 100\% = 89,30\%$$

Παρατηρείται, λοιπόν, ότι ο ρυθμός βιοαποικοδόμησής τους είναι πολύ μεγάλος εξαρχής. Συγκεκριμένα, το φιλμ V16 βιοαποικοδομείται πλήρως σε χρονικό διάστημα μικρότερο από 2 d, ενώ το φιλμ V17 βιοαποικοδομείται πλήρως σε χρονικό διάστημα λίγο μεγαλύτερο των 2 d. Συνεπώς, προκειμένου να προσδιοριστεί με μεγαλύτερη ακρίβεια η βιοαποικοδομησιμότητα των συγκεκριμένων φιλμ είναι σημαντικό να λαμβάνονται μετρήσεις σε συντομότερα χρονικά διαστήματα ενός 48ώρου.

Κεφάλαιο 4

Συμπεράσματα

4. Συμπεράσματα

Αναλυτικότερα, παρασκευάστηκαν τρεις NaDES, ο Bet:LA:W* (Βεταΐνη:D,L-Γαλακτικό Οξύ), ο Gly:LA:W* (Γλυκίνη:D,L-Γαλακτικό Οξύ) και ο Gluc:LA:W* (Γλυκόζη:D,L-Γαλακτικό Οξύ) και μελετήθηκαν η πυκνότητα, η πολικότητα και το pH τους. Ο NaDES Bet:LA:W* χρησιμοποιήθηκε στην εκχύλιση του περιβλήματος του καρπού του άγριου τριαντάφυλλου και της βιομάζας, ενώ ο NaDES Gluc:LA:W* χρησιμοποιήθηκε στην εκχύλιση των φύλλων ελιάς και στα εκχυλίσματα προσδιορίστηκε το περιεχόμενο σε φαινολικές ενώσεις και σε φλαβονοειδή. Έπειτα, δοκιμάστηκε η παρασκευή φιλμ χιτοζάνης χρησιμοποιώντας όλους τους διαλύτες αλλά και ενσωματώνοντας τα εκχυλίσματα. Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν δύο χιτοζάνες διαφορετικού μοριακού βάρους, μία με 5-20 mPa · s και μία με 20-100 mPa · s. Τελικά, προέκυψαν 18 διαφορετικά φιλμ, όπου κάποια παρασκευάστηκαν πολλές φορές, στα οποία προσδιορίστηκε η μάζα, το πάχος, η διαπερατότητα υδρατμών, η συμπίεση, η θραύση, η διαλυτότητα, η αντιοξειδωτική δράση και τα δομικά χαρακτηριστικά. Από την παρούσα μελέτη, λοιπόν, εξάγονται τα ακόλουθα συμπεράσματα.

- Χαρακτηρισμός NaDES

Οι NaDES που παρασκευάστηκαν παρουσιάζουν πολύ χαμηλές τιμές pH και συγκεκριμένα οι Bet:LA:W*, Gly:LA:W* και Gluc:LA:W* λαμβάνουν τιμές ίσες με 3,24, 2,17 και 0,67 αντίστοιχα, οι οποίες οφείλονται στο D,L-Γαλακτικό Οξύ που χρησιμοποιείται ως δότης δεσμού υδρογόνου. Επίσης, κατά τη μέτρηση του pH σε πολύ μεγάλες αραιώσεις των NaDES παρατηρείται ότι χάνουν τις ιδιότητές τους και αποτελούν φυσικά μίγματα, καθώς μειώνονται οι δεσμοί υδρογόνου.

Σχετικά με την πυκνότητα των NaDES, οι Bet:LA:W*, Gly:LA:W* και Gluc:LA:W* λαμβάνουν τιμές ίσες με 1,15 g/mol, 1,06 g/mol και 1,28 g/mol αντίστοιχα. Άρα, πιο πυκνός NaDES είναι ο Gluc:LA:W*, έπειτα ο Bet:LA:W* και τέλος, ο Gly:LA:W*.

Για τον χαρακτηρισμό των NaDES προσδιορίστηκε και η πολικότητα, όπου του Bet:LA:W* προέκυψε ίση με 49,69 kcal/mol, του Gly:LA:W* ίση με 48,38 kcal/mol και του Gluc:LA:W* ίση με 47,81 kcal/mol. Συγκριτικά με την πολικότητα του νερού, ο NaDES Bet:LA:W* είναι λιγότερο πολικός, ο NaDES Gly:LA:W* έχει πολύ κοντινή τιμή πολικότητας και ο Gluc:LA:W* είναι περισσότερο πολικός.

- Χαρακτηρισμός Εκχυλισμάτων

Πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσεις τριών διαφορετικών μερών, του περιβλήματος του καρπού, της βιομάζας και των φύλλων ελιάς. Προσδιορίστηκε το ολικό περιεχόμενό τους σε φαινολικές ενώσεις (TPC) και προέκυψε ίσο με 33,17, 12,29 και 12,61 mg γαλλικού οξέος/g WR αντίστοιχα. Η μεγάλη διαφορά αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι η βιομάζα είναι υπόλειμμα που έχει ήδη επεξεργαστεί και έχουν παραληφθεί οι βιοενεργές ενώσεις.

Όσον αφορά το ολικό περιεχόμενο σε φλαβονοειδή (TFC), τα εκχυλίσματα περιβλήματος και βιομάζας λαμβάνουν κοντινές τιμές και ίσες με 11,27 και 10,84 mg κατεχίνης/g WR. Αντίθετα, στο εκχύλισμα των φύλλων ελιάς η τιμή τείνει στο μηδέν και κατ' επέκταση συμπεραίνεται ότι δεν περιέχονται φλαβονοειδή στο συγκεκριμένο εκχύλισμα.

- Χαρακτηρισμός Φιλμ

Από τη μέτρηση της μάζας των φιλμ συμπεραίνεται ότι η χρήση χιτοζάνης μεγαλύτερου μοριακού βάρους οδηγεί σε φιλμ μεγαλύτερης μάζας έναντι της χιτοζάνης μικρότερου μοριακού βάρους. Επίσης, η αύξηση της περιεκτικότητας του φιλμ σε χιτοζάνη οδηγεί σε

αύξηση της μάζας του φιλμ. Το ίδιο συμπέρασμα προκύπτει και με την αύξηση της περιεκτικότητας του φιλμ σε εκχύλισμα, δηλαδή αυξάνεται η μάζα του. Τέλος, συμπεραίνεται ότι τα φιλμ που παρασκευάστηκαν με χρήση του NaDES Bet:LA:W* έχουν μεγαλύτερη μάζα από αυτά με χρήση του NaDES Gluc:LA:W*.

Παρόμοια αποτελέσματα προκύπτουν και στη μέτρηση του πάχους των φιλμ. Αναλυτικότερα, η επιλογή χιτοζάνης μεγαλύτερου μοριακού βάρους οδηγεί στην παρασκευή φιλμ με μεγαλύτερο πάχος. Η επιλογή του NaDES επιδρά στο πάχος και συγκεκριμένα μεγαλύτερο πάχος παρουσιάζουν τα φιλμ με NaDES Gly:LA:W*, έπειτα τα φιλμ με NaDES Bet:LA:W* και τέλος τα φιλμ με NaDES Gluc:LA. Επίσης, η αύξηση της περιεκτικότητας του φιλμ σε NaDES ή σε εκχύλισμα συνεπάγεται αύξηση του πάχους των φιλμ.

Αναφορικά με τον ρυθμό μεταφοράς υδρατμών των φιλμ (WVTR) παρατηρείται ότι το φιλμ που παρασκευάστηκε με χρήση οξικού οξέος και το φιλμ με χρήση NaDES Bet:LA:W* και χιτοζάνη 20-100 mPa·s, παρουσιάζουν μικρότερη τιμή από αυτή του κανονικού δέρματος. Αντίθετα, τα φιλμ που παρασκευάστηκαν με χρήση εκχυλίσματος και το φιλμ με χρήση NaDES Bet:LA:W* και χιτοζάνη 5-20 mPa·s λαμβάνουν πολύ κοντινές τιμές σε αυτή του τραυματισμένου δέρματος, συνεπώς είναι κατάλληλα για επιθέματα πληγών. Σχετικά με την διαπερατότητα υδρατμών των φιλμ (WVP) συμπεραίνεται ότι μεγαλύτερη παρουσιάζουν τα φιλμ που σχηματίστηκαν με χρήση της χιτοζάνης 5-20 mPa·s και τα φιλμ που έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε εκχύλισμα.

Κατά την ανάλυση υφής των φιλμ και συγκεκριμένα κατά τη δοκιμή συμπίεσης λαμβάνονται συμπεράσματα για την προσκολλησιμότητα, τη συνεκτικότητα, την ελαστικότητα και την ανθεκτικότητα των φιλμ. Αναλυτικότερα, η προσκολλησιμότητα των φιλμ σε φθίνουσα σειρά είναι V3>V12>V16>V17>V13>V11>V4. Η συνεκτικότητα των φιλμ σε φθίνουσα σειρά είναι V12>V11>V4>V3>V17>V16>V13. Η ελαστικότητα των φιλμ σε φθίνουσα σειρά V13>V12>V4>V11>V17>V3>V16. Τέλος, η ανθεκτικότητα των φιλμ σε φθίνουσα σειρά V3>V4>V13=V17>V11>V16>V12. Κατά τη μελέτη της θραύσης λαμβάνονται αποτελέσματα για τη σκληρότητα και την ευθραυστότητα των φιλμ. Συγκεκριμένα, η σκληρότητα των φιλμ σε φθίνουσα σειρά προκύπτει ως V11>V12>V16>V13>V4>V17>V3, ενώ η ευθραυστότητα προκύπτει ως V3>V16>V17>V4>V11>V13>V12.

Μελετώντας τη διαλυτότητα των φιλμ στο νερό συμπεραίνεται ότι τα φιλμ που παρασκευάστηκαν με χρήση του NaDES Bet:LA:W* είναι πλήρως υδατοδιαλυτά ανεξαρτήτως περιεκτικότητας NaDES και χιτοζάνης και μοριακού βάρους χιτοζάνης. Για τα υπόλοιπα φιλμ η διαλυτότητα σε φθίνουσα σειρά είναι V17>V13>V16>V12>V18>V8, δηλαδή τα φιλμ που σχηματίστηκαν με χρήση του NaDES Gluc:LA:W* παρουσιάζουν μικρή διαλυτότητα έναντι των φιλμ με NaDES Bet:LA:W*. Επίσης, παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται η περιεκτικότητα του φιλμ σε εκχύλισμα αυξάνεται και η διαλυτότητά του στο νερό. Τέλος, τα φιλμ με το εκχύλισμα του περιβλήματος έχουν μικρότερη διαλυτότητα από τα φιλμ με το εκχύλισμα της βιομάζας.

Όσον αφορά την αντιοξειδωτική δράση των φιλμ συμπεραίνεται ότι όλα παρουσιάζουν υψηλή τιμή. Η αντιοξειδωτική δράση σε φθίνουσα σειρά είναι V17>V8>V16>V18>V13>V12>V7. Παρατηρείται, λοιπόν, ότι τα φιλμ που παρασκευάστηκαν με χρήση εκχυλίσματος βιομάζας και NaDES Gluc:LA:W* παρουσιάζουν πολύ υψηλά ποσοστά παρεμπόδισης της λιπιδικής υπεροξειδωσης. Επίσης, συμπεραίνεται ότι η χιτοζάνη 20-100 mPa·s προσδίδει καλύτερη αντιοξειδωτική δράση έναντι της χιτοζάνης 5-20 mPa·s. Τέλος, ο διπλασιασμός της περιεκτικότητας του

φιλμ σε εκχύλισμα οδηγεί σε αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης των φιλμ κατά 7-10%, ενώ το εκχύλισμα του περιβλήματος λαμβάνει ποσοστά που διαφέρουν κατά 15-20% από τα ποσοστά του εκχυλίσματος της βιομάζας.

Τα φάσματα FT-IR παρουσίασαν πολλές ομοιότητες σε όλα τα φιλμ, το οποίο είναι λογικό εφόσον σε όλα εμπεριέχεται χιτοζάνη. Η χιτοζάνη μεγαλύτερου μοριακού βάρους παρουσιάζει υψηλότερη ένταση στο φάσμα. Επίσης, συμπεραίνεται ότι τα φάσματα των V11 και V4 ταυτίζονται καθώς διαφέρουν μόνο ως προς την περιεκτικότητα σε NaDES και σε χιτοζάνη, αλλά τα δομικά τους χαρακτηριστικά είναι ίδια. Συγκρίνοντας τα φάσματα των φιλμ με εκχύλισμα έναντι των φιλμ χωρίς εκχύλισμα, παρατηρούνται εντονότερες κορυφές στο εύρος κυματαριθμών $716-527\text{ cm}^{-1}$, οι οποίες αποδίδονται στην ύπαρξη δεσμών C=C των αρωματικών δακτυλίων των φαινολικών ενώσεων.

Τέλος, επιδιώκεται η μελέτη της βιοαποικοδομησιμότητας των φιλμ με εκχύλισμα βιομάζας σε χρονικό διάστημα 10 d. Ωστόσο, παρατηρήθηκε ότι στις 2 d το φιλμ με την μικρότερη περιεκτικότητα σε εκχύλισμα είχε αποικοδομηθεί πλήρως, ενώ το φιλμ με τη διπλάσια ποσότητα εκχυλίσματος αποικοδομήθηκε κατά 89,30%.

Κεφάλαιο 5

Προτάσεις Μελλοντικής Έρευνας

5. Προτάσεις Μελλοντικής Έρευνας

Η παρούσα διπλωματική εργασία στηρίχτηκε στη σύνθεση πράσινων διαλυτών και στη παραγωγή εκχυλισμάτων προστιθέμενης αξίας για την ανάπτυξη βιώσιμης διεργασίας παρασκευής νέων πολυμερικών μεμβρανών. Έτσι, μελετήθηκαν και χαρακτηρίστηκαν οι φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες για την εφαρμογή τους στη παρασκευή φιλμ καθιστώντας τη διεργασία πράσινη. Επίσης, παράχθηκαν εκχυλίσματα από διαφορετικά μέρη του καρπού του άγριου τριαντάφυλλου και από φύλλα ελιάς. Ένα από τα εκχυλίσματα αποτελεί το υπόλειμμα της επεξεργασίας του καρπού του άγριου τριαντάφυλλου για την παραλαβή του αιθέριου ελαίου. Κατ' επέκταση η αξιοποίησή του μέσω της ενσωμάτωσής του στα φιλμ αποτελεί σημαντικό βήμα για την κυκλική οικονομία.

Στο τομέα των φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών είναι σημαντικό να παρασκευαστούν και να μελετηθούν NaDES που να προέρχονται από διαφορετικά συστατικά από αυτά που έχουν μελετηθεί μέχρι τώρα. Ωστόσο, ο NaDES Βεταΐνη:D,L-Γαλακτικό Οξύ προσδίδει πολύ καλά αποτελέσματα, συνεπώς η εκτενής μελέτη του είναι απαραίτητη. Επίσης, ο NaDES Γλυκίνη:D,L-Γαλακτικό Οξύ μπορεί να μην είναι κατάλληλος για τη παρασκευή φιλμ, όμως θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε άλλες διεργασίες. Όσον αφορά τον NaDES Γλυκόζη:D,L-Γαλακτικό Οξύ, για πρώτη φορά παρατηρήθηκε να συμβαίνει η αντίδραση Maillard στα φιλμ. Από την μέχρι τώρα μελέτη του φέρνει πολύ καλά αποτελέσματα, συνεπώς κρίνεται αναγκαία η περαιτέρω έρευνα σε αυτόν. Τέλος, για τον καλύτερο χαρακτηρισμό των NaDES σημαντικά συμπεράσματα θα λαμβάνονταν και από την θερμοσταθμική ανάλυση, τη διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης, τη φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού καθώς και εικόνες SEM.

Όσον αφορά τα εκχυλίσματα, σημαντική αποτελεί η διεξαγωγή των εκχυλίσεων σε πολλές διαφορετικές συνθήκες, το οποίο δεν μελετήθηκε στη συγκεκριμένη διπλωματική. Επίσης, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν πολλοί και διαφορετικοί NaDES για την εκχύλιση της ίδιας πρώτης ύλης, ώστε να προσδιοριστεί ο NaDES ο οποίος προσδίδει στο εκχύλισμα το μέγιστο περιεχόμενο σε φαινολικές ενώσεις και φλαβονοειδή. Αντίθετα και εφόσον έχει προσδιοριστεί ο NaDES που φέρνει τα βέλτιστα αποτελέσματα, θα μπορούσαν να εκχυλιστούν όλα τα διαφορετικά μέρη του άγριου τριαντάφυλλου. Επιπροσθέτως, εκτός από την εκχύλιση με υπερήχους πρέπει να εξεταστεί και η εκχύλιση με μικροκύματα, ως τεχνική υψηλής ενέργειας που ενισχύει τον πράσινο χαρακτήρα της εκχύλισης. Τέλος, για τον χαρακτηρισμό των εκχυλισμάτων είναι σημαντικό να εφαρμοστούν και άλλες μέθοδοι, εκτός από τις TPC και TFC, όπως η χρωματογραφία για τον προσδιορισμό όλων των ενώσεων που έχουν εκχυλιστεί.

Σχετικά με τη παρασκευή των φιλμ, παρατηρήθηκε ότι η χιτοζάνη διαλύεται ευκολότερα σε αρκετά όξινα pH, συνεπώς η χρήση NaDES με όξινο pH ενισχύει της διαδικασία παραγωγής τους. Η διάλυση της χιτοζάνης στα υδατικά διαλύματα των NaDES μπορεί να υποβοηθηθεί και με άλλες τεχνικές υψηλής ενέργειας, εκτός από τους υπερήχους. Εξίσου σημαντικό αποτελεί η αναζήτηση μεθόδου για την απομάκρυνση του νερού και κατ' επέκταση τον σχηματισμό φιλμ η οποία να απαιτεί λιγότερο χρόνο και ενέργεια. Επίσης, μπορεί να δοκιμαστεί και η χιτοζάνη με πολύ χαμηλό μοριακό βάρος, προκειμένου να προσδιοριστεί αυτή με τα βέλτιστα αποτελέσματα. Όσον αφορά την εφαρμογή των NaDES στα φιλμ, είναι σημαντικό να μελετηθεί ακόμη περισσότερο η επίδραση της περιεκτικότητας σε NaDES στη πλαστικοποίηση των φιλμ, καθώς και η δοκιμή ακόμη περισσότερων NaDES. Τέλος, για μεγαλύτερη αξιοπιστία και επαναληψιμότητα είναι σημαντικό κάθε φιλμ να παρασκευάζεται αρκετές φορές.

Ακριβώς επειδή τα παραγόμενα φιλμ παρουσίασαν καλό αλλά σχετικά χαμηλό ρυθμό μεταφοράς υδρατμών, κρίνεται απαραίτητος ο προσδιορισμός των καταλληλότερων συνθηκών παρασκευής φιλμ έτσι ώστε να έχουν τις απαιτούμενες προδιαγραφές για τη χρήση τους ως επιθέματα πληγών. Εξίσου σημαντικός αποτελεί ο μορφολογικός χαρακτηρισμός των φιλμ μέσω της μεθόδου SEM. Επίσης, είναι σημαντικό να γίνει εκτενής μελέτη ως προς τις πιθανές εφαρμογές που μπορούν να έχουν τα φιλμ, όπως στη στην βιομηχανία καλλυντικών, φαρμάκων και τροφίμων. Επίσης, η περαιτέρω έρευνα στα φιλμ στα οποία πραγματοποιήθηκε η αντίδραση Maillard είναι σημαντική καθώς προσδίδει ενισχυμένες αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Σε πολλά τρόφιμα εφαρμόζεται για τη βελτίωση της λειτουργικότητας των πρωτεϊνών, συνεπώς η εφαρμογή της σε πρωτεϊνικά φιλμ ενδεχομένως να βελτιστοποιήσει τις ιδιότητές τους. Η παρούσα εργασία έδειξε ότι η αξιοποίηση της βιομάζας είναι εφικτή και μάλιστα φέρνει καλά αποτελέσματα. Συνεπώς, η περαιτέρω μελέτη της αξιοποίησης των αποβλήτων είναι καίρια για την κυκλική οικονομία.

Βιβλιογραφία

- [1] Anastas, P.; Eghbali, N. Green Chemistry: Principles and Practice. *Chem Soc Rev*, **2010**, 39 (1), 301–312. <https://doi.org/10.1039/b918763b>.
- [2] Erythropel, H. C.; Zimmerman, J. B.; De Winter, T. M.; Petitjean, L.; Melnikov, F.; Lam, C. H.; Lounsbury, A. W.; Mellor, K. E.; Janković, N. Z.; Tu, Q.; et al. The Green ChemisTREE: 20 Years after Taking Root with the 12 Principles. *Green Chemistry*. Royal Society of Chemistry 2018, pp 1929–1961. <https://doi.org/10.1039/c8gc00482j>.
- [3] Fantoni, T.; Tolomelli, A.; Cabri, W. A Translation of the Twelve Principles of Green Chemistry to Guide the Development of Cross-Coupling Reactions. *Catal Today*, **2022**, 397–399, 265–271. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2021.09.022>.
- [4] Kalhor, P.; Ghandi, K. Deep Eutectic Solvents for Pretreatment, Extraction, and Catalysis of Biomass and Food Waste. *Molecules*. MDPI AG November 6, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24224012>.
- [5] Tang, B.; Zhang, H.; Row, K. H. Application of Deep Eutectic Solvents in the Extraction and Separation of Target Compounds from Various Samples. *Journal of Separation Science*. Wiley-VCH Verlag March 1, 2015, pp 1053–1064. <https://doi.org/10.1002/jssc.201401347>.
- [6] Wei, Z.; Qi, X.; Li, T.; Luo, M.; Wang, W.; Zu, Y.; Fu, Y. Application of Natural Deep Eutectic Solvents for Extraction and Determination of Phenolics in *Cajanus cajan* Leaves by Ultra Performance Liquid Chromatography. *Sep Purif Technol*, **2015**, 149, 237–244. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.05.015>.
- [7] Abdelquader, M. M.; Li, S.; Andrews, G. P.; Jones, D. S. Therapeutic Deep Eutectic Solvents: A Comprehensive Review of Their Thermodynamics, Microstructure and Drug Delivery Applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **2023**. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2023.03.002>.
- [8] Sulthan, R.; Reghunadhan, A.; Sambhudevan, S. A New Era of Chitin Synthesis and Dissolution Using Deep Eutectic Solvents- Comparison with Ionic Liquids. *Journal of Molecular Liquids*. Elsevier B.V. June 15, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.121794>.
- [9] Smith, E. L.; Abbott, A. P.; Ryder, K. S. Deep Eutectic Solvents (DESs) and Their Applications. *Chemical Reviews*. American Chemical Society November 12, 2014, pp 11060–11082. <https://doi.org/10.1021/cr300162p>.
- [10] Tomé, L. I. N.; Baião, V.; da Silva, W.; Brett, C. M. A. Deep Eutectic Solvents for the Production and Application of New Materials. *Applied Materials Today*. Elsevier Ltd March 1, 2018, pp 30–50. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2017.11.005>.
- [11] Choi, Y. H.; van Spronsen, J.; Dai, Y.; Verberne, M.; Hollmann, F.; Arends, I. W. C. E.; Witkamp, G. J.; Verpoorte, R. Are Natural Deep Eutectic Solvents the Missing Link in Understanding Cellular Metabolism and Physiology? *Plant Physiol*, **2011**, 156 (4), 1701–1705. <https://doi.org/10.1104/pp.111.178426>.
- [12] Koutsoukos, S.; Tsiaka, T.; Tzani, A.; Zoumpoulakis, P.; Detsi, A. Choline Chloride and Tartaric Acid, a Natural Deep Eutectic Solvent for the Efficient Extraction of

- Phenolic and Carotenoid Compounds. *J Clean Prod*, **2019**, 241. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118384>.
- [13] Hammond, O. S.; Bowron, D. T.; Jackson, A. J.; Arnold, T.; Sanchez-Fernandez, A.; Tsapatsaris, N.; Garcia Sakai, V.; Edler, K. J. Resilience of Malic Acid Natural Deep Eutectic Solvent Nanostructure to Solidification and Hydration. *Journal of Physical Chemistry B*, **2017**, 121 (31), 7473–7483. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b05454>.
- [14] Yang, Z. *Application of Ionic Liquids in Biotechnology*; 2018.
- [15] Mišan, A.; Nađpal, J.; Stupar, A.; Pojić, M.; Mandić, A.; Verpoorte, R.; Choi, Y. H. The Perspectives of Natural Deep Eutectic Solvents in Agri-Food Sector. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Taylor and Francis Inc. August 21, 2020, pp 2564–2592. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1650717>.
- [16] Dai, Y.; Verpoorte, R.; Choi, Y. H. Natural Deep Eutectic Solvents Providing Enhanced Stability of Natural Colorants from Safflower (*Carthamus Tinctorius*). *Food Chem*, **2014**, 159, 116–121. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.155>.
- [17] El Achkar, T.; Greige-Gerges, H.; Fourmentin, S. Basics and Properties of Deep Eutectic Solvents: A Review. *Environmental Chemistry Letters*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH August 1, 2021, pp 3397–3408. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01225-8>.
- [18] Dai, Y.; van Spronsen, J.; Witkamp, G. J.; Verpoorte, R.; Choi, Y. H. Natural Deep Eutectic Solvents as New Potential Media for Green Technology. *Anal Chim Acta*, **2013**, 766, 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.12.019>.
- [19] Farooq, M. Q.; Abbasi, N. M.; Anderson, J. L. Deep Eutectic Solvents in Separations: Methods of Preparation, Polarity, and Applications in Extractions and Capillary Electrochromatography. *J Chromatogr A*, **2020**, 1633. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461613>.
- [20] Nam, M. W.; Zhao, J.; Lee, M. S.; Jeong, J. H.; Lee, J. Enhanced Extraction of Bioactive Natural Products Using Tailor-Made Deep Eutectic Solvents: Application to Flavonoid Extraction from Flos Sophorae. *Green Chemistry*, **2015**, 17 (3), 1718–1727. <https://doi.org/10.1039/c4gc01556h>.
- [21] Škulcová, A.; Jablonský, M. *PROPERTIES AND THERMAL BEHAVIOR OF DEEP EUTECTIC SOLVENTS BASED LACTIC ACID*.
- [22] Santana, A. P. R.; Mora-Vargas, J. A.; Guimarães, T. G. S.; Amaral, C. D. B.; Oliveira, A.; Gonzalez, M. H. Sustainable Synthesis of Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) by Different Methods. *J Mol Liq*, **2019**, 293. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.111452>.
- [23] Fanali, C.; Gallo, V.; Posta, S. Della; Dugo, L.; Mazzeo, L.; Cocchi, M.; Piemonte, V.; De Gara, L. Choline Chloride–Lactic Acid–Based NADES as an Extraction Medium in a Response Surface Methodology-Optimized Method for the Extraction of Phenolic Compounds from Hazelnut Skin. *Molecules*, **2021**, 26 (9). <https://doi.org/10.3390/molecules26092652>.

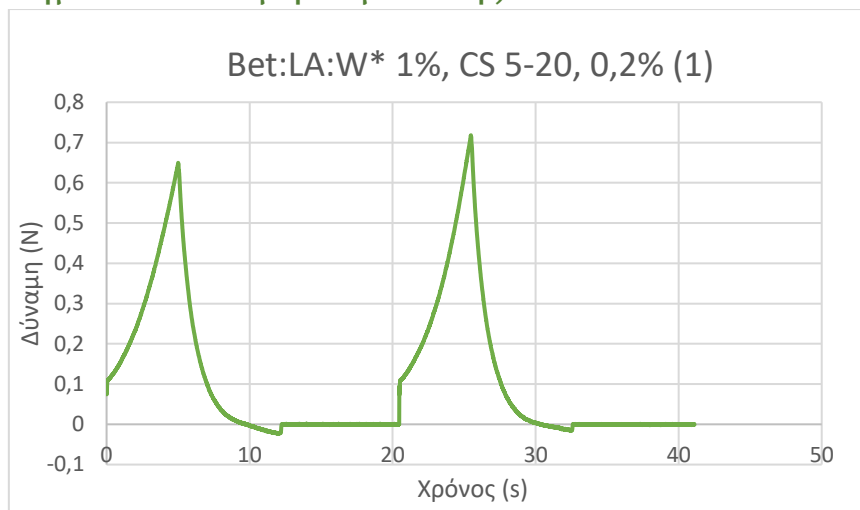
- [24] Ijardar, S. P.; Singh, V.; Gardas, R. L. Revisiting the Physicochemical Properties and Applications of Deep Eutectic Solvents. *Molecules*. MDPI February 1, 2022. <https://doi.org/10.3390/molecules27041368>.
- [25] Mitar, A.; Panić, M.; Prlić Kardum, J.; Halambek, J.; Sander, A.; Zagajski Kučan, K.; Radojčić Redovniković, I.; Radošević, K. Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antioxidative Activity of Natural Deep Eutectic Solvents Containing Organic Acid. *Chem Biochem Eng Q*, **2019**, *33* (1), 1–18. <https://doi.org/10.15255/CABEQ.2018.1454>.
- [26] Mulia, K.; Adam, D.; Zahrina, I.; Krisanti, E. A. Green Extraction of Palmitic Acid from Palm Oil Using Betaine-Based Natural Deep Eutectic Solvents. *International Journal of Technology*, **2018**, *9* (2), 335–344. <https://doi.org/10.14716/ijtech.v9i2.1008>.
- [27] Pontillo, A. R. N.; Koutsoukos, S.; Welton, T.; Detsi, A. Investigation of the Influence of Natural Deep Eutectic Solvents (NaDES) in the Properties of Chitosan-Stabilised Films. *Mater Adv*, **2021**, *2* (12), 3954–3964. <https://doi.org/10.1039/d0ma01008a>.
- [28] Dai, Y.; Witkamp, G. J.; Verpoorte, R.; Choi, Y. H. Natural Deep Eutectic Solvents as a New Extraction Media for Phenolic Metabolites in *Carthamus Tinctorius* L. *Anal Chem*, **2013**, *85* (13), 6272–6278. <https://doi.org/10.1021/ac400432p>.
- [29] Stuart AS Craig. Betaine in Human Nutrition. *Am J Clin Nutr*, **2004**.
- [30] Zhang, W.; Shen, J.; Gao, P.; Jiang, Q.; Xia, W. Sustainable Chitosan Films Containing a Betaine-Based Deep Eutectic Solvent and Lignin: Physicochemical, Antioxidant, and Antimicrobial Properties. *Food Hydrocoll*, **2022**, *129*. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107656>.
- [31] Alves, A.; Bassot, A.; Bulteau, A. L.; Pirola, L.; Morio, B. Glycine Metabolism and Its Alterations in Obesity and Metabolic Diseases. *Nutrients*, **2019**, *11* (6). <https://doi.org/10.3390/nu11061356>.
- [32] Razak, M. A.; Begum, P. S.; Viswanath, B.; Rajagopal, S. Multifarious Beneficial Effect of Nonessential Amino Acid, Glycine: A Review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Hindawi Limited 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/1716701>.
- [33] Vander, J. A.; Sherman, J.; Luciano, D.; Τσακόπουλος, Μ. Φυσιολογία Του Ανθρώπου: Μηχανισμοί Της Λειτουργίας Του Οργανισμού (Τόμος ΙΙ). **2011**.
- [34] Shakeel, N.; Perveen, R.; Imran Ahamed, M.; Ahmad, A.; Inamuddin. Cherry-like Pt@Fe₃O₄ Decorated MWCNT/PANI Nanohybrid Based Bioanode for Glucose Biofuel Cell Application. *Fuel*, **2023**, *341*. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2023.127579>.
- [35] Albertini, B.; Bertoni, S.; Sangiorgi, S.; Nucci, G.; Passerini, N.; Mezzina, E. NaDES as a Green Technological Approach for the Solubility Improvement of BCS Class II APIs: An Insight into the Molecular Interactions. *Int J Pharm*, **2023**, *634*. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.122696>.
- [36] Hafsa, J.; Smach, M. A.; Mrid, R. Ben; Sobeh, M.; Majdoub, H.; Yasri, A. Functional Properties of Chitosan Derivatives Obtained through Maillard Reaction: A Novel Promising Food Preservative. *Food Chemistry*. Elsevier Ltd July 1, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129072>.

- [37] Alsaheb, R. A. A.; Aladdin, A.; Othman, Z.; Malek, R. A.; Leng, O. M.; Aziz, R.; Enshasy, H. A. El. Lactic Acid Applications in Pharmaceutical and Cosmeceutical Industries. Available online www.jocpr.com *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **2015**, 7 (10), 729–735.
- [38] Fotsing, F.; Stéphane, Y.; Kezetas, B.; Jules, J.; El-Saber Batiha, G.; Ali, I.; Bruno, L. N. *Extraction of Bioactive Compounds from Medicinal Plants and Herbs*.
- [39] Ajila, C. M.; Brar, S. K.; Verma, M.; Tyagi, R. D.; Godbout, S.; Valéro, J. R. Extraction and Analysis of Polyphenols: Recent Trends. *Critical Reviews in Biotechnology*. September 2011, pp 227–249. <https://doi.org/10.3109/07388551.2010.513677>.
- [40] Ngaha Njila, M. I.; Mahdi, E.; Massoma Lembe, D.; NDE, X.; Nyonseu, D. Review on Extraction and Isolation of Plant Secondary Metabolites; International Institute of Engineers, 2017. <https://doi.org/10.15242/iie.c0517024>.
- [41] Chen, J.; Li, Y.; Wang, X.; Liu, W. Application of Deep Eutectic Solvents in Food Analysis: A Review. *Molecules*. MDPI AG December 16, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24244594>.
- [42] Bilir, N. Fertility Variation in Wild Rose (*Rosa Canina*) over Habitat Classes. *Int. J. Agric. Biol*, **2011**, 13, 110–114.
- [43] Roman, I.; Stănilă, A.; Stănilă, S. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of *Rosa Canina* L. Biotypes from Spontaneous Flora of Transylvania. *Chem Cent J*, **2013**, 7 (1). <https://doi.org/10.1186/1752-153X-7-73>.
- [44] Bhave, A.; Schulzova, V.; Chmelarova, H.; Mrnka, L.; Hajslova, J. Assessment of Rosehips Based on the Content of Their Biologically Active Compounds. *J Food Drug Anal*, **2017**, 25 (3), 681–690. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.12.019>.
- [45] Paunović, D.; Kalušević, A.; Petrović, T.; Urošević, T.; Djinović, D.; Nedović, V.; Popović-Djordjević, J. Assessment of Chemical and Antioxidant Properties of Fresh and Dried Rosehip (*Rosa Canina* L.). **2019**, 47 (1), 108–113.
- [46] Winther, K.; Campbell-Tofte, J.; Vinther Hansen, A. S. Bioactive Ingredients of Rose Hips (*Rosa Canina* L) with Special Reference to Antioxidative and Anti-Inflammatory Properties: In Vitro Studies. *Botanics*, **2016**, 11. <https://doi.org/10.2147/btat.s91385>.
- [47] Ambriz-Pérez, D. L.; Leyva-López, N.; Gutierrez-Grijalva, E. P.; Heredia, J. B. Phenolic Compounds: Natural Alternative in Inflammation Treatment. A Review. *Cogent Food and Agriculture*. Informa Healthcare 2016. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1131412>.
- [48] Vuong, Q. V. *Utilisation of Bioactive Compounds from Agricultural and Food Waste*.
- [49] Siripatrawan, U. Active Food Packaging from Chitosan Incorporated with Plant Polyphenols. In *Novel Approaches of Nanotechnology in Food*; Elsevier, 2016; pp 465–507. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-804308-0.00014-5>.
- [50] Kosaraju, S. L.; Weerakkody, R.; Augustin, M. A. Chitosan-Glucose Conjugates: Influence of Extent of Maillard Reaction on Antioxidant Properties. *J Agric Food Chem*, **2010**, 58 (23), 12449–12455. <https://doi.org/10.1021/jf103484z>.

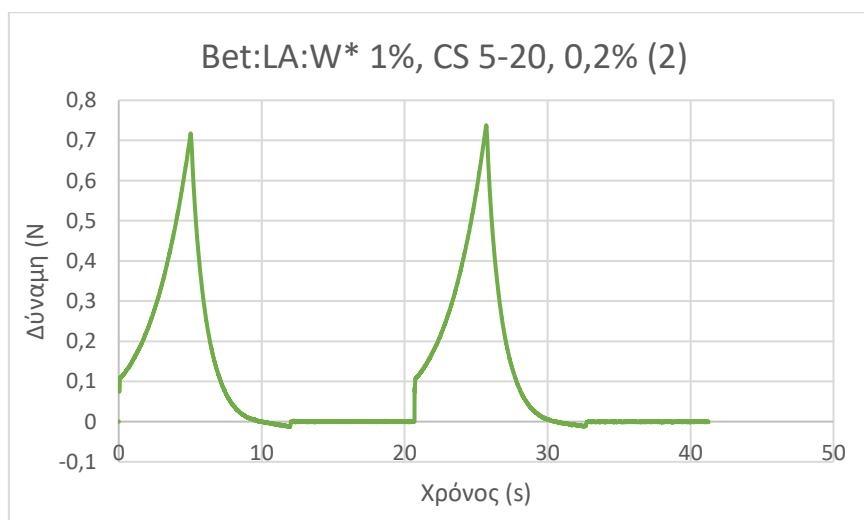
- [51] Rinaudo, M. Chitin and Chitosan: Properties and Applications. *Progress in Polymer Science (Oxford)*. July 2006, pp 603–632. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>.
- [52] Gullón, B.; Montenegro, M. I.; Ruiz-Matute, A. I.; Cardelle-Cobas, A.; Corzo, N.; Pintado, M. E. Synthesis, Optimization and Structural Characterization of a Chitosan-Glucose Derivative Obtained by the Maillard Reaction. *Carbohydr Polym*, **2016**, *137*, 382–389. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.10.075>.
- [53] Hu, J.; Li, X.; Yu, Q.; Wang, W.; Bi, J. Understanding the Impact of Pectin Physicochemical Variation on Browning of Simulated Maillard Reaction System in Thermal and Storage Processing. *Int J Biol Macromol*, **2023**, *240*, 124347. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124347>.
- [54] López-Mata, M. A.; Ruiz-Cruz, S.; de Jesús Ornelas-Paz, J.; Del Toro-Sánchez, C. L.; Márquez-Ríos, E.; Silva-Beltrán, N. P.; Cira-Chávez, L. A.; Burruel-Ibarra, S. E. Mechanical, Barrier and Antioxidant Properties of Chitosan Films Incorporating Cinnamaldehyde. *J Polym Environ*, **2018**, *26* (2), 452–461. <https://doi.org/10.1007/s10924-017-0961-1>.
- [55] Genesi, B. P.; de Melo Barbosa, R.; Severino, P.; Rodas, A. C. D.; Yoshida, C. M. P.; Mathor, M. B.; Lopes, P. S.; Viseras, C.; Souto, E. B.; Ferreira da Silva, C. Aloe Vera and Copaiba Oleoresin-Loaded Chitosan Films for Wound Dressings: Microbial Permeation, Cytotoxicity, and in Vivo Proof of Concept. *Int J Pharm*, **2023**, *634*. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.122648>.
- [56] Raja Sekharan, T.; Margret Chandira, R.; Rajesh, S. C.; Tamilvanan, S.; Vijayakumar, C. T.; Venkateswarlu, B. S. Ph, Viscosity of Hydrophobic Based Natural Deep Eutectic Solvents and the Effect of Curcumin Solubility in It. *Biointerface Res Appl Chem*, **2021**, *11* (6), 14620–14633. <https://doi.org/10.33263/BRIAC116.1462014633>.
- [57] Jurić, T.; Uka, D.; Holló, B. B.; Jović, B.; Kordić, B.; Popović, B. M. Comprehensive Physicochemical Evaluation of Choline Chloride-Based Natural Deep Eutectic Solvents. *J Mol Liq*, **2021**, *343*. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116968>.
- [58] Tzani, A.; Kalafateli, S.; Tatsis, G.; Bairaktari, M.; Kostopoulou, I.; Pontillo, A. R. N.; Detsi, A. Natural Deep Eutectic Solvents (NaDESs) as Alternative Green Extraction Media for Ginger (*Zingiber Officinale* Roscoe). *Sustainable Chemistry*, **2021**, *2* (4), 576–599. <https://doi.org/10.3390/suschem2040032>.
- [59] Siripatrawan, U.; Vitchayakitti, W. Improving Functional Properties of Chitosan Films as Active Food Packaging by Incorporating with Propolis. *Food Hydrocoll*, **2016**, *61*, 695–702. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.001>.
- [60] Pereira, P. F.; Andrade, C. T. Optimized PH-Responsive Film Based on a Eutectic Mixture-Plasticized Chitosan. *Carbohydr Polym*, **2017**, *165*, 238–246. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.02.047>.
- [61] Wu, Y. B.; Yu, S. H.; Mi, F. L.; Wu, C. W.; Shyu, S. S.; Peng, C. K.; Chao, A. C. Preparation and Characterization on Mechanical and Antibacterial Properties of Chitsoan/Cellulose Blends. *Carbohydr Polym*, **2004**, *57* (4), 435–440. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.05.013>.

- [62] Galvis-Sánchez, A. C.; Castro, M. C. R.; Biernacki, K.; Gonçalves, M. P.; Souza, H. K. S. Natural Deep Eutectic Solvents as Green Plasticizers for Chitosan Thermoplastic Production with Controlled/Desired Mechanical and Barrier Properties. *Food Hydrocoll*, **2018**, *82*, 478–489. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.04.026>.
- [63] Merck, IR Spectrum Table & Chart.
- [64] Gullón, B.; Montenegro, M. I.; Ruiz-Matute, A. I.; Cardelle-Cobas, A.; Corzo, N.; Pintado, M. E. Synthesis, Optimization and Structural Characterization of a Chitosan-Glucose Derivative Obtained by the Maillard Reaction. *Carbohydr Polym*, **2016**, *137*, 382–389. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.10.075>.

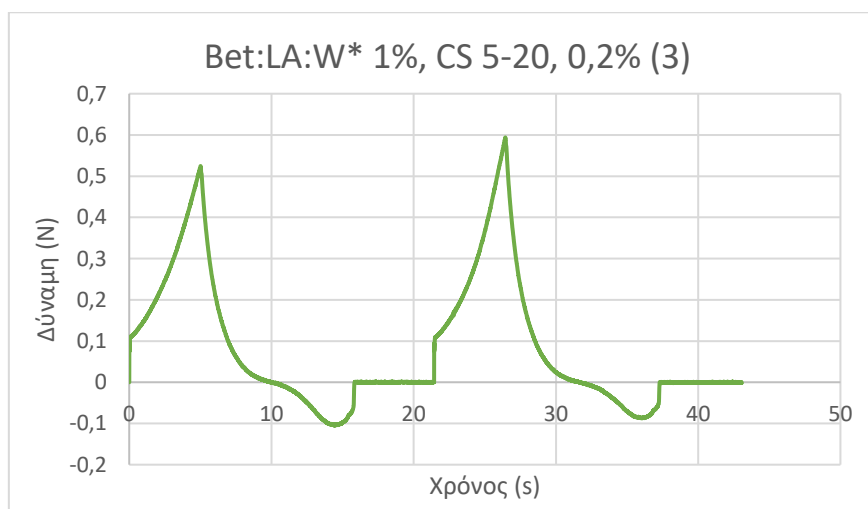
Παράρτημα 1 – Δοκιμή Συμπίεσης



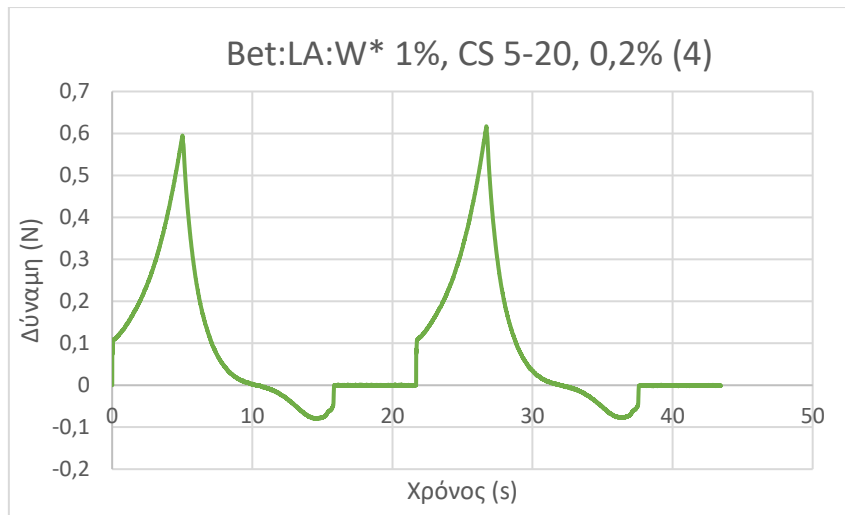
Διάγραμμα 25: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V3



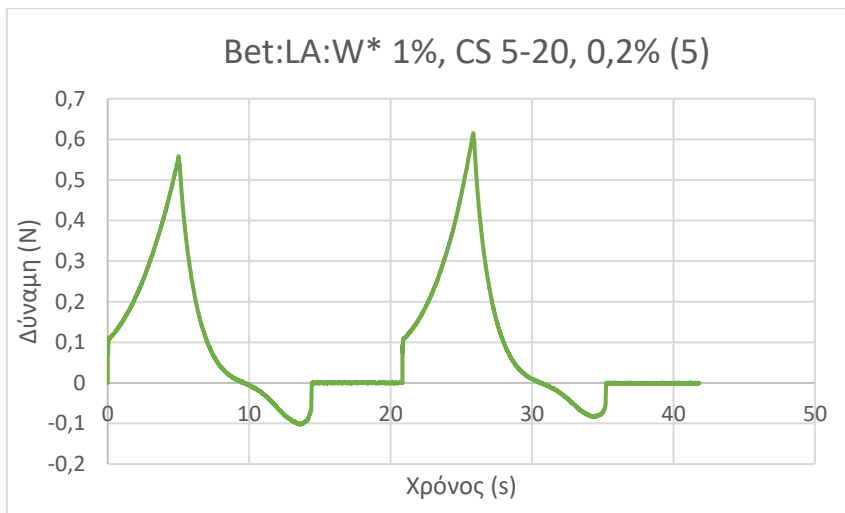
Διάγραμμα 26: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V3



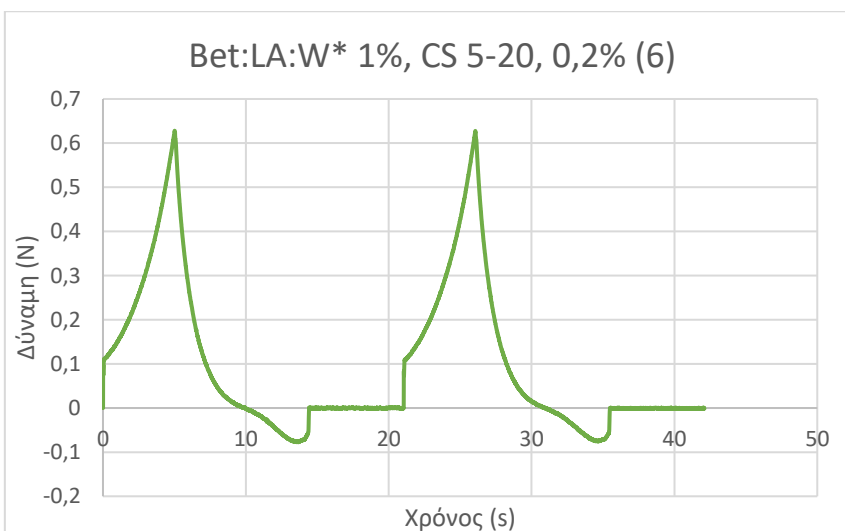
Διάγραμμα 27: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για τρίτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V3



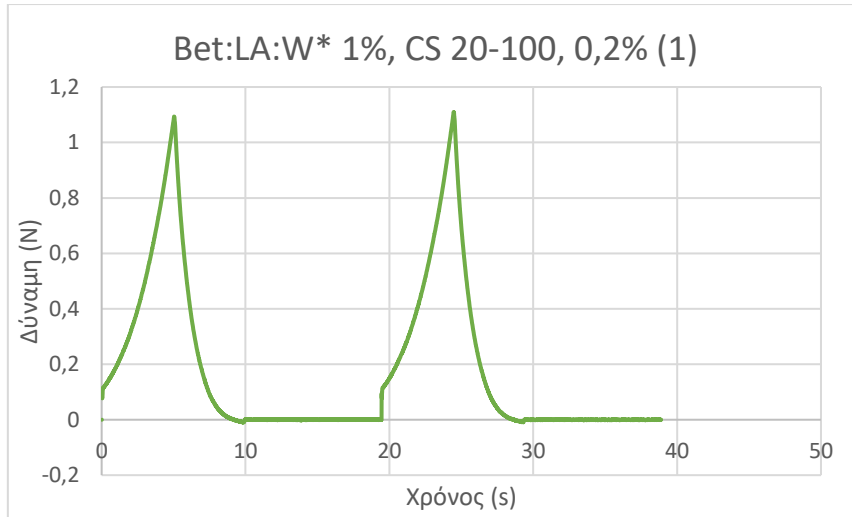
Διάγραμμα 28: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για τέταρτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V3



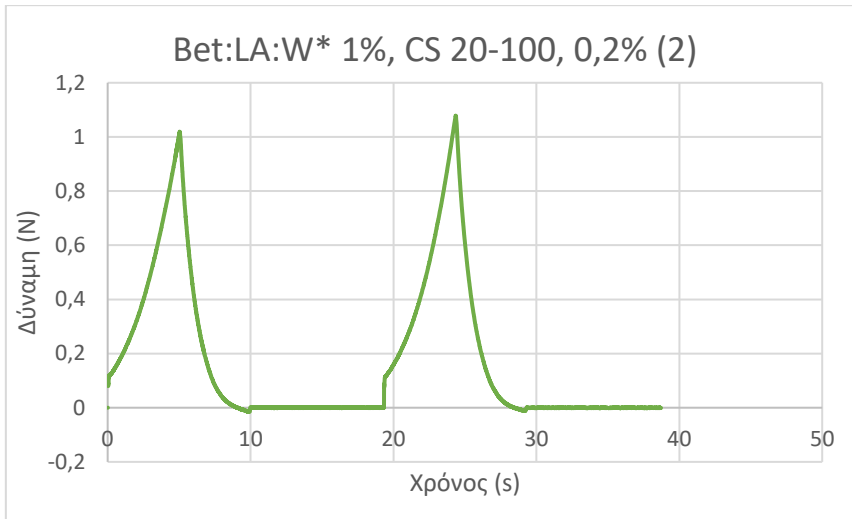
Διάγραμμα 29: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πέμπτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V3



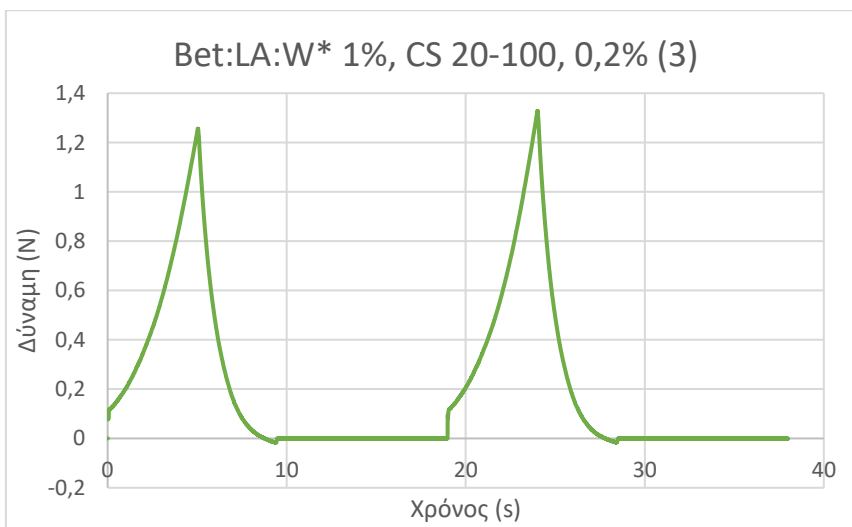
Διάγραμμα 30: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για έκτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V3



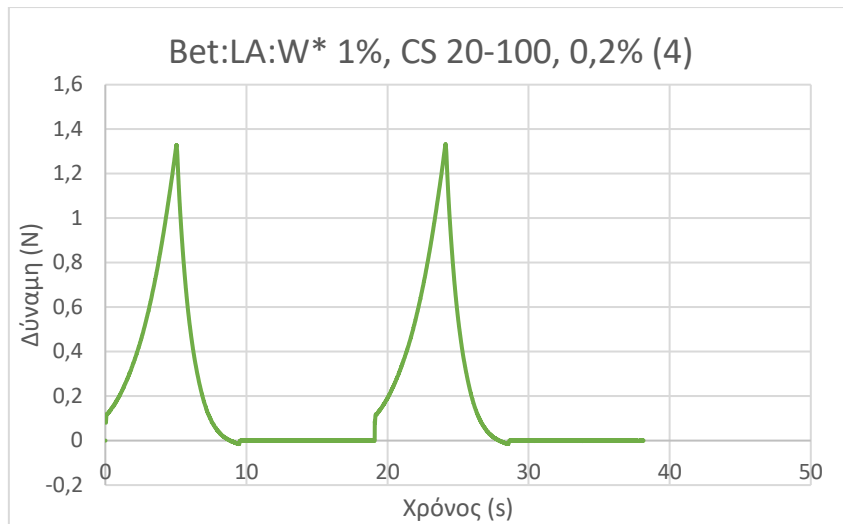
Διάγραμμα 31: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V4



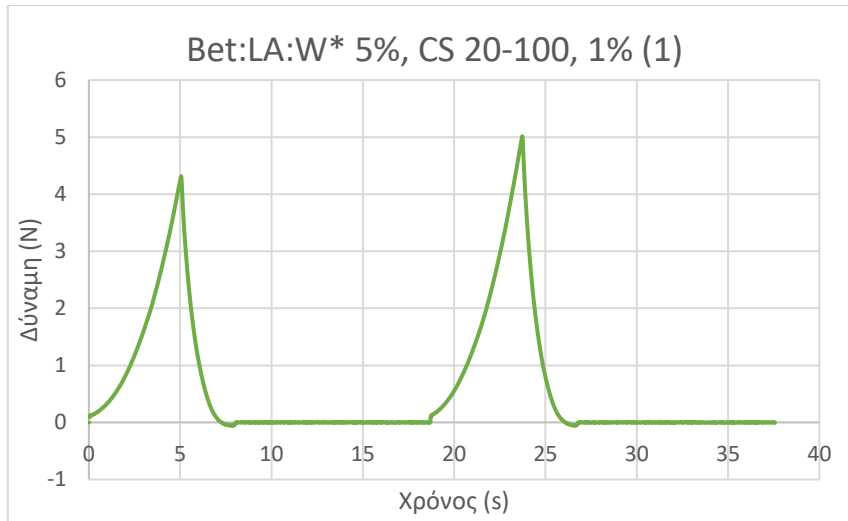
Διάγραμμα 32: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V4



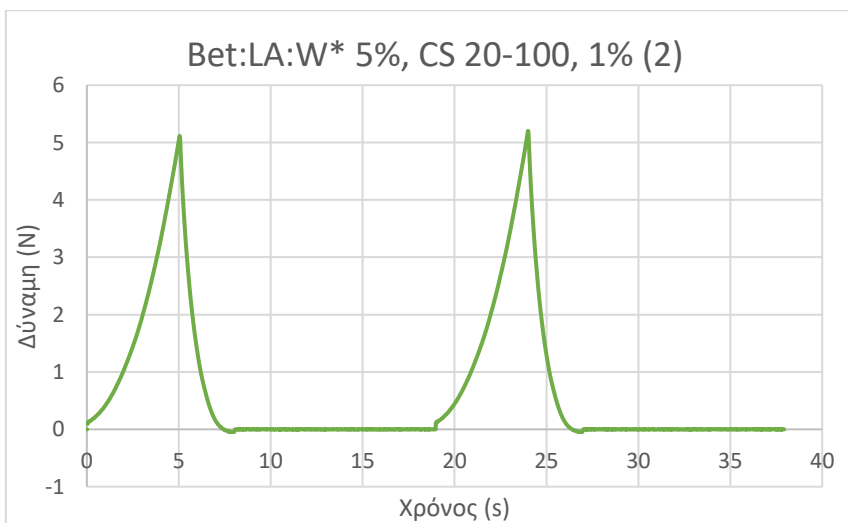
Διάγραμμα 33: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για τρίτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V4



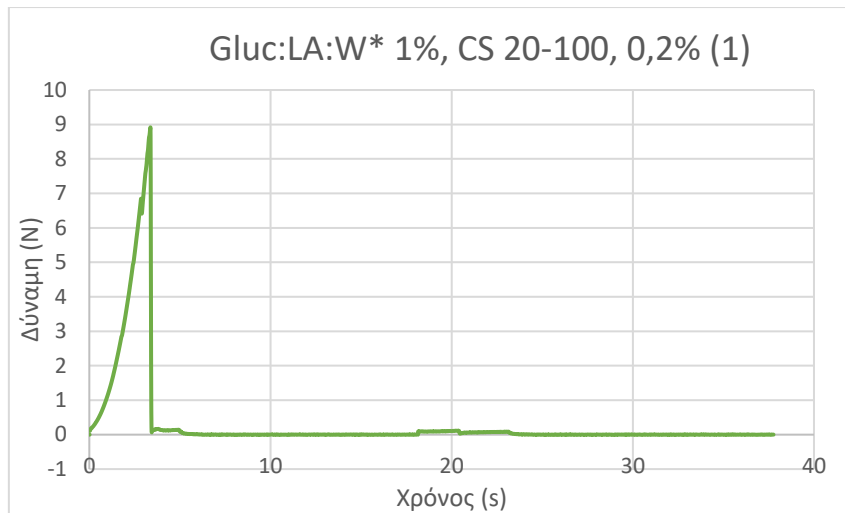
Διάγραμμα 34: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για τέταρτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V4



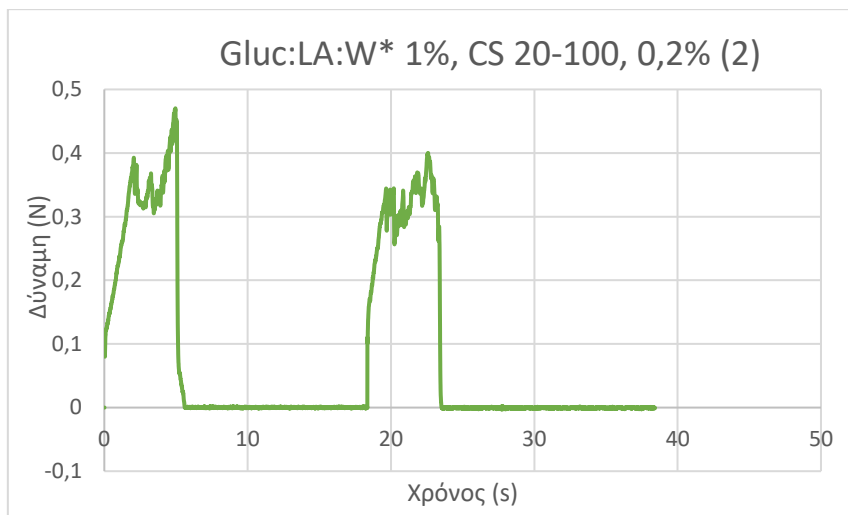
Διάγραμμα 35: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V11



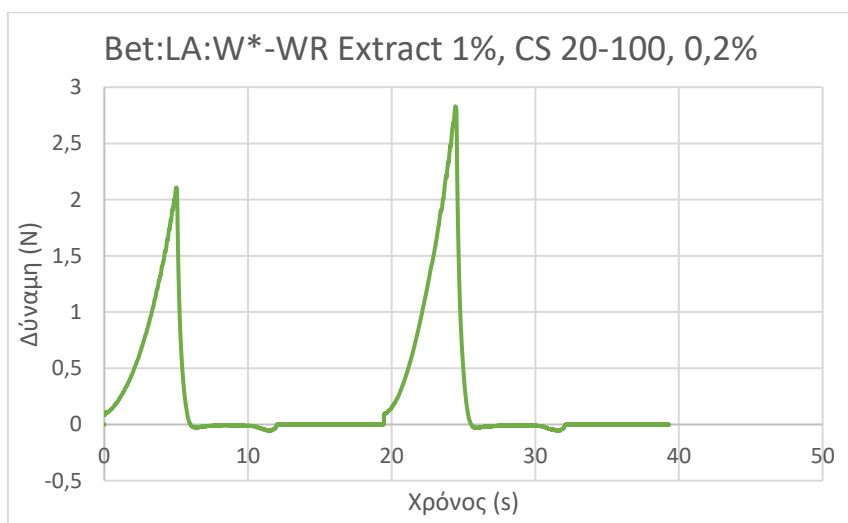
Διάγραμμα 36: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V11



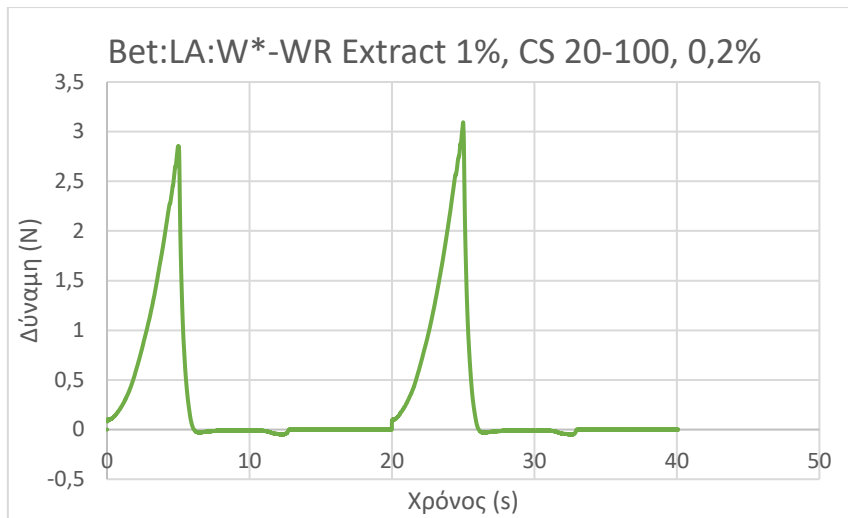
Διάγραμμα 37: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V8



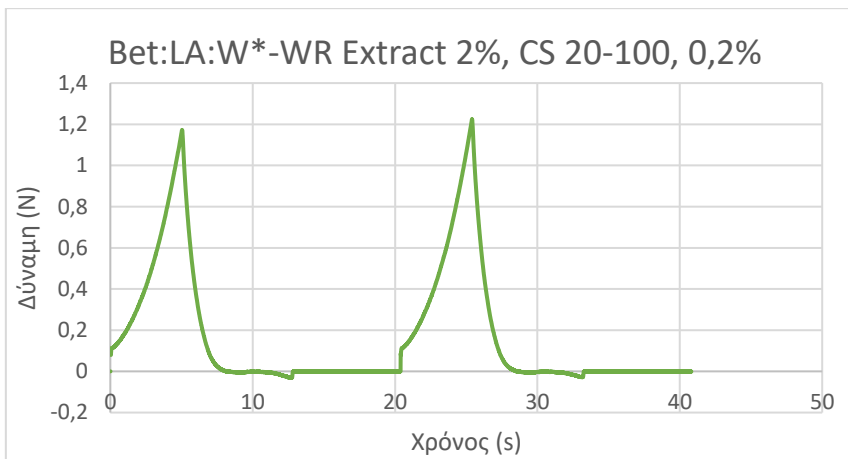
Διάγραμμα 38: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V8



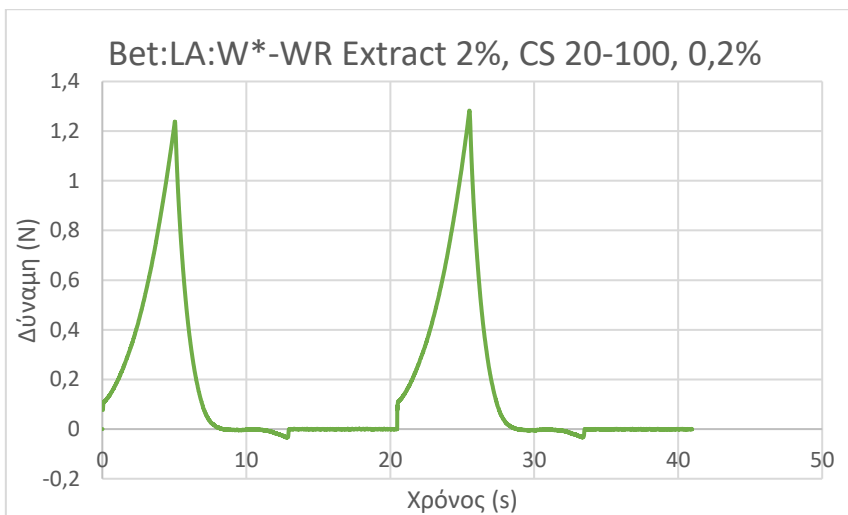
Διάγραμμα 39: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V12



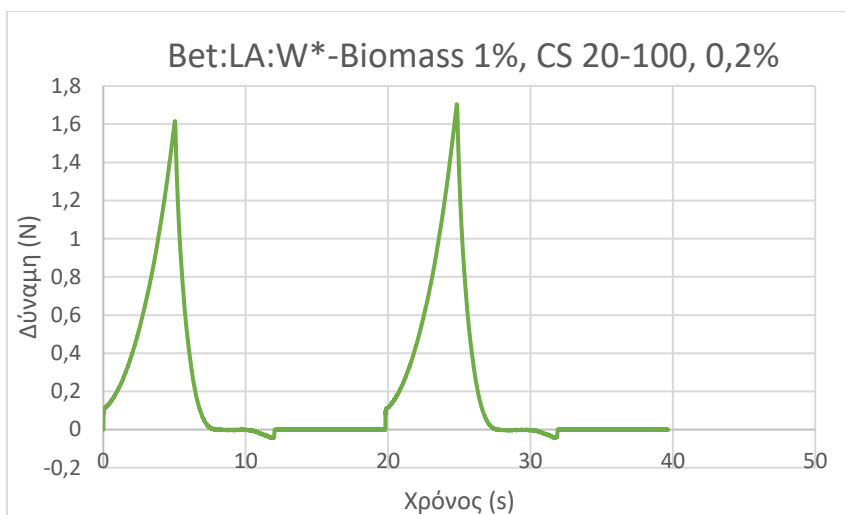
Διάγραμμα 40: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V12



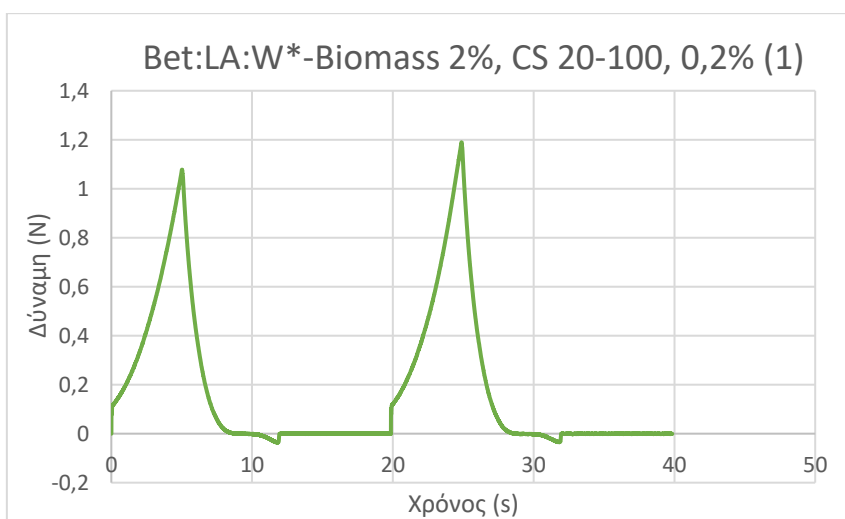
Διάγραμμα 41: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V13



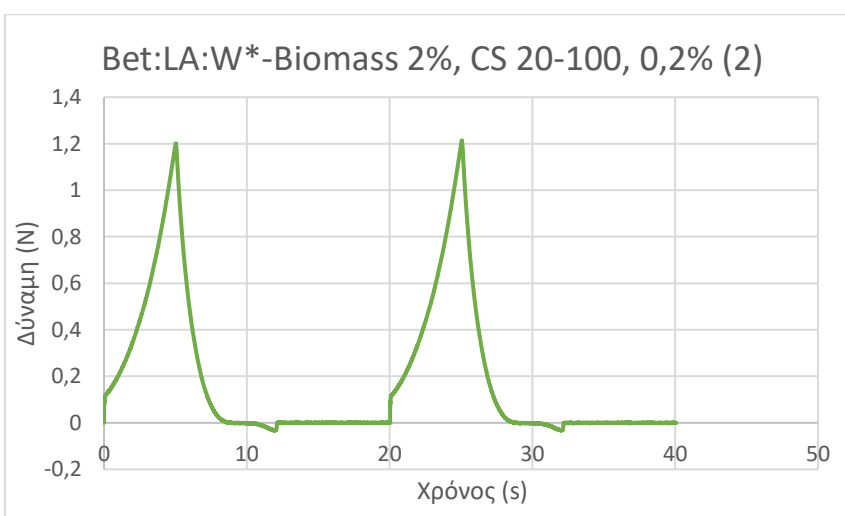
Διάγραμμα 42: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V13



Διάγραμμα 43: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V16

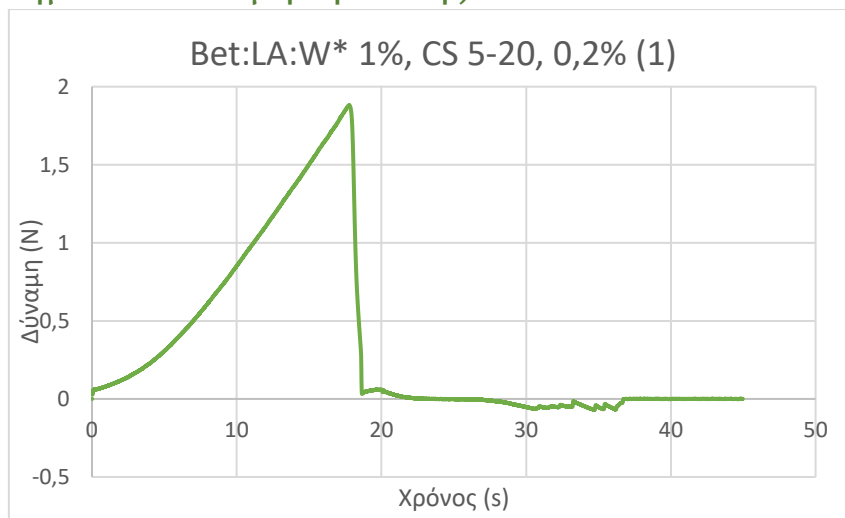


Διάγραμμα 44: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V17

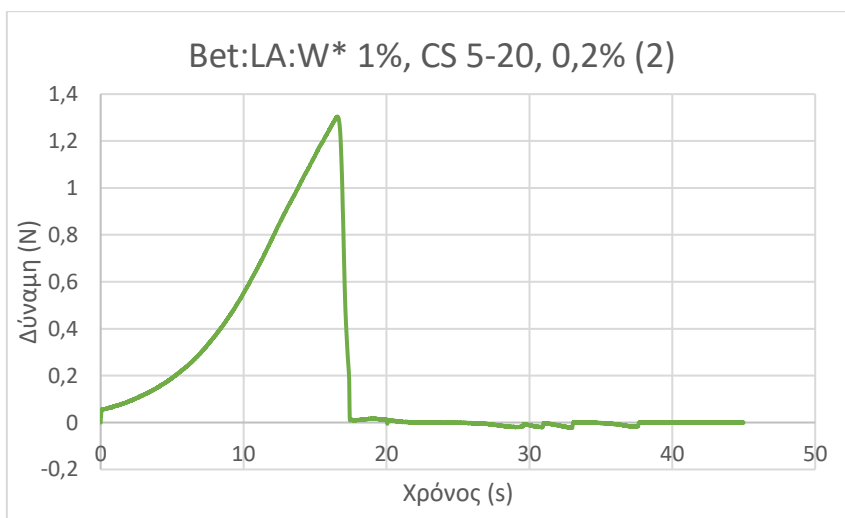


Διάγραμμα 45: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή συμπίεσης του φιλμ V17

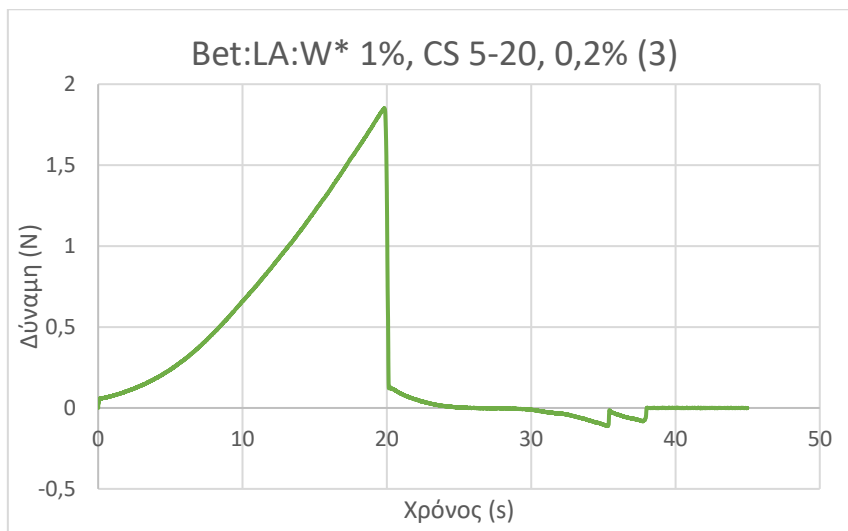
Παράρτημα 2 – Δοκιμή Θραύσης



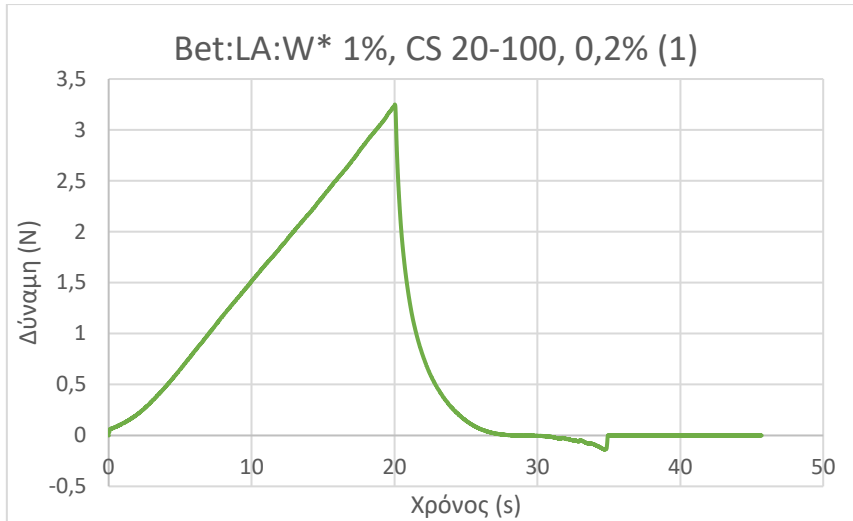
Διάγραμμα 46: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή θραύσης του φιλμ V3



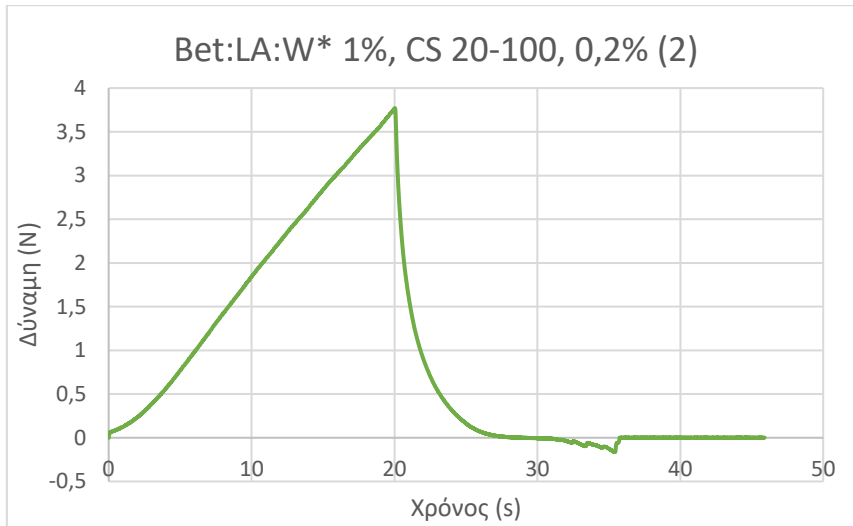
Διάγραμμα 47: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή θραύσης του φιλμ V3



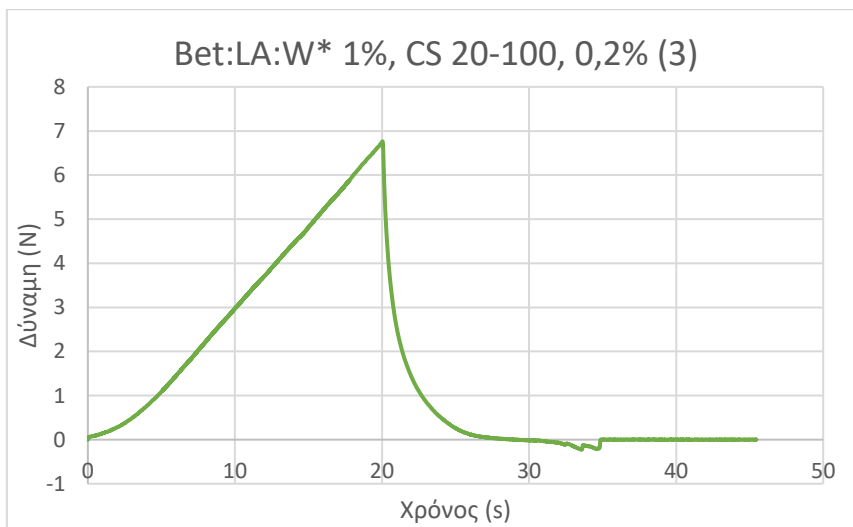
Διάγραμμα 48: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για τρίτη δοκιμή θραύσης του φιλμ V3



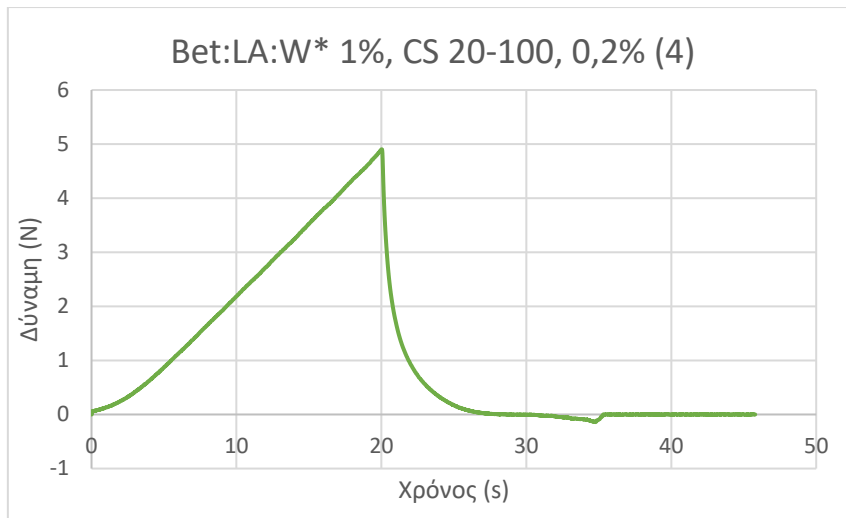
Διάγραμμα 49: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή θραύσης του φιλμ V4



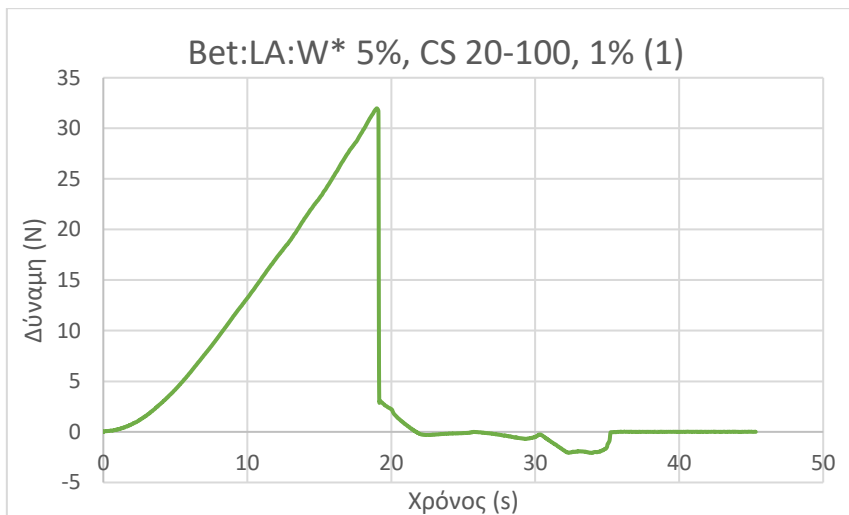
Διάγραμμα 50: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή θραύσης του φιλμ V4



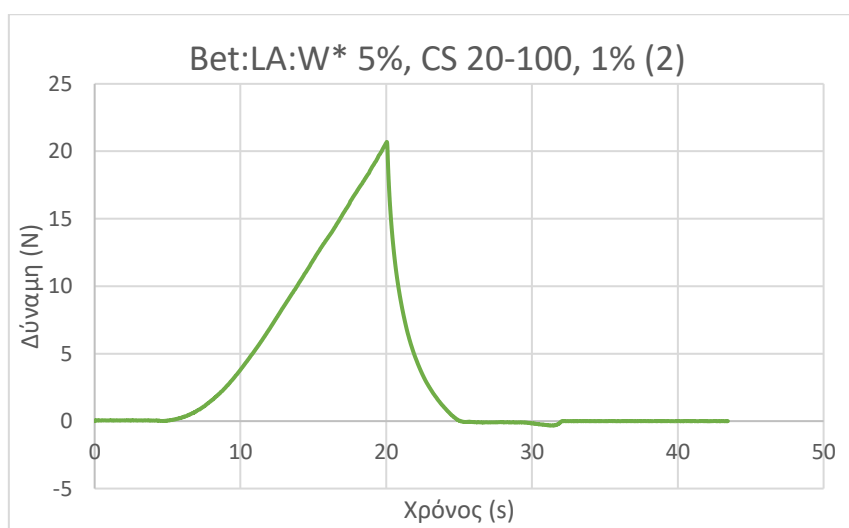
Διάγραμμα 51: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για τρίτη δοκιμή θραύσης του φιλμ V4



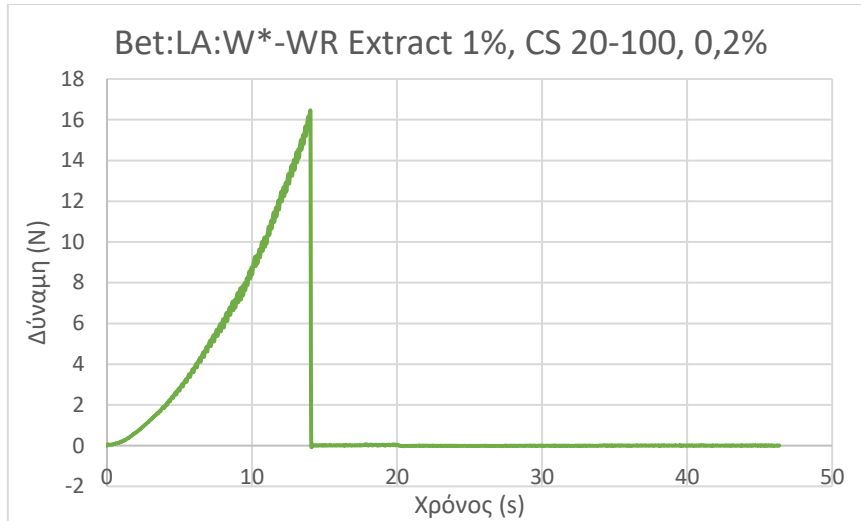
Διάγραμμα 52: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για τέταρτη δοκιμή θραύσης του φιλμ V4



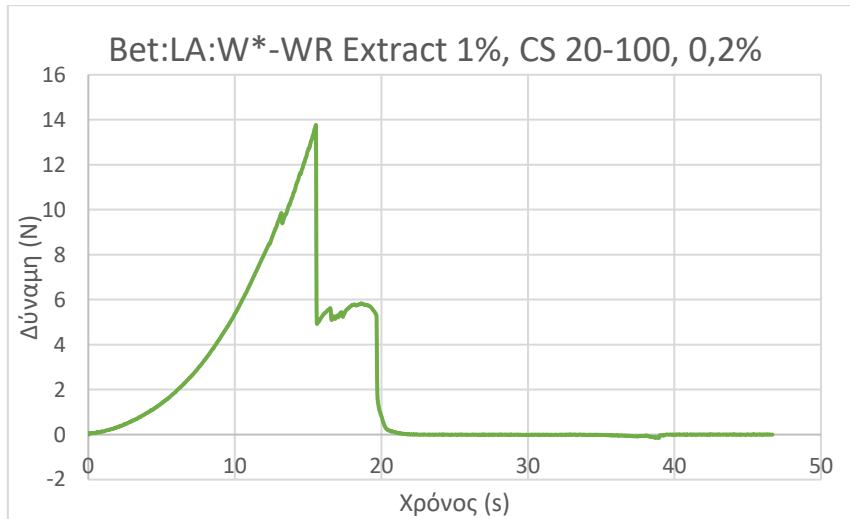
Διάγραμμα 53: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή θραύσης του φιλμ V11



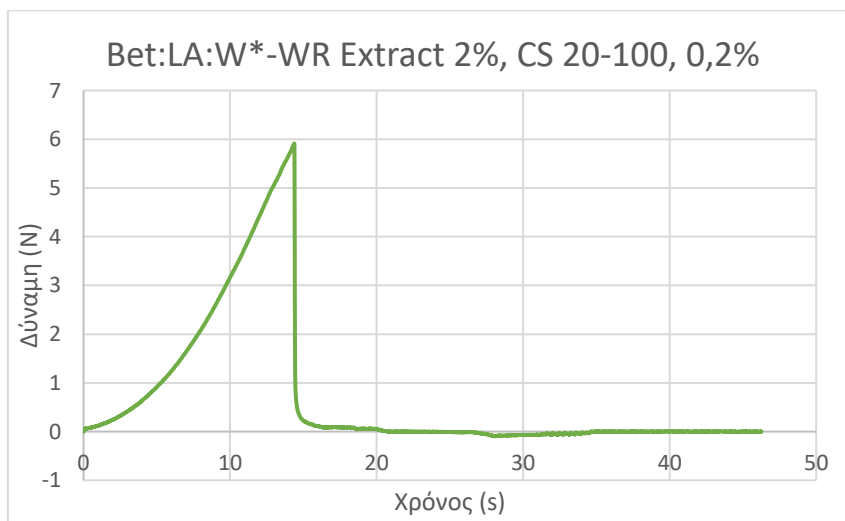
Διάγραμμα 54: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή θραύσης του φιλμ V11



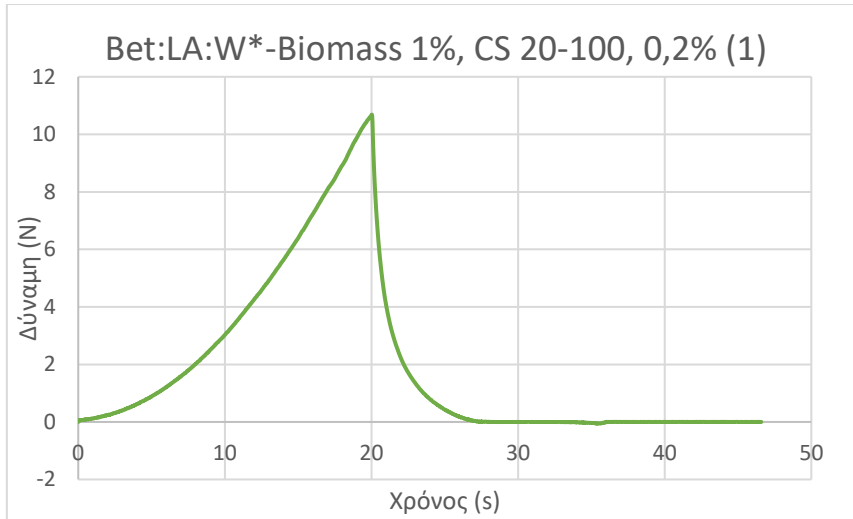
Διάγραμμα 55: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή θραύσης του φιλμ V12



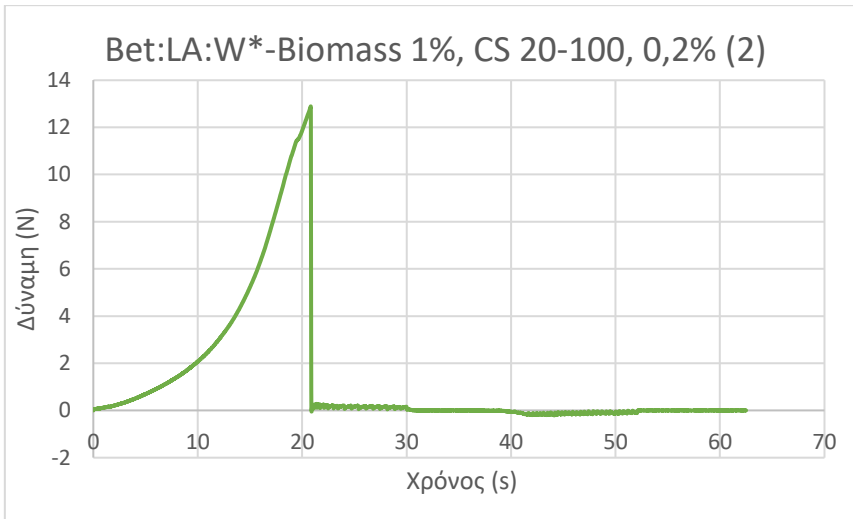
Διάγραμμα 56: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή θραύσης του φιλμ V12



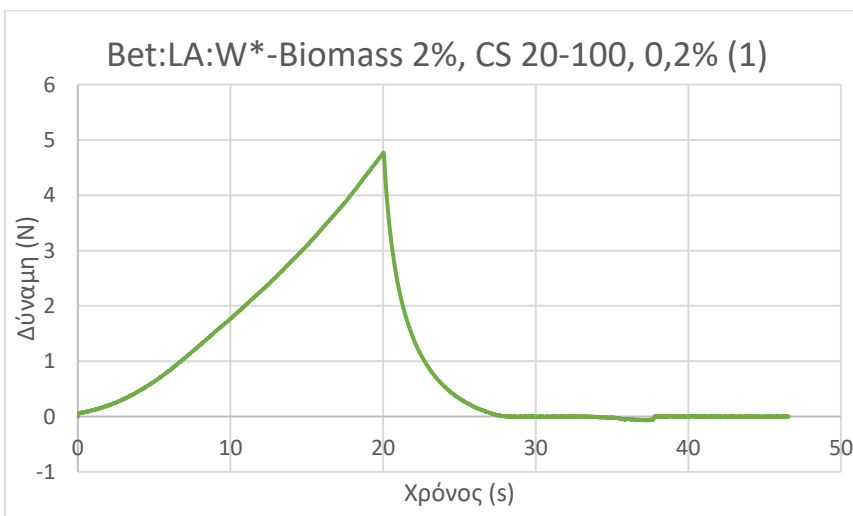
Διάγραμμα 57: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δοκιμή θραύσης του φιλμ V13



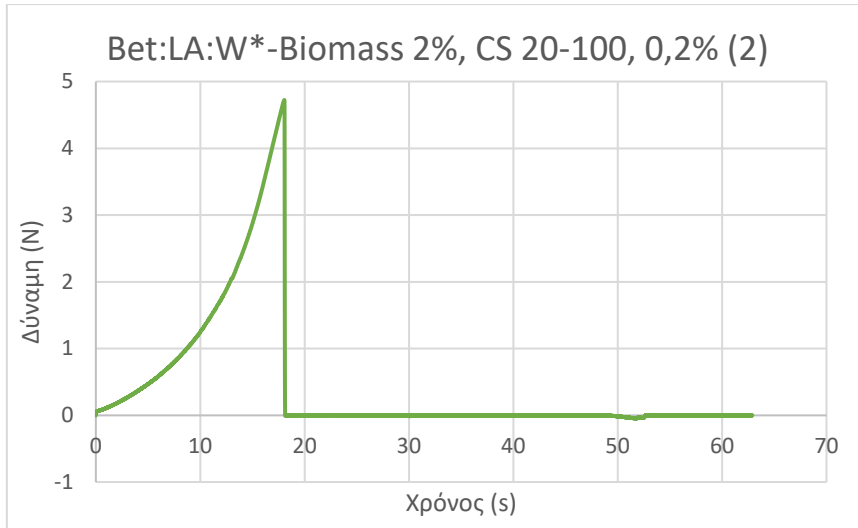
Διάγραμμα 58: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή θραύσης του φιλμ V16



Διάγραμμα 59: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή θραύσης του φιλμ V16



Διάγραμμα 60: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για πρώτη δοκιμή θραύσης του φιλμ V17



Διάγραμμα 61: Δύναμη συναρτήσει του χρόνου για δεύτερη δοκιμή θραύσης του φιλμ V17