



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ II: ΑΝΑΛΥΣΗΣ, ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ & ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ & ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ & ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ

ΕΝΘΥΛΑΚΩΣΗ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΕ ΦΥΣΙΚΑ ΠΟΛΥΜΕΡΗ ΜΕ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΚΑΙΝΟΤΟΜΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΝΑΝΟΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΜΑΡΓΑΡΙΤΑ Κ. ΠΑΝΑΓΙΩΤΟΠΟΥΛΟΥ

Χημικός Μηχανικός Ε.Μ.Π.

Αθήνα 2023

ΕΝΘΥΛΑΚΩΣΗ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΕ ΦΥΣΙΚΑ ΠΟΛΥΜΕΡΗ ΜΕ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΚΑΙΝΟΤΟΜΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΝΑΝΟΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Μαγδαληνή Κροκίδα (Επιβλέπουσα)

Καθηγήτρια

Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ

Ευάγγελος Τόπακας

Αναπληρωτής Καθηγητής

Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ

Φώτιος Τσόπελας

Επίκουρος Καθηγητής

Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Μαγδαληνή Κροκίδα

Καθηγήτρια

Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ

Ευάγγελος Τόπακας

Αναπληρωτής Καθηγητής

Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ

Φώτιος Τσόπελας

Επίκουρος Καθηγητής

Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ

Επαμεινώνδας Βουτσάς

Καθηγητής

Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ

Σταματίνα Βουγιούκα

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ

Μαρία Γιαννακούρου

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ

Ζαχαρίας Μαρούλης

Καθηγητής

Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ανώτατη Σχολή Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα (Ν. 5343/1932, Άρθρο 202).

*Στη λατρεμένη μου γιαγιά και δεύτερη μητέρα μου,
Μαργαρίτα*

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΜΕ ΚΡΙΤΕΣ

A) Από τα αποτελέσματα της Διδακτορικής Διατριβής

M. Panagiotopoulou, S. Papadaki, M. Krokida, "Formation and characterization of zein electrospayed nanoparticles containing bioactive compounds", South African Journal of Chemical Engineering, Elsevier, 2022, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2022.01.004>

M. Panagiotopoulou, S. Papadaki, T. Missirli, I. Thanassoulia, M. Krokida "Exploring the valorisation potential of Tomato cultivation by-products in the frame of Circular Economy", Waste and Biomass Valorization, Springer, 2022, DOI: <https://doi.org/10.1007/s12649-022-01786-x>

S. Papadaki, M. Panagiotopoulou, P. Pekakis, I. Thanassoulia, M. Krokida, P. Symeonidou, "Innovative Functional Plastic Films as Cover for Stonewool Grow Blocks and Their Effect on Tomato Hydroponic Cultivation", Chemistry Proceedings, MDPI, 2022, DOI: <https://doi.org/10.3390/IOCAG2022-12328>

K. Valta, C. Papadaskalopoulou, C. Tsouti, A. Konsta, P. Andrikopoulos, M. Panagiotopoulou, S. Papadaki, M. Krokida, "Investigating the environmental benefits of novel films for the packaging of fresh tomatoes enriched with antimicrobial and antioxidant compounds through LCA", Sustainability, MDPI, 2023, DOI: <https://doi.org/10.3390/su15107838>

I. Varvaringos, E. Skourtanioti, G. Letsos, E. Rizoudi, E. Makras, M. Panagiotopoulou, S. Papadaki, K. Valta, "Promoting Sustainable Agricultural Waste Management and Industrial Symbiosis through an Innovative Web Platform", Waste, MDPI 2023, DOI: <https://doi.org/10.3390/waste1020032>

B) Από την ευρύτερη ερευνητική μου δραστηριότητα

K. Kritsotakis, C. Boukouvalas, M. Panagiotopoulou, M. Krokida, S. Papadaki, "Life Cycle Assessment (LCA) upon the production chain of a powder containing modified olive leaves' extract", Biomass Conversion and Biorefinery, Springer, 2022, DOI: <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02495-0>

M. Panagiotopoulou, S. Papadaki, H. Bagia, M. Krokida, "Valorisation of olive processing waste for the development of value-added products", Sustainable Chemistry & Pharmacy, Elsevier, 2022, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scp.2022.100736>

M. Stramarkou, V. Oikonomopoulou, M. Panagiotopoulou, S. Papadaki, M. Krokida, "Sustainable Valorisation of Peach and Apricot Waste Using Green Extraction Technique with Conventional and Deep Eutectic Solvents", Resources, MDPI, 2023, DOI: <https://doi.org/10.3390/resources12060072>

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΚΑΙ ΕΘΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

M. Παναγιωτοπούλου, Σ. Παπαδάκη, Μ. Κροκίδα, «Εγκλεισμός δεοξυχολικού οξέος σε φυσικές μήτρες μέσω της μεθόδου ηλεκτροϋδροδυναμικής διεργασίας», 12ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χημικής Μηχανικής, Αθήνα, 29-31 Μαΐου 2019

M. Panagiotopoulou, S. Papadaki, M. Krokida, «Instrumental Analytical Methods as a tool for the evaluation of deoxycholic acid encapsulation efficiency in natural matrices using electrohydrodynamic process», 11th International Conference on "Instrumental Methods of Analysis" (IMA-2019), Ioannina-Epirus, Greece 22-25 Σεπτεμβρίου 2019

S. Papadaki, M. Panagiotopoulou, I. Thanassoulia, M. Krokida, «Quality characterization of advanced polymeric soil cover films in hydroponic crops for ecofriendly plant protection», 3rd Virtual Edition of POLYMERS, PLASTICS AND COMPOSITES, London, United Kingdom 11 Μαΐου 2021

M. Panagiotopoulou, S. Papadaki, T. Missirli, M. Krokida, «Exploring the valorisation potential of Tomato cultivation by-products under the frame of Circular Economy», 8th International Conference on Sustainable Solid Waste Management, Thessaloniki, Greece, 23-26 Ιουνίου 2021

S. Papadaki, M. Panagiotopoulou, P. Pekakis, I. Thanassoulia, M. Krokida, P. Symeonidou, «Innovative functional plastic films as cover of stone wool grow blocks and their effect on tomato hydroponic cultivation», 1st International Online Conference on Agriculture: ADVANCES IN AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY, 10-25 Φεβρουαρίου 2022

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική έρευνα εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Η εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής, ήταν ένα ταξίδι που μοιράστηκα με υπέροχους ανθρώπους, εξαιρετους συνεργάτες και φίλους.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς την Καθηγήτρια της Σχολής Χημικών Μηχανικών Ε.Μ.Π, Μαγδαληνή Κροκίδα, που μου έδωσε την ευκαιρία να πραγματοποιήσω τη διδακτορική μου έρευνα και να γίνω μέλος της ομάδας του Εργαστηρίου Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών. Καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης μου, με καθοδήγησε υποστηρίζοντας και ενθαρρύνοντάς με σε ερευνητικό, αλλά και σε προσωπικό επίπεδο. Οι πολύτιμες γνώσεις και οι συμβουλές της αποτέλεσαν την κινητήρια δύναμη για να μπορέσω να επιτύχω το στόχο μου.

Θα ήθελα, ακόμα, να ευχαριστήσω τα άλλα δύο μέλη της συμβουλευτικής επιτροπής, τον Αναπληρωτή Καθηγητή της Σχολής Χημικών Μηχανικών Ε.Μ.Π., κύριο Ευάγγελο Τόπακα και τον Επίκουρο Καθηγητή της Σχολής Χημικών Μηχανικών Ε.Μ.Π., κύριο Φώτιο Τσόπελα για την άριστη συνεργασία, την προθυμία και τη βοήθειά τους όλα αυτά τα χρόνια.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω και τα υπόλοιπα μέλη της εξεταστικής επιτροπής για την τιμή που μου κάνουν να συμμετέχουν στην υποστήριξη της διατριβής μου.

Οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών του ΕΜΠ, και ιδιαίτερα τη Δρ. Σοφία Παπαδάκη που ήταν από την πρώτη στιγμή δίπλα μου και με καθοδήγησε σε όλη τη διάρκεια της εργασίας μου. Ακόμα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ. Χρήστο Μπουκουβάλα, ο οποίος ήταν πάντα πρόθυμος και διαθέσιμος να με βοηθήσει στην υλοποίηση της διδακτορικής έρευνας, τη Δρ. Βασιλική Οικονομοπούλου και τη Δρ. Μαρίνα Στραμάρκου τόσο για τις γνώσεις που μου μετέδωσαν γύρω από ένα ευρύ φάσμα διεργασιών όσο και για την αισιοδοξία που μου μετέδιδαν ακόμα και σε δύσκολες στιγμές, τη Δρ. Χριστίνα Δρόσου που με μύησε στην τεχνολογία της ενθυλάκωσης και συνέβαλε στη διαμόρφωση της πορείας της μελέτης μου. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Δρ. Όλγα Σερίφη και τον Δρ. Νικόλαο Παναγιώτου για όλη τη υπέροχη συνεργασία και στήριξη αλλά και τους Δρ Τρύφωνα Κεκέ και Δρ Γεωργία Φρακολάκη που είχα την τύχη να γνωρίσω και να συνεργαστώ. Χρωστάω, επίσης ένα μεγάλο ευχαριστώ στους υποψήφιους διδάκτορες του εργαστηρίου, τη Κωνσταντίνα-Θεοδώρα Λαϊνά που πορευτήκαμε παρέα σχεδόν από την αρχή αυτού το ταξιδιού, την Αλεξάνδρα Μάρη, το Σωκράτη Κοσκινάκη και τον Χριστόφορο Βασιλείου που έγιναν συνοδοιπόροι, συνεργάτες και φίλοι. Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τον συνάδελφο Χρύσανθο

Στεργιόπουλο για την πολύτιμη βοήθεια και στήριξη. Χαίρομαι ιδιαίτερα που συνεργάστηκα με κάθε έναν από αυτούς τους επιστήμονες και ανθρώπους.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις εταιρείες Αχαϊκά Πλαστικά Α.Ε, Δραξιν Τεχνολογίες Περιβάλλοντος Α.Ε. και Γρ. Σαράντης Α.Ε. για τη συνεργασία μας στο πλαίσιο προγραμμάτων μέσω των οποίων δόθηκε η δυνατότητα να δουλέψω σε αρκετά αντικείμενα και να αξιοποιήσω μεγάλο μέρος των αποτελεσμάτων της έρευνας αυτής στη διδακτορική μου διατριβή.

Ευχαριστώ θερμά το προσωπικό της Σχολής Χημικών Μηχανικών, τον Δρ. Πέτρο Σχοινά, τη Δρ. Λαμπρινή-Αρετή Τσακανίκα και τη Δρ. Θεοπίστη Λυμπεροπούλου για τη βοήθεια που μου προσέφεραν στη διεξαγωγή σημαντικών μετρήσεων.

Κλείνοντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω μέσα από την καρδιά μου τους φίλους μου για την αγάπη και την υπομονή τους σε όλη αυτή τη διαδρομή αλλά πάνω απ' όλους θέλω να ευχαριστήσω τους σημαντικότερους ανθρώπους της ζωής μου, τους γονείς μου, Βασιλική και Κωνσταντίνο που αφιέρωσαν όλο τους το είναι για να μεγαλώσω με αγάπη, να κάνω τα όνειρά μου πραγματικότητα και με στήριξαν και με στηρίζουν σε κάθε μου βήμα. Σε αυτούς, και τη δεύτερη μητέρα μου, τη γιαγιά μου Μαργαρίτα οφείλεται κάθε επιτυχία και κάθε βήμα που κάνω για το μέλλον μου.

Μαργαρίτα Παναγιωτοπούλου,

Αθήνα, 2023

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αντικείμενο της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν η μελέτη της καινοτόμου ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας για την ενθυλάκωση βιοδραστικών συστατικών. Τα συστατικά ενδιαφέροντος ήταν το δεοξυχολικό οξύ, ένα δευτερογενές χολικό οξύ και το εκχύλισμα από τα παραπροϊόντα υδροπονικής καλλιέργειας τομάτας ενώ τα προϊόντα ενθυλάκωσής τους αξιοποιήθηκαν και με την ενσωμάτωσή τους σε καλλυντικό προϊόν και φιλμ για συσκευασία τροφίμων, αντίστοιχα. Στην περίπτωση του εκχυλίσματος, φύλλα και βλαστοί από την υδροπονική καλλιέργεια τομάτας αποξηράθηκαν και εκχυλίστηκαν με διάφορες μεθόδους εκχύλισης και στόχο την παραλαβή και αξιολόγηση του βιοδραστικού περιεχομένου τους. Το πλουσιότερο περιεχόμενο σε βιοδραστικά συστατικά, είχαν τα φύλλα ενώ ο συνδυασμός της ανάδευσης για 72 ώρες με την επακόλουθη χρήση υπερήχων για την παραλαβή των εναπομεινάντων εγκλωβισμένων βιοδραστικών να ξεχωρίζει μεταξύ των μεθόδων εκχύλισης που μελετήθηκαν. Το εκχύλισμα αυτό των φύλλων, μελετήθηκε περαιτέρω με χρήση Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Πίεσης για την ταυτοποίηση φλαβονοειδών (κυρίως ρουτίνη), καροτεινοειδών (κυρίως λουτεΐνη και β-καροτένιο)) και των αλκαλοειδών τοματίνη, τοματιδίνη, υποδεικνύοντας την αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή δράση του. Ακολούθησε λεπτομερής μελέτη της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας και ως προς τις δύο εκφάνσεις της, τον ηλεκτροστατικό ψεκασμό και την ηλεκτροστατική ινοποίηση. Αρχικά, εφαρμόστηκαν στη διάταξη διαλύματα διαφόρων πολυμερών (υδροξυ-προπυλο-β-κυκλοδεξτρίνη, πολυγαλακτικό οξύ, χιτοζάνη και ζεΐνη), μελετώντας διαφορετικούς συνδυασμούς λειτουργικών συνθηκών και συγκεντρώσεών τους και αξιολογήθηκε τόσο η ικανότητά τους να σχηματίσουν προϊόν αλλά και η μορφολογία του προϊόντος αυτού. Μεταξύ των πολυμερών αυτών, η ζεΐνη έδωσε τα πιο ενδιαφέροντα αποτελέσματα για την παρούσα μελέτη καθώς διαπιστώθηκε η ικανότητα σχηματισμού διακριτών σωματιδίων αλλά και ομοιόμορφων ινών με μεταβολή της συγκέντρωσής της και για αρκετούς συνδυασμούς συνθηκών. Ακολούθησαν πειράματα για την επιλογή της βέλτιστης αναλογίας διαλυτών αιθανόλης-νερού και συγκέντρωσης της πρωτεΐνης για την παραλαβή και των δύο διαμορφώσεων (σωματιδίων και ινών). Από τα μίγματα αιθανόλης/νερού, η αναλογία 90/10 (v/v) κρίθηκε η ιδανικότερη για τον ηλεκτροστατικό ψεκασμό και η αναλογία 80/20 (v/v) για την ινοποίηση με βάση χαρακτηριστικά των παραγόμενων διαλυμάτων (επιφανειακή τάση, ηλεκτρική αγωγιμότητα και ιξώδες). Στη συνέχεια με τους επιλεγμένους διαλύτες, εξετάστηκε η επίδραση των λειτουργικών παραμέτρων της διεργασίας στην διάμετρο των δομών. Όπως παρατηρήθηκε, η αύξηση της ροής και της συγκέντρωσης οδηγεί σε δομές μεγαλύτερων διαμέτρων ενώ αντίθετα αύξηση της απόστασης και της εφαρμοζόμενης τάσης οδηγούν σε μείωση της διαμέτρου. Από τη συνδυαστική μελέτη των παραμέτρων αυτών επιλέχθηκαν οι συγκεντρώσεις 10 και 25% (w/v) για παραλαβή των βέλτιστων σωματιδίων και ινών, αντίστοιχα για τη ζεΐνη.

Σε επόμενο βήμα, πραγματοποιήθηκε η ενθυλάκωση των βιοδραστικών συστατικών και έγινε αριστοποίηση της διεργασίας για την επίτευξη της μέγιστης απόδοσης εγκλεισμού με χρήση του σχεδιασμού κεντρικού σημείου. Για λόγους σύγκρισης, τα βιοδραστικά συστατικά ενθυλακώθηκαν και με εφαρμογή της κλασικής μεθόδου της ξήρανης με ψεκασμό με την ίδια μήτρα ενθυλάκωσης. Για τη διεργασία αυτή, πραγματοποιήθηκε επίσης βελτιστοποίηση για την επίτευξη της μέγιστης δυνατής απόδοσης εγκλεισμού. Τις υψηλότερες τιμές απόδοσης εγκλεισμού έδωσε ο ηλεκτροστατικός ψεκασμός, ακολουθούμενος από την ηλεκτροστατική ινοποίηση, την ξήρανση με ψεκασμό για το δεοξυχολικό οξύ και τέλος για το εκχύλισμα. Συνολικά οι αποδόσεις εγκλεισμού κυμάνθηκαν μεταξύ 79 έως 93% για το σύνολο των δειγμάτων. Τα προϊόντα των διεργασιών εγκλεισμού αξιολογήθηκαν, στη συνέχεια, ως προς τη δομή-μορφολογία τους με τις νανοϊνες του ενθυλακωμένου εκχυλίσματος να εμφανίζουν την μικρότερη διάμετρο ($0,32 \pm 0,083 \mu\text{m}$) ακολουθούμενες από τα νανοσωματίδια του δεοξυχολικού οξέος ($0,37 \pm 0,09 \mu\text{m}$) ενώ η ξήρανση με ψεκασμό έδωσε δομές μεταξύ 7,5-8,5 μm . Επιπλέον, μέσω της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης παρατηρήθηκε η σταθερότητα του σημείου υαλώδους μετάπτωσης των νανοσωματιδίων και νανοϊνών που κυμάνθηκε στους 129-145 °C ανεξάρτητα από την παραμονή των δειγμάτων σε διαφορετικές συνθήκες υγρασίας ($a_w=0,11-0,95$) και θερμοκρασίας (25 και 45 °C). Αντίθετα οι δομές της ξήρανης με ψεκασμό φάνηκαν πιο επιρρεπείς στην προσρόφηση υγρασίας. Για τα δείγματα αυτά εφαρμόστηκαν ευρέως χρησιμοποιούμενα μοντέλα που περιγράφουν τις ισόθερμες ρόφησης (GAB, BET, Oswin, Halsey) και αποδείχθηκε ότι η GAB είχε την καλύτερη προσαρμογή στα δεδομένα τόσο για τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν στους 25 όσο και στους 45 °C. Η μελέτη των δομών με χρήση της φασματομετρίας με μετασχηματισμό Fourier έδειξε ότι οι χαρακτηριστικές κορυφές της μήτρας παρέμειναν αμετάβλητες από τη διεργασία ενθυλάκωσης ενώ για το σύνολο των προϊόντων εντοπίστηκαν χαρακτηριστικές κορυφές των συστατικών, επιβεβαιώνοντας τον επιτυχή εγκλεισμό τους. Ακολούθως, μελετήθηκε η απελευθέρωση των συστατικών σε περιβάλλον διαλύτη αλλά και κατά την αποθήκευση σε θαλάμους διαφορετικής σχετικής υγρασίας. Όσον αφορά στην απελευθέρωση σε περιβάλλον διαλύτη, αυτή παρατηρήθηκε σημαντικά ταχύτερη για τα προϊόντα ενθυλάκωσης μέσω της ξήρανης με ψεκασμό. Μεταξύ, δε, των δύο προϊόντων της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας, τα νανοσωματίδια επέδειξαν ελαφρώς ταχύτερη απελευθέρωση της ουσίας σε σχέση με τις νανοϊνες. Όσον αφορά στην απελευθέρωση από του θαλάμους διαφορετικών ενεργοτήτων νερού, αυτή αποδείχθηκε για όλα τα δείγματα βραδύτερη σε σχέση με την απελευθέρωση από περιβάλλον διαλύτη. Επιπλέον ο ρυθμός απελευθέρωσης ήταν μεγαλύτερος για τα εγκλεισμένα βιοδραστικά μέσω της ξήρανης με ψεκασμό ακολουθούμενος από αυτόν των νανοσωματιδίων και τέλος των νανοϊνών, δηλαδή συμπεριφορά ανάλογη της απελευθέρωσης και στο περιβάλλον διαλύτη. Επιπλέον παρατηρήθηκε εγκλωβισμός των βιοδραστικών

στο εσωτερικό της μήτρας και αδυναμία απελευθέρωσης λόγω κατάρρευσης της δομής σε περιβάλλον σχετικής υγρασίας 75-95% για τα προϊόντα της ξήρανσης με ψεκάσμο.

Στη συνέχεια, τα προϊόντα ενθυλάκωσης μέσω της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας αξιοποιήθηκαν για την παραγωγή καταναλωτικών προϊόντων. Πιο συγκεκριμένα, ενθυλακωμένο δεοξυχολικό οξύ από τον ηλεκτροστατικό ψεκάσμο ενσωματώθηκε σε γαλάκτωμα τύπου O/W για την παρασκευή καλλυντικής κρέμας. Το σκεύασμα μελετήθηκε ως προς την εμφάνιση, το χρώμα, το pH, την μικροβιολογική του σταθερότητα και τα ρεολογικά του χαρακτηριστικά κατά την αποθήκευσή του στους 5, 25, 37 και 45 °C για τρεις μήνες συγκριτικά με την ίδια κρέμα χωρίς την ενσωμάτωση του εγκλεισμένου βιοδραστικού. Όπως φάνηκε, η προσθήκη του συστατικού δεν αλλοίωσε τα χαρακτηριστικά της κρέμας, διατηρήθηκε η μικροβιολογική της σταθερότητας, παρατηρήθηκαν μικρές μεταβολές στο χρώμα ενώ το pH κυμάνθηκε μεταξύ του 4,45-5 για όλα τα δείγματα. Όσο αφορά στα ρεολογικά του χαρακτηριστικά, το σύνθετο ιξώδες μεταβλήθηκε ελάχιστα σε σχέση με αυτό της απλής κρέμας βάσης ενώ μετρήθηκαν και ικανοποιητικές τιμές του σε βάθος χρόνου στις διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης ($|\eta^*| \geq 1,24 \text{ MPa}\cdot\text{s}$ για $\omega=0,1 \text{ 1/s}$ σε $t=90\text{d}$ στους 45 °C). Όσο για τους συντελεστές αποθήκευσης (G') και απώλειας (G''), ίσχυσε η σχέση $G' > G''$ για όλο το εύρος γωνιακών συχνοτήτων που μετρήθηκαν υποδεικνύοντας την ύπαρξη σταθερού σκευάσματος. Όσον αφορά στο ενθυλακωμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας σε μορφή μεμβράνης, αυτό χρησιμοποιήθηκε ως επικάλυψη σε φιλμ λεπτού υμενίου (διαξονικά προσανατολισμένο φιλμ πολυπροπυλενίου) προς το σχηματισμό ενός διστρωματικού φιλμ συσκευασίας. Τα δύο στρώματα σταθεροποιήθηκαν μεταξύ τους μέσω χημικής και ήπιας θερμικής κατεργασίας. Το τελικό φιλμ αξιολογήθηκε ως προς τη μορφολογία των ινών που εμφανίστηκαν πεπλατυσμένες λόγω της κατεργασίας που υπέστησαν, χωρίς ωστόσο να παρατηρηθεί κατάρρευση της δομής τους και με την παρατήρηση, μικρής μόνο απώλειας ενθυλακωμένου εκχυλίσματος ($\approx 4,6\%$). Το παραγόμενο φιλμ χρησιμοποιήθηκε για την συσκευασία τομάτων σε σχέση με απλό φιλμ πολυπροπυλενίου. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν στους 5, σε θερμοκρασία δωματίου και στους 45 °C και διενεργούνταν καθημερινή δειγματοληψία και μέτρηση χρώματος, απώλειας βάρους, pH, ολικού βακτηριακού φορτίου- ζυμών/μούχλας καθώς και οργανοληπτικός έλεγχος. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι καρποί που συσκευάστηκαν με το διστρωματικό φιλμ ανέπτυξαν βραδύτερα μικροβιακό φορτίο, οδηγώντας σε παράταση του χρόνου ζωής κατά 1-3 ημέρες.

Τέλος παρατέθηκε μελέτη αξιολόγησης του κύκλου ζωής (AKZ) για το καλλυντικό σκεύασμα και το φιλμ συσκευασίας με ενθυλακωμένα βιοδραστικά συστατικά ως προς το περιβαλλοντικό αποτύπωμα των διεργασιών που απαιτήθηκαν σε σχέση με την παραγωγή συμβατικών υλικών. Αναφορικά με την καλλυντική κρέμα η AKZ εστιάστηκε στην παραγωγή της κρέμας και την ενθυλάκωση με τη μελέτη να δείχνει την αύξηση του περιβαλλοντικού αποτυπώματος με την προσθήκη του εγκλεισμένου

βιοδραστικού συστατικού. Αντίστοιχα για το κόστος παραγωγής, εκτιμήθηκε μία αύξηση κατά 0,045 €/καλλυντικό σκεύασμα για την κρέμα με το βιοδραστικό συστατικό ενώ η εκτίμηση κόστους παραγωγής για μια απλή κρέμας βάση ήταν στα 0,20 €/καλλυντικό σκεύασμα. Ωστόσο, στη μελέτη αυτή δεν έχουν συμπεριληφθεί δεδομένα αποτελεσματικότητας από τη χρήση της ουσίας. Όσον αφορά στο φιλμ συσκευασίας, συγκρίθηκε το περιβαλλοντικό αποτύπωμα της ενεργής συσκευασίας με αυτό του συμβατικού φιλμ λεπτού υμενίου για όλα τα στάδια από την συγκομιδή των φύλλων μέχρι και το αποτέλεσμα χρήσης τους. Η λειτουργική μεμβράνη επέδειξε καλύτερες περιβαλλοντικές επιδόσεις σε όλα τα στάδια της εφοδιαστικής αλυσίδας με εξαίρεση το στάδιο παραγωγής του σε σχέση με το απλό φιλμ, επιβάρυνση που αντισταθμίζεται από τα οφέλη της αξιοποίησης παραπροϊόντων του αγρού προς τη δημιουργία υλικών προστιθέμενης αξίας αλλά και της παράτασης του χρόνου ζωής του συσκευασμένου προϊόντος. Ως προς την οικονομική εκτίμηση, το κόστος παραγωγής του διστρωματικού φιλμ υπολογίστηκε να αυξηθεί κατά 0,36 €/kg φιλμ.

ABSTRACT

The aim of this PhD thesis was to study the innovative electrohydrodynamic process for the encapsulation of bioactive compounds. The compounds of interest were deoxycholic acid, a secondary bile acid, and the extract derived from hydroponic tomato cultivation by-products, while the encapsulation products were also exploited by incorporating them into a cosmetic product and a film for food packaging, respectively. In the case of the extract, leaves and stems from hydroponic tomato cultivation were freeze-dried and extracted using various extraction methods to receive and evaluate their bioactive content. The leaves had the richest content in bioactive components, while the combination of stirring for 72 hours with the subsequent use of ultrasounds to receive the remaining entrapped bioactive compounds stood out among the extraction methods studied. This leaf extract was further studied using High-Pressure Liquid Chromatography for the identification of flavonoids (mainly rutin), carotenoids (mainly lutein and β -carotene) and the alkaloids tomatine-tomatidine, indicating its antioxidant and antimicrobial activity. A detailed study of the electro-hydrodynamic process and its two aspects, electrospraying and electrospinning, followed. Initially, solutions of various polymers (hydroxy-propyl- β -cyclodextrin, polylactic acid, chitosan and zein) were applied to the equipment, studying different combinations of operating conditions and polymer concentrations regarding their ability to form a product and its morphology. Among these polymers, zein gave the most interesting results by leading to the formation of both discrete particles and uniform fibers when changing its concentration and for several combinations of operating conditions. Experiments, to select the optimal ethanol-water solvent ratio and protein concentration to obtain both configurations (particles and fibers) followed. Of the ethanol/water mixtures, the 90/10 (v/v) ratio was found to be the most ideal for electrospraying and the 80/20 (v/v) ratio for electrospinning based on the solutions' properties (surface tension, electrical conductivity and viscosity). Subsequently, the effect of the operating parameters of the process on the diameter of the structures was examined. As observed, increasing flow rate and concentration led to structures with larger diameters while, conversely, increasing distance and applied voltage led to a decrease in diameter. From the combined study of these parameters, the concentrations of 10 and 25% (w/v) were selected to obtain the optimal particles and fibers, respectively, from zein.

In the next step, the encapsulation of the bioactive ingredients was performed and the process was optimized to achieve the maximum encapsulation efficiency (EE%) using the central composite design. For comparison purposes, the active agents were also encapsulated by applying the conventional spray drying method with the same encapsulation matrix. For this process, optimization was also performed to achieve the maximum possible EE%. The highest EE% was measured for the electrospraying product,

followed by the electrospun fibers, the spray dried particles of the encapsulated deoxycholic acid and finally of the extract. In total, EE% ranged between 79 and 93% for all the samples. The encapsulation products were, then, evaluated in terms of their structure-morphology with the nanofibers of the encapsulated extract showing the smallest diameter ($0.32 \pm 0.083 \mu\text{m}$) followed by the nanoparticles of deoxycholic acid ($0.37 \pm 0.09 \mu\text{m}$) while spray drying gave structures between 7.5-8.5 μm . In addition, through differential scanning calorimetry, the stability of the glass transition temperature of the nanoparticles and nanofibers was observed, which ranged from 129-145 °C regardless of the samples' previous placement in different humidity control chambers ($a_w=0.11-0.95$) and temperature (25 and 45 °C). In contrast, the spray-dried structures appeared more susceptible to moisture absorption. Commonly used models describing water sorption isotherms (GAB, BET, Oswin, Halsey) were applied to these samples and it was shown that the GAB model had the best fit to the data for both samples stored at 25 and 45 °C. The study of the structures using Fourier transform infrared spectroscopy showed that the characteristic peaks of the matrix remained unchanged by the encapsulation process while characteristic peaks of the components were identified for all the products, confirming their successful encapsulation. Subsequently, the release of the components in a solvent environment and also during storage in chambers of different relative humidity was studied. Regarding the release in a solvent environment, this was observed to be significantly faster for the encapsulated products through spray drying. Between the two products of the electro-hydrodynamic process, the nanoparticles showed a slightly faster release of the substance than the nanofibers. Regarding the release from the chamber of different water activities, this proved to be slower for all samples compared to the release from the solvent environment. In addition, the release rate was greater for the encapsulated bioactives through spray drying followed by those from electrospraying and finally electrospinning, showing the same behavior with the release in the solvent environment. In addition, entrapment of the bioactives inside the matrix and inability to release due to structure collapse for the samples placed in chambers of RH 75-95% was observed for the spray drying products.

Subsequently, the encapsulation products derived from the electro-hydrodynamic process were utilized for the production of consumer products. More specifically, the electrosprayed nanoparticles of deoxycholic acid were incorporated into an oil-in-water emulsion to prepare a cosmetic cream. The formulation was studied for its appearance, color, pH, microbiological stability and rheological characteristics during storage at 5, 25, 37 and 45 °C for three months compared to the same cream without the incorporation of the encapsulated bioactive. The results showed that the addition of the ingredient did not alter the characteristics of the cream, its microbiological stability was maintained and small color changes were observed while the pH ranged between 4.45-5 for all the samples. Regarding its rheological characteristics, the complex viscosity showed a slight change compared to that of the

simple base cream, while satisfactory values were also measured over time in the different storage conditions ($|\eta^*| \geq 1.24 \text{ MPa}\cdot\text{s}$ for $\omega=0, 1 \text{ 1/s}$ at $t=90\text{d}$ at 45°C). As for the storage (G') and loss (G'') modulus, the relationship $G' > G''$ was maintained for the entire range of angular frequencies measured, indicating the existence of a stable formulation. As for the encapsulated tomato leaf extract in electrospun zein nanofibers, it was used as a thin coating for biaxially oriented polypropylene to form a bilayer packaging film. The two layers were stabilized together through chemical and mild heat treatments. The final film was evaluated for the morphology of the fibers which appeared flattened due to the treatment they underwent, without however resulting to a collapse of their structure and with the observation of only a small loss of encapsulated extract ($\approx 4.6\%$). The produced film was used for tomato packaging in comparison with plain polypropylene film. Samples were stored at 5°C , room temperature and 45°C and were, daily, measured for their color, weight loss, pH, total bacterial count-yeasts/molds and their sensory properties. The results showed that the fruits packed with the bilayer film developed microbial load more slowly, leading to an extension of shelf life by 1-3 days.

Finally, a life cycle assessment (LCA) study was presented for the cosmetic formulation and the packaging film with the encapsulated bioactive ingredients in terms of the environmental footprint of the processes required compared to the production of conventional materials. Regarding the cosmetic cream, LCA focused on the production of the cream and the encapsulation with the study showing the increase in the environmental footprint with the addition of the encapsulated bioactive ingredient. Accordingly, regarding the production cost, it was estimated to be higher by $\text{€}0.045/\text{cosmetic}$ formulation for the cream with the bioactive ingredient compared to the base cream (estimated at $\text{€}0.20/\text{cosmetic}$ formulation). However, this study did not include efficacy data from the use of the substance that would offset this increase. Regarding the packaging film, the environmental footprint of the active material was compared with that of the conventional film for all stages, from the harvest of the leaves to the result of their use. Functional film demonstrated better environmental performance at all stages of the supply chain apart from the production stage compared to plain film, which was offset by the benefits of utilization of agricultural by-products to create value-added materials and extend the shelf life of the packaged products. In terms of economic evaluation, the production cost of the bilayer film was estimated to increase by $\text{€}0.36/\text{kg}$ film.

Πίνακας περιεχομένων

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	vii
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	ix
ABSTRACT.....	xiii
1 Θεωρητικό Μέρος.....	1
1.1 Ενθυλάκωση.....	1
1.1.1 Ορισμός και οφέλη ενθυλάκωσης.....	1
1.1.2 Μέθοδοι ενθυλάκωσης.....	2
1.1.2.1 Ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία.....	5
1.1.2.2 Ξήρανση με ψεκασμό ως μέθοδος μικροεγκλεισμού.....	12
1.1.3 Επιλογή μήτρας ενθυλάκωσης.....	17
1.1.3.1 Η ζεΐνη ως μήτρα ενθυλάκωσης.....	17
1.1.4 Βιοδραστικά συστατικά.....	18
1.1.4.1 Συστατικά ενδιαφέροντος της παρούσας μελέτης.....	19
1.1.5 Κυριότερες εφαρμογές της ενθυλάκωσης.....	21
1.1.5.1 Βιομηχανία καλλυντικών.....	21
1.1.5.2 Συσκευασία τροφίμων.....	22
1.2 Αντικείμενο και στόχος.....	23
Βιβλιογραφία.....	26
2 Ανάκτηση βιοδραστικών συστατικών από τα υπολείμματα υδροπονικής καλλιέργειας τομάτας.....	35
2.1 Εισαγωγή.....	35
2.2 Προκατεργασία υπολειμμάτων.....	35
2.3 Προσδιορισμός περιεχομένου σε ολικές χλωροφύλλες και ολικά καροτενοειδή.....	36
2.4 Μέθοδοι εκχύλισης.....	36
2.4.1 Εκχύλιση Soxhlet.....	36
2.4.2 Εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερήχους και μικροκύματα.....	37
2.4.3 Εκχύλιση με χρήση πεπιεσμένου υγρού.....	39
2.4.4 Υπολογισμός της απόδοσης εκχύλισης.....	40
2.4.5 Χαρακτηρισμός εκχυλισμάτων και επιλογή βέλτιστου για ενθυλάκωση.....	40
2.4.5.1 Συνολικό φαινολικό περιεχόμενο (Total Phenolic Content, TPC).....	41
2.4.5.2 Συνολικό περιεχόμενο σε φλαβονοειδή (Total Flavonoid Content, TFC).....	41
2.4.5.3 Αντιοξειδωτική ικανότητα.....	42
2.4.6 Προφίλ επιλεγμένου εκχυλίσματος.....	43
2.4.6.1 Ανίχνευση γλυκοαλκαλοειδών.....	44

2.4.7	Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων.....	44
2.5	Αποτελέσματα	45
2.5.1	Περιεχόμενο πρώτων υλών σε χλωροφύλλες και ολικά καροτενοειδή	45
2.5.2	Χαρακτηρισμός εκχυλισμάτων	45
2.5.3	Περαιτέρω χαρακτηρισμός επιλεγμένου εκχυλίσματος με χρήση HPLC.....	47
2.6	Συμπεράσματα.....	49
	Βιβλιογραφία.....	50
3	Ενθυλάκωση επιλεγμένων βιοδραστικών συστατικών	53
3.1	Εισαγωγή.....	53
3.2	Υλικά.....	53
3.3	Μεθοδολογία.....	54
3.3.1	Διερεύνηση πολυμερών υλικών για την επιλογή του καταλληλότερου φορέα ενθυλάκωσης-1 ^ο σετ πειραμάτων	54
3.3.1.1	Ανάπτυξη καινοτόμων νανοδομών μέσω της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας.....	54
3.3.1.2	Πειραματικός σχεδιασμός για την παραλαβή νανοσφαιριδίων και νανοϊνών από διαλύματα ζεΐνης-2 ^ο σετ πειραμάτων	56
3.3.2	Ενθυλάκωση βιοδραστικών ενώσεων μέσω της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας.....	59
3.3.2.1	Πειραματικός σχεδιασμός για την αριστοποίηση της απόδοσης εγκλεισμού του δεοξυχολικού οξέος με εφαρμογή του ηλεκτροστατικού ψεκασμού.....	59
3.3.2.2	Πειραματικός σχεδιασμός για την αριστοποίηση της απόδοσης εγκλεισμού εκχυλίσματος φύλλων τομάτας με εφαρμογή της ηλεκτροστατικής ινοποίησης	60
3.3.3	Ενθυλάκωση βιοδραστικών ενώσεων μέσω της συμβατικής μεθόδου της ξήρανσης με ψεκασμό για λόγους σύγκρισης	62
3.3.3.1	Πειραματικός σχεδιασμός για την αριστοποίηση της απόδοσης εγκλεισμού του δεοξυχολικού οξέος με εφαρμογή της ξήρανσης με ψεκασμό.....	63
3.3.3.2	Πειραματικός σχεδιασμός για την αριστοποίηση της απόδοσης εγκλεισμού εκχυλίσματος φύλλων τομάτας με εφαρμογή της ξήρανσης με ψεκασμό	63
3.4	Χαρακτηρισμός προϊόντων εγκλεισμού	64
3.4.1	Μέτρηση της απόδοσης εγκλεισμού με εφαρμογή αναλυτικών μεθόδων	65
3.4.1.1	Υγρή Χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (LC-MS)	65
3.4.1.2	Φασματοφωτομετρία Υπεριώδους-ορατού (UV-Vis spectroscopy).....	65
3.4.2	Χαρακτηρισμός της μορφολογίας των παραγόμενων δομών.....	66
3.4.3	Χαρακτηρισμός των μοριακών αλληλεπιδράσεων των δομών.....	66
3.4.4	Επίδραση υγρασίας και προσδιορισμός θερμικών ιδιοτήτων των προϊόντων ενθυλάκωσης.....	67
3.4.4.1	Ισόθερμες ρόφησης	67
3.4.4.2	Προσδιορισμός της Θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης και εξάρτηση από την υγρασία	69

3.4.5	Μελέτη απελευθέρωσης των ενθυλακωμένων βιοδραστικών συστατικών σε περιβάλλον διαλύτη	71
3.4.5.1	Μελέτη απελευθέρωσης δεοξυχολικού οξέος.....	75
3.4.5.2	Μελέτη απελευθέρωσης εκχυλίσματος φύλλων τομάτας.....	75
3.4.6	Μελέτη απελευθέρωσης των ενθυλακωμένων βιοδραστικών συστατικών λόγω παραμονής σε θαλάμους διαφορετικής υγρασίας	76
3.5	Αποτελέσματα	76
3.5.1	Ανάπτυξη καινοτόμων νανοδομών μέσω της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας ..	76
3.5.1.1	Επιλογή κατάλληλου φορέα ενθυλάκωσης (1 ^ο σετ πειραμάτων): Επίδραση των συνθηκών της διεργασίας και των ιδιοτήτων των διαλυμάτων στη μορφολογία των παραγόμενων δομών.....	76
3.5.1.2	Πειραματικός σχεδιασμός για την παραλαβή νανοδομών ζεΐνης (2 ^ο σετ πειραμάτων)	83
3.5.2	Ανάπτυξη καινοτόμων νανοσφαριδίων δεοξυχολικού οξέος μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού και μικροδομών μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό- Συγκριτική ανάλυση 87	
3.5.2.1	Μελέτη της απόδοσης εγκλεισμού.....	87
3.5.2.2	Πειραματικός σχεδιασμός για την αριστοποίηση της ενθυλάκωσης μέσω της ηλεκτροστατικού ψεκασμού	88
3.5.2.3	Πειραματικός σχεδιασμός για την αριστοποίηση της ενθυλάκωσης μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό.....	91
3.5.2.4	Παρατήρησης της μορφολογίας των προϊόντων ενθυλάκωσης μέσω της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (SEM).....	93
3.5.2.5	Εφαρμογή της τεχνικής της Φασματοσκοπίας Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier με Αποσβένουσα Ολική Ανάκλαση (ATR-FTIR)	94
3.5.2.6	Μελέτη επίδρασης υγρασίας και προσδιορισμός θερμικών ιδιοτήτων μέσω της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC).....	96
3.5.2.7	Μελέτη απελευθέρωσης του δεοξυχολικού οξέος από τη ζεΐνη σε περιβάλλον διαλυτών.....	100
3.5.2.8	Μελέτη απελευθέρωσης του δεοξυχολικού οξέος κατά την αποθήκευση σε θαλάμους διαφορετικών ενεργοτήτων νερού	103
3.5.3	Ανάπτυξη καινοτόμων νανοϊνών εκχυλίσματος φύλλων τομάτας μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης και μικροδομών μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό-Συγκριτική ανάλυση 104	
3.5.3.1	Πειραματικός σχεδιασμός για την αριστοποίηση της ενθυλάκωσης μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης.....	104
3.5.3.2	Πειραματικός σχεδιασμός για την αριστοποίηση της ενθυλάκωσης μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό.....	107
3.5.3.3	Παρατήρησης της μορφολογίας των παραγόμενων δομών μέσω της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (SEM).....	109

3.5.3.4	Εφαρμογή της τεχνικής της Φασματοσκοπίας Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier με Αποσβένουσα Ολική Ανάκλαση (ATR-FTIR)	109
3.5.3.5	Προσδιορισμός θερμικών ιδιοτήτων μέσω της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC).....	111
3.5.3.6	Κινητική απελευθέρωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας από τη ζεΐνη σε περιβάλλον διαλυτών	116
3.5.3.7	Κινητική απελευθέρωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας από τη ζεΐνη λόγω παραμονής σε περιβάλλον υγρασίας.....	118
3.6	Συμπεράσματα.....	120
	Βιβλιογραφία.....	125
4	Ανάπτυξη τελικών προϊόντων.....	133
4.1	Εισαγωγή.....	133
4.2	Ενσωμάτωση των νανοσωματιδίων δεοξυχολικού οξέος σε καλλυντική κρέμα.....	133
4.2.1	Μεθοδολογία παρασκευής καλλυντικής κρέμας	134
4.2.2	Μέτρηση ρεολογικών ιδιοτήτων- Δυναμική Μηχανική Ανάλυση (DMA)	135
4.2.3	Μέτρηση χρώματος	136
4.2.4	Μέτρηση οξύτητας (pH).....	137
4.2.5	Μικροβιολογική ανάλυση.....	137
4.3	Δημιουργία φιλμ λεπτού υμενίου για χρήση ως υλικό συσκευασίας με ενσωμάτωση ενθυλακωμένου εκχυλίσματος φύλλων τομάτας	140
4.3.1	Μεθοδολογία παραγωγής φιλμ	140
4.3.2	Μετ-επεξεργασία (Post-treatment).....	140
4.3.3	Φυσικοχημικές ιδιότητες του παραγόμενου φιλμ.....	141
4.3.4	Εφαρμογή συσκευασίας σε καρπούς τομάτας.....	141
4.3.5	Φυσικοχημικός χαρακτηρισμός συσκευασμένων προϊόντων.....	142
4.3.5.1	Μέτρηση pH.....	142
4.3.5.2	Μέτρηση Χρώματος.....	142
4.3.5.3	Μέτρηση απώλειας Βάρους	143
4.3.5.4	Μικροβιολογική Ανάλυση	143
4.3.5.5	Οργανοληπτικός Έλεγχος.....	143
4.4	Αποτελέσματα	144
4.4.1	Αξιολόγηση καλλυντικής κρέμας με νανοσωματίδια ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος	144
4.4.1.1	Δυναμική μηχανική ανάλυση (DMA).....	145
4.4.1.2	Μέτρηση οξύτητας (pH).....	148
4.4.1.3	Μέτρηση χρώματος	149
4.4.1.4	Μικροβιολογική ανάλυση.....	150

4.4.2	Αξιολόγηση φιλμ με ενθυλακωμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας	152
4.4.2.1	Κατεργασία μετά την ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία	152
4.4.2.2	Φυσικοχημικές ιδιότητες φιλμ	153
4.4.2.3	Φυσικοχημικός χαρακτηρισμός συσκευασμένων τομάτων	154
4.5	Συμπεράσματα.....	167
	Βιβλιογραφία.....	168
5	Ανάλυση κύκλου ζωής και οικονομοτεχνική μελέτη των διεργασιών.....	173
5.1	Εισαγωγή.....	173
5.1.1	Μεθοδολογία ΑΚΖ.....	174
5.1.1.1	Ορισμός στόχου και πλαισίου μελέτης	174
5.1.1.2	Απογραφή δεδομένων κύκλου ζωής	175
5.1.1.3	Εκτίμηση Επιπτώσεων Κύκλου Ζωής.....	176
5.1.1.4	Εκτίμηση βελτιώσεων και ερμηνείας των αποτελεσμάτων	178
5.2	Ανάλυση κύκλου ζωής καλλυντικής κρέμας με ενθυλακωμένο δεοξυχολικό οξύ.....	179
5.2.1	Λειτουργική μονάδα	179
5.2.2	Όρια συστήματος.....	179
5.2.3	Παραδοχές-Παρατηρήσεις	179
5.2.4	Απογραφή δεδομένων.....	180
5.2.5	Εκτίμηση των επιπτώσεων & ερμηνεία των αποτελεσμάτων.....	180
5.2.6	Οικονομική αξιολόγηση για την παραγωγή καλλυντικής κρέμας με ενθυλακωμένο δεοξυχολικό οξύ.....	183
5.3	Ανάλυση κύκλου ζωής και οικονομική αξιολόγηση του φιλμ με επικάλυψη ναοινίων ενθυλακωμένου εκχυλίσματος φύλλων τομάτας	184
5.3.1	Σενάρια	184
5.3.2	Λειτουργική μονάδα	185
5.3.3	Όρια του συστήματος	185
5.3.4	Παραδοχές και περιορισμοί	186
5.3.5	Απογραφή δεδομένων.....	187
5.3.6	Εκτίμηση των επιπτώσεων & ερμηνεία των αποτελεσμάτων.....	189
5.3.7	Οικονομική αξιολόγηση για την παραγωγή επικαλυμμένου φιλμ με ενθυλακωμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας	193
5.4	Συμπεράσματα.....	194
	Βιβλιογραφία.....	195
	ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	197
	ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΕΣ	203

Περιεχόμενα Εικόνων

Εικόνα 1. "Από πάνω προς τα κάτω και "Από κάτω προς τα πάνω" προσεγγίσεις της τεχνολογίας νανοεγκλεισμού (Προσαρμογή από (Ezhilarasi, Karthik et al. 2013)).	4
Εικόνα 2 Σχηματισμός κώνου Taylor κατά τον ηλεκτροστατικό ψεκασμό (αριστερά) και την ηλεκτροστατική ινοποίηση (δεξιά).	6
Εικόνα 3 Διατάξεις ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασία (ηλεκτροστατικός ψεκασμός και ηλεκτροστατική ινοποίηση).	7
Εικόνα 4 Διάταξη ξήρανσης με ψεκασμό.	13
Εικόνα 5 Εξέλιξη του αριθμού των δημοσιεύσεων σχετικά με τον όρο «ζείνη» (A) και σύγκριση του αριθμού δημοσιεύσεων σχετικά με τους όρους «ζείνη», «ζείνη και ενθυλάκωση» και «ζείνη και μεταφορά ουσιών» (B) για τα έτη 2001-2021 (Προσαρμογή από Yan, Li et al. 2022).	18
Εικόνα 6 Διάταξη εκχύλισης με μικροκύματα και υπερήχους.	38
Εικόνα 7 Διάταξη εκχύλισης με χρήση πεπιεσμένου υγρού (PLE)	39
Εικόνα 8 Δείγματα μέτρησης ολικού φαινολικού φορτίου με χρήση του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu (φθίνουσα συγκέντρωση φαινολικών από αριστερά προς τα δεξιά)	41
Εικόνα 9 Δείγματα για μέτρηση φλαβονοειδών (με σειρά από αριστερά προς τα δεξιά από το τυφλό προς το πλουσιότερο σε φλαβονοειδή δείγμα).	42
Εικόνα 10 Ενδεικτική απεικόνιση αποχρωματισμού δειγμάτων εκχυλίσματος φύλλων τομάτας που αναμίχθηκαν με το DPPH.	42
Εικόνα 11. Διάταξη ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας (αριστερά) και πείραμα σε λειτουργία (δεξιά).	56
Εικόνα 12 Δομές ζείνης με χρήση διαλύτη 90/10 Αιθανόλη-Νερό σε συγκεντρώσεις α) 10% (w/v), β) 20% (w/v) και γ) 30% (w/v) στις ίδιες λειτουργικές παραμέτρους: 0,3 mL/h, 27 kV και 15 cm. Κλίμακα 5 μm.	78
Εικόνα 13 Απεικόνιση SEM των δομών ζείνης μέσω της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας για α) ροή: 0,3 mL/h, εφαρμοζόμενη τάση: 25 kV, απόσταση: 15 cm και συγκέντρωση πρωτεΐνης 10% w/v και β) ροή: 1 mL/h, εφαρμοζόμενη τάση: 27 kV, απόσταση: 15 cm και συγκέντρωση πρωτεΐνης 30% w/v με χρήση διαφορετικών αναλογιών αιθανόλης: νερού ως μίγμα διαλυτών (60:40, 70:30, 80:20 και 90:10 (v/v)).	79
Εικόνα 14 Απεικόνιση SEM των δομών προερχόμενων από την ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία διαλυμάτων ζείνης α) 5% (w/v) και β) 20% (w/v) και παραμέτρους του οργάνου: ροή: α) 0,3 mL/h, β) 0,8 mL/h και κοινές τιμές απόστασης- τάσης: 12cm-25 kV.	87
Εικόνα 15 Απεικόνιση SEM των δομών ενθυλάκωσης του δεοξυχολικού οξέος μέσω α) του ηλεκτροστατικού ψεκασμού και β) της ξήρανσης με ψεκασμό για τις οποίες μετρήθηκε η μέγιστη απόδοση εγκλεισμού.	93
Εικόνα 16 Απεικόνιση SEM της παραμόρφωσης της δομής προϊόντων ενθυλάκωσης δεοξυχολικού οξέος σε μήτρα ζείνης από την ξήρανση με ψεκασμό, μετά από παραμονή 1 μήνα σε θαλάμους εξισορρόπησης υγρασίας με a_w : α) 0,53, β) 0,75 και γ) 0,95 στους 45°C.	98
Εικόνα 17 Απεικόνιση SEM των δομών ενθυλάκωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας μέσω α) της ηλεκτροστατικής ινοποίησης και β) της ξήρανσης με ψεκασμό για τις οποίες μετρήθηκε η μέγιστη απόδοση εγκλεισμού.	109
Εικόνα 18 Απεικόνιση SEM της κατάρρευσης της δομής προϊόντων ενθυλάκωσης εκχυλίσματος φύλλων τομάτας σε μήτρα ζείνης από την ξήρανση με ψεκασμό, μετά από παραμονή 1 μήνα σε θαλάμους εξισορρόπησης υγρασίας με a_w : α) 0,53, β) 0,75 και γ) 0,95.	113
Εικόνα 19 Παρασκευή καλλυντικής κρέμας.	135
Εικόνα 20 Συσκευή δυναμικής μηχανικής ανάλυσης (DMA).	136
Εικόνα 21 Απαγωγός μικροβιολογίας (NÜVE MN 090 Microbiological Safety Cabinet).	138

Εικόνα 22 Προετοιμασία για μικροβιολογική ανάλυση με χρήση Compact Dry.	139
Εικόνα 23 Τομάτες cherry συσκευασμένες σε απλό φιλμ λεπτού υμενίου και σε φιλμ με επικάλυψη με νανοΐνες με ενθουλακωμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας.	142
Εικόνα 24 Ενδεικτική απεικόνιση της κρέμας με τα νανοσωματίδια δεοξυχολικού οξέος μετά την παραγωγή (αριστερά) και μετά από 3 μήνες παραμονής στους 45 °C (δεξιά).	144
Εικόνα 25 Απεικόνιση SEM των νανοϊνών ζεΐνης με το ενθουλακωμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας α) πριν και β) μετά το post-treatment.	152
Εικόνα 26 Προετοιμασία δειγμάτων τομάτας για μικροβιακή ανάλυση με ειδικά δισκία Compact Dry.	158
Εικόνα 27 Ενδεικτική απεικόνιση τομάτων που είχαν αποθηκευτεί χωρίς συσκευασία, σε συσκευασία απλού φιλμ πολυπροπυλενίου και σε φιλμ με επικάλυψη νανοϊνών με εγκλεισμένα βιοδραστικά στους 45 ° C για 4 ημέρες.	160
Εικόνα 28 Διάγραμμα ροής διεργασιών για την AKZ της κρέμας.	180
Εικόνα 29 Όρια του συστήματος για την μελέτη της παραγωγής και χρήσης των φιλμ.	186
Εικόνα 30 Διάγραμμα ροής των διεργασιών διαχείρισης των φύλλων τομάτας και συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη AKZ.	189

Περιεχόμενα Πινάκων

Πίνακας 1 Λειτουργικότητα μικρο- και νάνο- σωματιδίων αντίστοιχα.....	3
Πίνακας 2. Υλικά ανά κατηγορία που χρησιμοποιούνται ως μέσα εγκλεισμού.....	17
Πίνακας 3: Πρωτόκολλο εκχύλισης Soxhlet για όλα τα δείγματα.....	37
Πίνακας 4: Πρωτόκολλο εκχυλίσεων με υπερήχους και συνδυαστικά με υπερήχους-μικροκύματα	38
Πίνακας 5 Περιεχόμενο υπολειμμάτων καλλιέργειας τομάτας (φύλλα, βλαστοί) σε χλωροφύλλες a, b και ολικά καροτενοειδή.....	45
Πίνακας 6 Απόδοση εκχύλισης, ολικό φαινολικό φορτίο, ολικά φλαβονοειδή και αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων φύλλων και βλαστού τομάτας για τις διαφορετικές μεθόδους εκχύλισης που εφαρμόστηκαν.....	45
Πίνακας 7 Ανάλυση βέλτιστου εκχυλίσματος φύλλων τομάτας σε βιοδραστικά συστατικά ανά g αρχικής ξηρής πρώτης ύλης.....	49
Πίνακας 8 Συγκέντρωση διαλύματος και λειτουργικές παράμετροι της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας για τα μελετούμενα πολυμερή.....	54
Πίνακας 9 Συνθήκες ηλεκτροστατικού ψεκασμού για την παραγωγή σωματιδίων από ζεΐνη.....	57
Πίνακας 10 Πειραματικός σχεδιασμός για την παραλαβή σωματιδίων από ζεΐνη.....	57
Πίνακας 11 Συνθήκες ηλεκτροστατικής ινοποίησης για την παραγωγή ινών από ζεΐνη.....	58
Πίνακας 12 Πειραματικός σχεδιασμός για την παραλαβή σωματιδίων από ζεΐνη.....	58
Πίνακας 13 Συνθήκες ηλεκτροστατικού ψεκασμού για την ενθυλάκωση δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνη.....	60
Πίνακας 14 Πειραματικός σχεδιασμός για την ενθυλάκωση δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνη μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού.....	60
Πίνακας 15 Συνθήκες ηλεκτροστατικής ινοποίησης για την ενθυλάκωση εκχυλίσματος φύλλων τομάτας σε ζεΐνη.....	61
Πίνακας 16 Πειραματικός σχεδιασμός της ενθυλάκωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας σε ζεΐνη μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης.....	61
Πίνακας 17 Συνθήκες της ξήρανσης με ψεκασμό για την ενθυλάκωση δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνη....	63
Πίνακας 18 Πειραματικός σχεδιασμός για την ενθυλάκωση δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνη μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό.....	63
Πίνακας 19 Συνθήκες της ξήρανσης με ψεκασμό για την ενθυλάκωση εκχυλίσματος φύλλων τομάτας σε ζεΐνη.....	64
Πίνακας 20 Πειραματικός σχεδιασμός για την ενθυλάκωση εκχυλίσματος φύλλων τομάτας σε ζεΐνη μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό.....	64
Πίνακας 21 Χαρακτηριστικά διαλυμάτων διαφορετικών φυσικών πολυμερών και συνθήκες λειτουργίας της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας για την παραλαβή προϊόντος από αυτά.....	77
Πίνακας 22 Ανάλυση διακύμανσης της επιφάνειας απόκρισης της απόδοσης εγκλεισμού του δεοξυχολικού οξέος μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού.....	89
Πίνακας 23 Ανάλυση διακύμανσης της επιφάνειας απόκρισης της απόδοσης εγκλεισμού του δεοξυχολικού οξέος μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό.....	91
Πίνακας 24 Εκτιμώμενες τιμές των σταθερών της εξίσωσης Gordon-Taylor για τα σωματίδια εγκλεισμού δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνη μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό, σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες (25, 45°C) (καλύτερη προσαρμογή).....	99
Πίνακας 25 Προσαρμογή των δεδομένων απελευθέρωσης του δεοξυχολικού οξέος σε κινητικά μοντέλα.....	101
Πίνακας 26 Ανάλυση διακύμανσης της επιφάνειας απόκρισης της απόδοσης εγκλεισμού του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης.....	105
Πίνακας 27 Ανάλυση διακύμανσης της επιφάνειας απόκρισης της απόδοσης εγκλεισμού του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό.....	107

Πίνακας 28 Εκτιμώμενες τιμές των σταθερών της εξίσωσης Gordon-Taylor για τα σωματίδια εγκλεισμού δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνη μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό, σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες (25, 45°C) (καλύτερη προσαρμογή).....	114
Πίνακας 29 Προσαρμογή των δεδομένων απελευθέρωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας σε κινητικά μοντέλα.	116
Πίνακας 30 Κατανομή των προϊόντων ενθυλάκωσης με βάση την απόδοση εγκλεισμού.....	122
Πίνακας 31 Κατανομή των προϊόντων ενθυλάκωσης με βάση τον ρυθμό απελευθέρωσης των βιοδραστικών συστατικών.	123
Πίνακας 32 Συνταγή για την παρασκευή γαλακτώματος τύπου έλαιο σε νερό (O/W).....	135
Πίνακας 33 Τρυβλία Compact Dry και οι προδιαγραφές χρήσης τους.....	137
Πίνακας 34 Ποιοτικά χαρακτηριστικά καλλυντικής κρέμας με τα νανοσωματίδια ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνη μία ημέρα μετά την παρασκευή.	144
Πίνακας 35 Διαμόρφωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών της καλλυντικής κρέμας χωρίς βιοδραστικό (Α) και με τα νανοσωματίδια ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνη (Β) μετά από αποθήκευσή τους σε διαφορετικές θερμοκρασίες για διάστημα 3 μηνών.....	144
Πίνακας 36. Μετρήσεις pH σε χρόνους t=0, 30, 60 και 90 ημέρες και θερμοκρασίες 5 °C, 25 °C, 37 °C και 45 °C.	149
Πίνακας 37 Αποτελέσματα μικροβιολογικής ανάλυσης κρεμών αποθηκευμένων στους 5 °C, 25 °C, 37 °C και 45 °C για διάστημα t=30 d.	150
Πίνακας 38 Αποτελέσματα μικροβιολογικής ανάλυσης κρεμών αποθηκευμένων στους 5 °C, 25 °C, 37 °C και 45 °C για διάστημα t=60 d.	151
Πίνακας 39 Αποτελέσματα μικροβιολογικής ανάλυσης κρεμών αποθηκευμένων στους 5 °C, 25 °C, 37 °C και 45 °C για διάστημα t=90 d.	151
Πίνακας 40 Μηχανικές ιδιότητες κοινού φιλμ λεπτού υμενίου και επικαλυμμένου με νανοΐνες ζεΐνης με το ενθυλακωμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης.	153
Πίνακας 41 Απεικόνιση της μικροβιακής κατάστασης (ως προς ζύμες/μούχλα και ολικό βακτηριακό φορτίο) για τομάτες συσκευασμένες σε απλό φιλμ PP και φιλμ με επικάλυψη νανοϊνών ενθυλακωμένου εκχυλίσματος φύλλων τομάτας, και αποθήκευσης σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες για 7 ημέρες.	159
Πίνακας 42 Συνηθέστερες κατηγορίες περιβαλλοντικών επιπτώσεων	176
Πίνακας 43 Παραδοχές της AKZ για τη μελέτη του καλλυντικού σκευάσματος.....	179
Πίνακας 44 Απογραφή δεδομένων της AKZ για τη μελέτη του καλλυντικού σκευάσματος	180
Πίνακας 45 Αξιολόγηση του κόστους παραγωγής καλλυντικής κρέμας με ενθυλακωμένο δεοξυχολικό οξύ σε μορφή νανοσωματιδίων.	183
Πίνακας 46 Παραδοχές AKZ για τη μελέτη.....	186
Πίνακας 47 Κατανομή των αποβλήτων τροφίμων στα κύρια στάδια της αλυσίδας εφοδιασμού.	188
Πίνακας 48 Απογραφή δεδομένων για τα Σενάρια α, β.....	188
Πίνακας 49 Αξιολόγηση κόστους παραγωγής φιλμ με επικάλυψη νανοϊνών ενθυλακωμένου εκχυλίσματος	193

Περιεχόμενα Σχημάτων

Σχήμα 1 Χρωματογράφημα εκχυλίσματος φύλλων τομάτας στα 360nm. Ανίχνευση του φλαβονοειδούς ρουτίνη.....	48
Σχήμα 2 Χρωματογράφημα εκχυλίσματος φύλλων τομάτας στα 445nm. Ανίχνευση του καροτενοειδούς λουτεΐνη (κορυφές 1-9 άλλες ενώσεις καροτενοειδών).	48
Σχήμα 3 Χρωματογράφημα εκχυλίσματος φύλλων τομάτας στα 232 nm. Ανίχνευση των γλυκοαλκαλοειδών τοματίνη και τοματιδίνη.....	48
Σχήμα 4 Ιδιότητες διαλυμάτων ζεΐνης για διαφορετικές αναλογίες αιθανόλης: νερού ως μίγμα διαλυτών.....	81
Σχήμα 5 Επίδραση της ροής του διαλύματος, της εφαρμοζόμενης τάσης, της συγκέντρωσης της ζεΐνης και της απόστασης του ακροφυσίου από το συλλέκτη, στη διάμετρο των παραγόμενων ιών μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης.....	84
Σχήμα 6 Επίδραση της ροής του διαλύματος, της εφαρμοζόμενης τάσης, της συγκέντρωσης της ζεΐνης και της απόστασης του ακροφυσίου από το συλλέκτη, στη διάμετρο των παραγόμενων ιών μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης.....	85
Σχήμα 7 Απεικόνιση διαγραμμάτων LC-MS αιθανολικών διαλυμάτων δεοξυχολικού οξέος διαφορετικών συγκεντρώσεων (10-100 ppm) συγκριτικά με υπερκείμενο υγρό της έκπλυσης προϊόντος ενθυλάκωσης δεοξυχολικού οξέος μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού (SAMPLE).	88
Σχήμα 8 Γραφήματα αποκριτικών επιφανειών για την απόδοση εγκλεισμού του δεοξυχολικού οξέος (AE%) σε μήτρα ζεΐνη μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού: α) Ροή διαλύματος έναντι συγκέντρωσης συστατικού, β) Ροή διαλύματος έναντι εφαρμοζόμενης τάσης και γ) Εφαρμοζόμενη τάση έναντι συγκέντρωσης συστατικού.....	90
Σχήμα 9 Γραφήματα αποκριτικών επιφανειών για την απόδοση εγκλεισμού του δεοξυχολικού οξέος (AE%) σε μήτρα ζεΐνη μέσω της ξήρανσης με ψεκασμού: α) Ροή διαλύματος έναντι συγκέντρωσης συστατικού, β) Συγκέντρωση συστατικού έναντι θερμοκρασίας εισόδου και γ) Ροή διαλύματος έναντι θερμοκρασίας εισόδου.....	92
Σχήμα 10 Φάσματα ATR-FTIR α) για όλα τα εύρος κυματαριθμών και β) στην περιοχή απορρόφησης του αμιδίου I και II, για τη ZN χωρίς συστατικό σε σχέση με τα προϊόντα ενθυλάκωσης μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού (EL ZN-DCA) και της ξήρανσης με ψεκασμό (SP ZN-DCA).....	94
Σχήμα 11 Απεικόνιση του σημείου υαλώδους μετάπτωσης μέσω της μεθόδου DSC για την ακατέργαστη ζεΐνη και τα νανοσωματίδια με το εγκλεισμένο δεοξυχολικό οξύ πριν και μετά την παραμονή σε θαλάμους εξισορρόπησης υγρασίας α) στους 25°C και β) στους 45°C.	96
Σχήμα 12 Επίδραση της περιεχόμενης υγρασίας στη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης των σωματιδίων εγκλεισμένου δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνης μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες, 25 °C (α) και 45 °C (β). Οι συμπαγείς γραμμές απεικονίζουν τα γραφήματα Gordon-Taylor των πειραματικών δεδομένων.....	99
Σχήμα 13 Προσαρμογή των δεδομένων προσρόφησης υγρασίας των δειγμάτων στα κυριότερα μοντέλα ισόθερων ρόφησης.....	100
Σχήμα 14 Ρυθμός απελευθέρωσης των προϊόντων ενθυλάκωσης του δεοξυχολικού οξέος από μήτρα ζεΐνη λόγω διασποράς των σωματιδίων σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων με pH=5,5, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.	101
Σχήμα 15 Προσαρμογή του ρυθμού απελευθέρωσης του δεοξυχολικού οξέος στο μοντέλο Higuchi. .	102
Σχήμα 16 Διαγραμματική απεικόνιση της απελευθέρωσης του δεοξυχολικού οξέος από τις δομές του ηλεκτροστατικού ψεκασμού και της ξήρανσης με ψεκασμό λόγω παραμονής σε θαλάμους εξισορρόπησης υγρασίας με ενεργότητες $a_w=0,11, 0,33, 0,53, 0,75$ και $0,95$ και θερμοκρασία παραμονής 25 και 45 °C.	103

Σχήμα 17 Γραφήματα αποκριτικών επιφανειών για την απόδοση εγκλεισμού του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας (AE%) σε μήτρα ζεΐνη μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης: α) Ροή διαλύματος έναντι συγκέντρωσης συστατικού, β) Ροή διαλύματος έναντι εφαρμοζόμενης τάσης, γ) Ροή διαλύματος έναντι απόστασης ακροφυσίου-συλλέκτη και δ) Συγκέντρωση συστατικού έναντι εφαρμοζόμενης τάσης....	106
Σχήμα 18 Γραφήματα αποκριτικών επιφανειών για την απόδοση εγκλεισμού του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας (AE%) σε μήτρα ζεΐνη μέσω της ξήρανσης με ψεκασμού: α) Ροή τροφοδοσίας έναντι συγκέντρωσης συστατικού, β) Ροή τροφοδοσίας έναντι θερμοκρασίας εισόδου και γ) Συγκέντρωση συστατικού έναντι θερμοκρασίας εισόδου.....	108
Σχήμα 19 Φάσματα ATR-FTIR α) για όλα τα εύρος κυματαριθμών και β) στην περιοχή απορρόφησης του αμιδίου I και II, για τη ZN χωρίς συστατικό σε σχέση με τα προϊόντα ενθυλάκωσης μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης (EL ZN-Εκχ. Φύλλων τομάτας) και της ξήρανσης με ψεκασμό (SP ZN-Εκχ. Φύλλων τομάτας).	110
Σχήμα 20 Απεικόνιση του σημείου υαλώδους μετάπτωσης μέσω της μεθόδου DSC για την ακατέργαστη ζεΐνη και τα νανοσωματίδια με το εγκλεισμένο δεοξυχολικό οξύ πριν και μετά την παραμονή σε θαλάμους εξισορρόπησης υγρασίας α) στους 25 °C και β) στους 45 °C.	112
Σχήμα 21 Επίδραση της περιεχόμενης υγρασίας στη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης των σωματιδίων εγκλεισμένου εκχυλίσματος φύλλων τομάτας σε ζεΐνης μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες, 25 °C (α) και 45 °C (β). Οι συμπαγείς γραμμές απεικονίζουν τα γραφήματα Gordon-Taylor των πειραματικών δεδομένων.....	114
Σχήμα 22 Απεικόνιση περιεχόμενης υγρασίας των δειγμάτων για τα διαφορετικά περιβάλλοντα ενεργότητας νερού (a_w) όπου τοποθετήθηκαν.	115
Σχήμα 23 Ρυθμός απελευθέρωσης των προϊόντων ενθυλάκωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας από μήτρα ζεΐνη λόγω διασποράς τους σε διάλυμα οξικού οξέος 3% (v/v) σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.....	116
Σχήμα 24 Προσαρμογή των δεδομένων απελευθέρωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας στο μοντέλο Korsmeyer-Peppas.....	118
Σχήμα 25 Διαγραμματική απεικόνιση της απελευθέρωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας από τις δομές της ηλεκτροστατικής ινοποίησης και της ξήρανσης με ψεκασμό λόγω παραμονής σε θαλάμους εξισορρόπησης υγρασίας με ενεργότητες $a_w=0,11, 0,33, 0,53, 0,75$ και $0,95$ και θερμοκρασία παραμονής 25 και 45 °C.	119
Σχήμα 26 Σχηματική απεικόνιση των πειραματικών δοκιμών που πραγματοποιήθηκαν για την παραλαβή των βέλτιστων προϊόντων ενθυλάκωσης του δεοξυχολικού οξέος και του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας.....	124
Σχήμα 27 Απεικόνιση του σύνθετου ιξώδους η^* και των μέτρων αποθήκευσης G' και απώλειας G'' για καλλυντική κρέμα βάση (A) και την ίδια καλλυντική κρέμα μετά από ενσωμάτωση του ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος (B) για όλο το εύρος γωνιακών συχνοτήτων ω σε χρόνο μηδέν.....	146
Σχήμα 28 Σύνθετο ιξώδες σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την καλλυντική κρέμα βάση (A) και την ίδια κρέμα με τα ενσωματωμένα νανοσωματίδια ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος στις διαφορετικές θερμοκρασίες και χρόνους αποθήκευσης.	148
Σχήμα 29 Απεικόνιση της μεταβολής χρώματος ΔE της καλλυντικής κρέμας βάση (A) και της κρέμας με το ενθυλακωμένο δεοξυχολικό οξύ (B) κατά την αποθήκευση σε θερμοκρασίες 5, 25, 37 και 45 °C για διάστημα 3 μηνών.	150
Σχήμα 30 Απεικόνιση της μεταβολής του pH των τομάτων κατά την αποθήκευσή τους στα μελετώμενα φιλμ σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες.	154
Σχήμα 31 Απεικόνιση της χρωματικής διαφοράς ΔE με βάση το σύστημα CIELab των τομάτων κατά την αποθήκευσή τους στα μελετώμενα φιλμ και σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες σε σχέση με το χρώμα τους σε χρόνο μηδέν.....	155

Σχήμα 32 Απεικόνιση της % απώλειας βάρους των τομάτων κατά την αποθήκευσή τους στα μελετώμενα φιλμ σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες.	157
Σχήμα 33 Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου των δειγμάτων τομάτας που συσκευάστηκαν σε απλό φιλμ PP στους 5 °C.....	161
Σχήμα 34 Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου των δειγμάτων τομάτας που συσκευάστηκαν σε απλό φιλμ PP σε θερμοκρασία δωματίου.....	162
Σχήμα 35 Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου των δειγμάτων τομάτας που συσκευάστηκαν σε απλό φιλμ PP στους 45 °C.....	163
Σχήμα 36 Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου των δειγμάτων τομάτας που συσκευάστηκαν σε επικαλυμμένο φιλμ PP με νανοΐνες βιοδραστικών συστατικών στους 5 °C.....	164
Σχήμα 37 Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου των δειγμάτων τομάτας που συσκευάστηκαν σε επικαλυμμένο φιλμ PP με νανοΐνες βιοδραστικών συστατικών σε θερμοκρασία δωματίου.	165
Σχήμα 38 Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου των δειγμάτων τομάτας που συσκευάστηκαν σε επικαλυμμένο φιλμ PP με νανοΐνες βιοδραστικών συστατικών στους 45 °C.....	166
Σχήμα 39 Τα τέσσερα στάδια της μεθοδολογίας AKZ με βάση το πρότυπο ISO 14040:2006.	174
Σχήμα 40 Συγκριτική απεικόνιση περιβαλλοντικών επιπτώσεων μεταξύ της παραγωγής καλλυντικής κρέμας χωρίς και με το ενθυλακωμένο DCA.....	181
Σχήμα 41 Συμβολή των διαφορετικών ροών της διεργασίας παραγωγής καλλυντικής κρέμας βάσης σε κάθε μία από τις κατηγορίες επιπτώσεων.	182
Σχήμα 42 Συμβολή των διαφορετικών ροών της διεργασίας παραγωγής του ενθυλακωμένου DCA σε κάθε μία από τις κατηγορίες επιπτώσεων.	182
Σχήμα 43 Συγκριτική απεικόνιση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων του σεναρίου β που μελετήθηκε σε σχέση με το Σενάριο α.	190
Σχήμα 44 Συνολικά κανονικοποιημένα αποτελέσματα ανά σενάριο για τα στάδια της αλυσίδας εφοδιασμού, συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής ταινιών.	190
Σχήμα 45 Συμβολή των ομαδοποιημένων σταδίων ανά κατηγορία επιπτώσεων για τα Σενάρια α (Σ α) και β (Σ β).	192

1 Θεωρητικό Μέρος

1.1 Ενθυλάκωση

1.1.1 Ορισμός και οφέλη ενθυλάκωσης

Η ενθυλάκωση ορίζεται ως μία διαδικασία σχηματισμού σχετικά λεπτών επικαλύψεων (μήτρα ή πολυμερικό κάλυμμα-κέλυφος) γύρω από μια ουσία που μπορεί να είναι στερεή, υγρή ή ακόμα και αέρια, οι οποίες αναστέλλουν τις χημικές αλληλεπιδράσεις, προστατεύουν από τις επιπτώσεις περιβαλλοντικών παραγόντων (π.χ. θερμοκρασία, pH, ένζυμα και οξυγόνο) και επιτρέπουν την ελεγχόμενη απελευθέρωση του δραστικού συστατικού υπό ορισμένες συνθήκες (Dias, Botrel et al. 2017). Με βάση, δε, το μέγεθος των παραγόμενων σωματιδίων, η διαδικασία μπορεί να χαρακτηριστεί ως μικρο- ή νανο-ενθυλάκωση. Η ενθυλάκωση διαχωρίζει τα ενθυλακωμένα υλικά, γνωστά και ως υλικά πυρήνα, από το περιβάλλον τους με τη βοήθεια ενός υλικού επικάλυψης (κέλυφος), συνήθως ένα πολυμερές. Έτσι, παρέχεται προστασία του υλικού του πυρήνα και ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του και την επιδιωκόμενη εφαρμογή, προσφέρεται κάλυψη χρώματος, οσμής ή/και γεύσης, προστασία από τη θερμότητα κ.α. Ως αποτέλεσμα, η εν λόγω τεχνολογία έχει γίνει απαραίτητη σε διάφορους κλάδους, συμπεριλαμβανομένων των φαρμακευτικών, καλλυντικών, γεωργικών προϊόντων και προϊόντων διατροφής (Pachuaui, Laldinchhana et al. 2021).

Η ενθυλάκωση είναι μία από τις τεχνικές που μπορεί να εφαρμοστεί για την ενίσχυση της βιοδιαθεσιμότητας, της διαλυτότητας, της διασποράς, της σταθερότητας και της ελεγχόμενης αποδέσμευσης των βιοδραστικών ενώσεων (Gómez-Estaca, Gavara et al. 2015, Li, Jiang et al. 2015). Έχουν εφαρμοστεί πολυάριθμες μέθοδοι για την ενθυλάκωση διαφόρων φυσικών βιοδραστικών ενώσεων χρησιμοποιώντας ένα ευρύ φάσμα υλικών επικάλυψης όπως λιπίδια, φυσικά και συνθετικά πολυμερή (Oehlke, Behsnilian et al. 2017, Shishir, Xie et al. 2018, de Oliveira, Fraceto et al. 2021, Zobot, Schaefer Rodrigues et al. 2022). Η επιλογή των υλικών που συνιστούν το περίβλημα είναι κρίσιμη καθώς το μέγεθος, το σχήμα και η σταθερότητα του τελικού ενθυλακωμένου προϊόντος αλλά και τα χαρακτηριστικά απελευθέρωσης του υλικού πυρήνα καθορίζονται σε μεγάλο βαθμό από τον τύπο και την ποσότητα των υλικών επικάλυψης που χρησιμοποιούνται (Dias, Botrel et al. 2017). Ποικιλία φυσικών ή συνθετικών πολυμερών που πληρούν τις απαιτήσεις ασφάλειας κυβερνητικών φορέων, όπως η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) και η Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων (EFSA) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ενθυλάκωση συστατικών τροφίμων και φυτικών προϊόντων. Πολυμερή όπως πολυσακχαρίτες, μαλτοδεξτρίνη, αραβικό κόμμι, τροποποιημένο άμυλο και χιτοζάνη, καθώς και μείγματα αυτών επιλέγονται συχνά ως μήτρες ή φορείς ενθυλάκωσης (Abdul Mudalip, Khatiman et al. 2021).

Ιστορική Αναδρομή

Η χρήση της μεθόδου της ξήρανσης με ψεκασμό, η παλαιότερη σκέψη της μικροενθυλάκωσης - η οποία περιέχει ή κρατά ένα συστατικό παγιδευμένο μέσα σε ένα κέλυφος - χρονολογείται πιθανώς από τη δεκαετία του 1930 (Cheng 2008). Ειδικότερα, η γέννηση της τεχνολογίας της ενθυλάκωσης μπορεί να χρονολογηθεί από την αναφορά του Vincenzo Bisceglie το 1934 που περιγράφει την πρώτη προσπάθεια ενθυλάκωσης καρκινικών κυττάρων σε ένα πολυμερές και τη μεταμόσχευση των καψουλών στην κοιλιακή κοιλότητα ενός χοίρου (Bisceglie 1934). Η πρώτη, ωστόσο, ουσιαστική χρήση της τεχνολογίας ενθυλάκωσης δεν έγινε μέχρι τη δεκαετία του 1950, όταν ο Barrett Green της National Cash Register Company δημιούργησε μια εξελιγμένη μέθοδο συσσωμάτωσης (coacervation) για τη δημιουργία αυτογραφικού χαρτιού αντιγραφής. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε ένα νέο σύστημα εκτύπωσης το οποίο ενσωμάτωσε μια άχρωμη βαφή μέσα στις ελαιώδεις φάσεις και επικάλυψε ένα δεύτερο φύλλο χαρτιού με όξινο πηλό. Έκτοτε, η Eurand America με έδρα τις ΗΠΑ απέκτησε τα δικαιώματα ώστε να αναπτύξει και στη συνέχεια να εμπορευτεί την τεχνολογία μικροενθυλάκωσης για όλες τις νέες εφαρμογές. Από τότε και στο εξής αναπτύχθηκαν τεχνικές μικροενθυλάκωσης από πολλές εταιρείες με την ευέλικτη τεχνική “μικροσυσκευασίας” να βρίσκει εφαρμογή σε ένα ευρύ φάσμα πεδίων, συμπεριλαμβανομένης της φαρμακευτικής, των χημικών, γεωργικών προϊόντων, της επεξεργασίας τροφίμων, καλλυντικών και των βιομηχανικών καλλωπισμού (Cheng, Yuen et al. 2009).

1.1.2 Μέθοδοι ενθυλάκωσης

Το πρώτο βήμα για την πραγματοποίηση της ενθυλάκωσης ενός συστατικού ενδιαφέροντος, είναι η επιλογή της μεθόδου. Αυτή θα καθοριστεί κατά κύριο λόγο από την επιθυμητή εφαρμογή του τελικού προϊόντος και τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του βιοδραστικού συστατικού και με τη σειρά της θα καθορίσει και την επιλογή του φορέα ενθυλάκωσης. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι η κουρκουμίνη παρουσιάζει καλή ενθυλάκωση σε λιπίδια μέσω γαλακτωματοποίησης (Aditya, Aditya et al. 2015), σε ζείνη μέσω καταβύθισης (Dai, Sun et al. 2017) και σε ζελατίνη μέσω της ηλεκτροστατικής ισοποίησης (Deng, Kang et al. 2017). Χρησιμοποιώντας διαφορετική τεχνολογία και υλικά μπορούν να προκύψουν σωματίδια διαφορετικών ιδιοτήτων. Ειδικότερα η ενθυλάκωση περιλαμβάνει τη δημιουργία μικροσωματιδίων (1-1000 μm), submicron (αρκετές χιλιάδες νανόμετρα έως λιγότερο του ενός μικρομέτρου) και νανοσωματιδίων (1 έως μερικές χιλιάδες νανόμετρα) που μπορούν να παραχθούν μέσω μεθόδων μικρο και νανοενθυλάκωσης, αντίστοιχα. Τα νανοσωματίδια παρουσιάζουν μεγαλύτερο επιφάνεια, ενισχύοντας την διαλυτότητάς και κατά συνέπεια τη βιοδιαθεσιμότητά τους και παρατεταμένη απελευθέρωση των βιοδραστικών συγκριτικά με τα μικροσωματίδια προσφέροντας πιο στοχευμένη δράση (de Souza Simões,

Madalena et al. 2017, Shishir, Xie et al. 2018). Στον ακόλουθο πίνακα συνοψίζεται η λειτουργικότητα των μικρο- και νάνο- σωματιδίων.

Πίνακας 1 Λειτουργικότητα μικρο- και νάνο- σωματιδίων αντίστοιχα.

Λειτουργικότητα μικροσωματιδίων	Λειτουργικότητα νανοσωματιδίων
Προστασία βιοδραστικών συστατικών	Μείωση μεγέθους- στενή κατανομή μεγεθών σωματιδίων
Ελεγχόμενη αποδέσμευση	Μεγάλη επιφάνεια
Κάλυψη δυσάρεστων οσμών	Ενίσχυση της ικανότητας μεταφοράς βιοδραστικών συστατικών
Βελτίωση ρεολογικών ιδιοτήτων	Ενίσχυση βιοδιαθεσιμότητας
Αύξηση διάρκειας ζωής	Ενίσχυση φυσικής σταθερότητας και επιμήκυνση χρόνου ζωής
	Στοχευμένη δράση λόγω εύκολης διείσδυσης

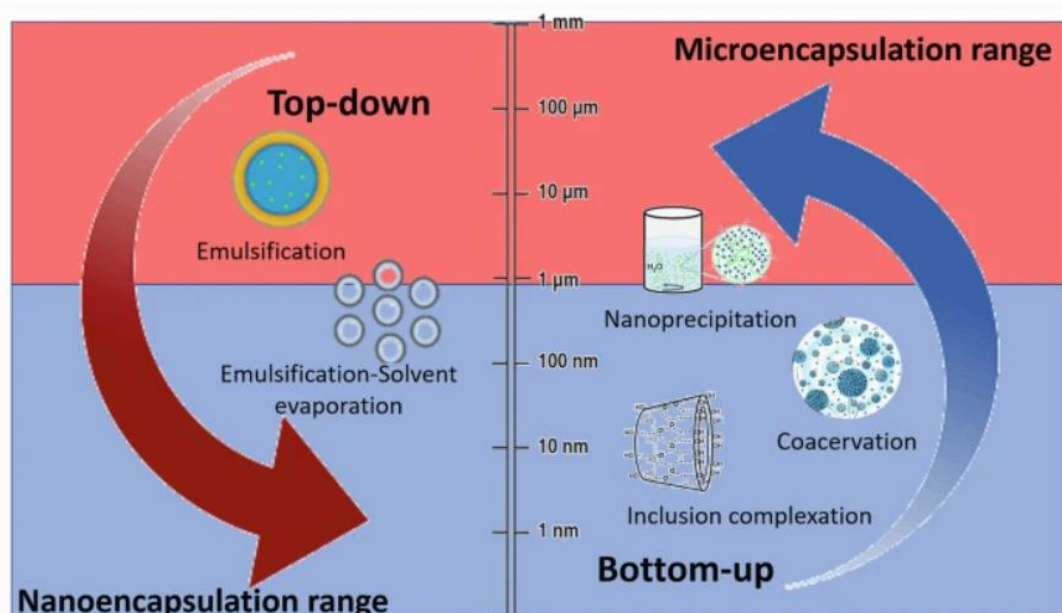
Γίνεται αντιληπτό ότι, παρόλο που υπάρχουν πολλές τεχνολογίες ενθυλάκωσης που μπορούν να χρησιμοποιηθούν, καμία μέθοδος δεν είναι κατάλληλη για όλα τα υλικά πυρήνα και επικάλυψης στα διαφορετικά συστήματα ενθυλάκωσης (Aguiar, Estevinho et al. 2016, de Souza Simões, Madalena et al. 2017). Οι κύριες παράμετροι που θα πρέπει να ληφθούν υπόψη για την επιλογή της κατάλληλης τεχνικής σε κάθε περίπτωση είναι: οι φυσικοχημικές ιδιότητες τόσο των υλικών του πυρήνα όσο και του τοιχώματος, η προτεινόμενη εφαρμογή του ενθυλακωμένου συστατικού και το απαιτούμενο κόστος (Aguiar, Estevinho et al. 2016).

Η ταξινόμηση των τεχνικών ενθυλάκωσης μπορεί να γίνει σε δύο διαφορετικές κατευθύνσεις:

1. Με βάση το μέγεθος και το σχήμα:

Σε αυτήν την περίπτωση, οι μέθοδοι μπορούν να διαχωριστούν σε "από πάνω προς τα κάτω" και "από κάτω προς τα πάνω" (Joye and McClements 2014). Οι τεχνικές «από πάνω – κάτω» περιλαμβάνουν τη μετατροπή μεγάλων υλικών σε μικρότερα χρησιμοποιώντας εξωτερικές μηχανικές δυνάμεις για να διαταραχθεί η δομή τους και να μειωθεί το μέγεθός τους. Αυτές οι τεχνικές παρέχουν ήπιες διεργασίες και δυνατότητα εφαρμογής τόσο σε υδρόφιλες όσο και σε υδρόφοβες ουσίες. Ωστόσο, το υψηλό κόστος (ανάγκη για εξελιγμένο εξοπλισμό), η δυσκολία απόκτησης του επιθυμητού μεγέθους και δομής σωματιδίων και ότι επιτρέπουν τη χρήση περιορισμένου αριθμού μητρών, τις καθιστούν λιγότερο «ευέλικτες». Αυτή η προσέγγιση περιλαμβάνει τη γαλακτωματοποίηση, την εξάτμιση διαλύτη, τη φυγοκεντρική εκβολή και τον ηλεκτροστατικό ψεκασμό (electrospraying) (Jia, Dumont et al. 2016).

Αντίθετα, οι τεχνικές «από κάτω προς τα πάνω» περιλαμβάνουν την οργάνωση μορίων ή μικρών σωματιδίων σε μεγαλύτερες δομές μέσω αυτοσυναρμολόγησης και αυτοοργάνωσης. Αυτές οι τεχνολογίες είναι συνήθως απλές, απαιτούν μικρότερη κατανάλωση ενέργειας και προσφέρουν καλύτερο έλεγχο του μεγέθους και της μορφολογίας των σωματιδίων σε σύγκριση με τις τεχνικές «από πάνω προς τα κάτω». Ωστόσο, ορισμένες από αυτές μπορεί να επηρεάζονται από τη θερμοκρασία, το pH, τη συγκέντρωση κ.λπ., επομένως μπορεί να μην είναι κατάλληλες για όλες τις βιοδραστικές ενώσεις και να χρήζουν ειδικής μεταχείρισης. Μερικές από τις τεχνικές που περιλαμβάνει αυτή η προσέγγιση είναι η ξήρανση με ψεκασμό, η ξήρανση υπό κατάψυξη, τεχνικές σχηματισμού συμπλόκων εγκλεισμού (inclusion complex), τεχνικές όπου συμμετέχουν κολλοειδή διαλύματα (coacervation) και η ηλεκτροστατική ινοποίηση (electrospinning) (Jia, Dumont et al. 2016, Shishir, Xie et al. 2018).



Εικόνα 1. "Από πάνω προς τα κάτω και "Από κάτω προς τα πάνω" προσεγγίσεις της τεχνολογίας νανοεγκλεισμού (Προσαρμογή από (Ezhilarasi, Karthik et al. 2013)).

2. Με βάση την αρχή λειτουργίας της μεθόδου ενθυλάκωσης:

Σε αυτήν την περίπτωση, οι τεχνολογίες ενθυλάκωσης μπορούν να χωριστούν σε: χημικές, φυσικοχημικές και φυσικο-μηχανικές διεργασίες, οι σημαντικότερες από τις οποίες φαίνονται παρακάτω (Ghosh 2006, Jaskulski, Kharaghani et al. 2017):

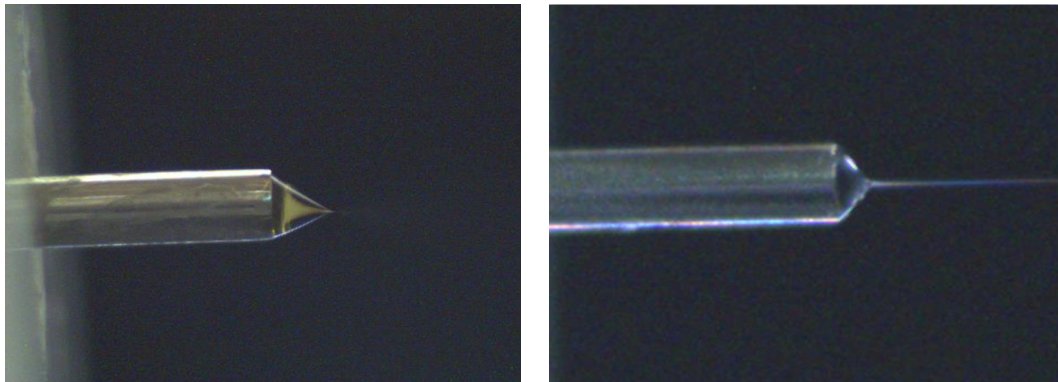
- Χημικές μέθοδοι: πολυμερισμός γαλακτώματος, διεπιφανειακός πολυμερισμός, πολυσυμπύκνωση, επί τόπου πολυμερισμός
- Φυσικές/Φυσικοχημικές μέθοδοι: ιοντοτροπική ζελατινοποίηση, διαχωρισμός φάσης, συνένωση, μέθοδος λύματος-πηκτής (sol-gel)

- Φυσικο-μηχανικές μέθοδοι: επικάλυψη σε ρευστοποιημένη κλίνη υπό υπερκρίσιμες συνθήκες, επικάλυψη σε τύμπανο, ξήρανση με ψεκασμό/ψύξη, ξήρανση υπό κατάψυξη, ηλεκτροστατική ινοποίηση/ηλεκτροστατικός ψεκασμός

1.1.2.1 Ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία

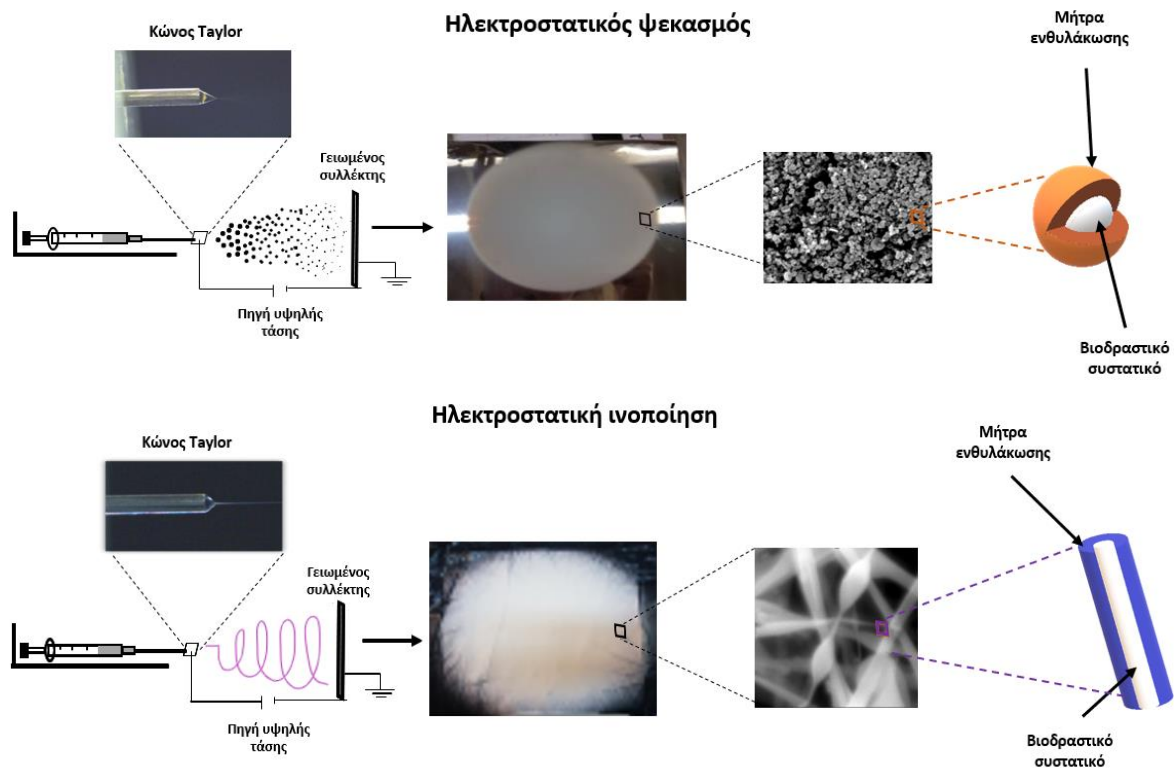
Αρχή λειτουργίας και διάταξη διεργασίας

Η αρχή λειτουργίας της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας είναι οι ισχυρές ηλεκτροστατικές δυνάμεις που ασκούνται από μια πηγή υψηλής τάσης (0-30 kV), μεταξύ του σταγονιδίου ενός διαλύματος πολυμερούς που συγκρατείται στην άκρη ενός τριχοειδούς σωλήνα από ανοξείδωτο χάλυβα και ενός γειωμένου συλλέκτη (επίπεδος ή κυλινδρικός) του ίδιου υλικού. Καθώς το ηλεκτροστατικό πεδίο αυξάνεται, το σχήμα του σταγονιδίου αρχίζει να παραμορφώνεται με τις ηλεκτροστατικές δυνάμεις να ανταγωνίζονται την επιφανειακή τάση και σε μια τάση κατωφλίου το σχήμα γίνεται κωνικό, σχηματίζοντας τον λεγόμενο κώνο Taylor (Jaworek 2007, Drosou, Krokida et al. 2017). Η διαμόρφωση αυτή περιεγράφηκε για πρώτη φορά από τον Sir Geoffrey Ingram Taylor το 1964 πριν από την ανακάλυψη της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας, λόγω του ενδιαφέροντος του Taylor για τη συμπεριφορά των σταγόνων ύδατος υπό την επίδραση ισχυρών ηλεκτρικών πεδίων (Taylor 1964). Πάνω από αυτήν την κρίσιμη τάση όπου πραγματοποιείται ο σταθερός σχηματισμός του κώνου Taylor ξεκινά η εκτόξευση ενός υγρού πίδακα. Στην περίπτωση ισχυρών μοριακών διασυνδέσεων στις αλυσίδες του πολυμερούς, ο πίδακας δε διασπάται και πραγματοποιείται η διεργασία της ηλεκτροστατικής ινοποίησης (electrospinning) όπου στο συλλέκτη λαμβάνονται ίνες. Στην περίπτωση, ωστόσο, διαλυμάτων με χαμηλή συγκέντρωση, ο πίδακας μπορεί να αποσταθεροποιηθεί σχηματίζοντας λεπτά, φορτισμένα σταγονίδια οπότε και πραγματοποιείται η διεργασία του ηλεκτροστατικού ψεκασμού (electrospraying). Στο δρόμο προς τον συλλέκτη, η εξάτμιση του διαλύτη και η επιμήκυνση του πίδακα ή των φορτισμένων σταγονιδίων οδηγούν σε ένα στερεό προϊόν που αποτελείται από μικρο-νανοΐνες ή σωματίδια, αντίστοιχα. Οι παράμετροι αυτής της διαδικασίας είναι η εφαρμοζόμενη τάση, ο ρυθμός ροής του/των διαλυμάτων, η απόσταση κεφαλής- συλλέκτη, το ιξώδες και η συγκέντρωση των διαλυμάτων (Jacobsen, García-Moreno et al. 2018).



Εικόνα 2 Σχηματισμός κώνου Taylor κατά τον ηλεκτροστατικό ψεκασμό (αριστερά) και την ηλεκτροστατική ινοποίηση (δεξιά).

Η σημαντική καινοτομία αυτής της τεχνολογίας είναι ότι μπορεί να εκτελεστεί σε δύο διαφορετικές διαμορφώσεις: την ομοαξονική και την μονοαξονική διαδικασία. Ειδικότερα, ανάλογα με τη φύση και την αναμιξιμότητα του υλικού του πυρήνα (βιοδραστικό συστατικό προς ενθυλάκωση) με το υλικό του τοιχώματος (πολυμερική μήτρα), υπάρχει η δυνατότητα συνδιάλυσης τους σε κοινό διαλύτη κι έτσι διοχέτευση των δυο υλικών μέσω μιας ενιαίας πορείας προς το συλλέκτη (μονοαξονική προσέγγιση) ή εισαγωγή των δύο υλικών ξεχωριστά και συνάντησή τους κατευθείαν στην έξοδο του ακροφυσίου, μέσω δύο ομοαξονικών διαδρομών (ομοαξονική προσέγγιση) (Saifullah, Shishir et al. 2019). Είναι επίσης δυνατό να χρησιμοποιηθεί μια δομή πέντε ή περισσότερων ακροφυσίων τόσο για μονοαξονικές όσο και ομοαξονικές προσεγγίσεις, για τη συλλογή περισσότερου προϊόντος. Λόγω των εξαιρετικών ποιοτικών χαρακτηριστικών των προϊόντων της διεργασίας, το τελευταίο διάστημα αντικείμενο πολλών μελετών είναι η βελτιστοποίηση της χρήσης κεφαλής πολλαπλών ακροφυσίων ώστε να ενισχυθεί και η παραγωγικότητα της διεργασίας (SalehHudin, Mohamad et al. 2023). Η πολλαπλή κεφαλή παρουσιάζει ορισμένες δυσκολίες όπως την ύπαρξη ανενεργών ακροφυσίων λόγω διαταραχών του ηλεκτροστατικού πεδίου που αναπτύσσεται στους γειτονικούς πίδακες ή και σημαντικές αποκλίσεις λόγω της αλληλεπίδρασης των κοντινών φορτίων με συνέπεια τη συλλογή υγρών σταγονιδίων στο συλλέκτη ή τη συλλογή προϊόντων εκτός συλλέκτη (SalehHudin, Mohamad et al. 2021). Για το λόγο αυτό παρουσιάζονται νέες μελέτες για βελτιωμένες διατάξεις πολλαπλών ακροφυσίων και τεχνολογιών παρακολούθησης της λειτουργίας τους (Jiang, Zheng et al. 2020, Gao, Jiang et al. 2023, Jin, Yeom et al. 2023).



Εικόνα 3 Διατάξεις ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασία (ηλεκτροστατικός ψεκασμός και ηλεκτροστατική ινοποίηση).

Αξίζει να αναφερθεί ότι πριν την ανακάλυψη της ηλεκτροστατικής ινοποίησης, οι ερευνητές χρησιμοποιούσαν ήδη τον ηλεκτροστατικό ψεκασμό για τη διασπορά διαλυμάτων και αερολυμάτων με χρήση ηλεκτρικής ενέργειας (Zulkifli, Nordin et al. 2023).

Επιδράσεις παραμέτρων κατά την ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία

Η βασική προϋπόθεση για τη σωστή λειτουργία της διεργασίας, ξεκινά από την επιλογή της επιθυμητής προσέγγισης (ηλεκτροστατικός ψεκασμός ή ηλεκτροστατική ινοποίηση) που πρόκειται να μελετηθεί. Για το λόγο αυτό, πρέπει να εξεταστούν όλοι οι παράγοντες που συνδέονται: με το/τα διάλυμα/τα της τροφοδοσίας, τη διεργασία και το περιβάλλον στο οποίο διεξάγεται το πείραμα.

- **Συμπεριφορά διαλύματος κατά την ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία**

Οι κύριες παράμετροι που χαρακτηρίζουν το αερόλυμα που δημιουργείται κατά τη διεργασία αυτή είναι το μέγεθος των σταγονιδίων και το ηλεκτρικό φορτίο. Το 1882 ο Rayleigh υπολόγισε το μέγιστο φορτίο που μία σταγόνα μπορεί να φέρει και προέβλεψε ότι ξεπερνώντας το όριο αυτό η σταγόνα υγρού θα συμπεριφερθεί ως ένας πίδακας υγρού. Μία σταγόνα λέγεται ότι βρίσκεται στο όριο Rayleigh όταν το φορτίο της φτάσει σε μία τιμή Q_R που δίνεται από τη σχέση (Kopernmann 2009):

$$Q_R = 8\pi\sqrt{\epsilon_0\gamma R^3} \quad (1)$$

Όπου γ η επιφανειακή τάση, R η ακτίνα του σταγονιδίου και ϵ_0 η διαπερατότητα του κενού.

Τα σταγονίδια που παράγονται με ηλεκτροστατικό ψεκασμό έχουν μεγάλο φορτίο και εμφανίζουν τιμές συνήθως κοντά στο ήμισυ του ορίου Rayleigh. Σύμφωνα με τον Rayleigh, όταν η επιφανειακή φόρτιση των σωματιδίων φτάσει στο 50 με 80% του L_R η διάσπαση και η σχάση των φορτισμένων σταγονιδίων συμβαίνει λόγω των απωθήσεων Coulomb μεταξύ των φορτισμένων σταγονιδίων (Rayleigh 1882). Αντίστοιχα, ο μηχανισμός εκτόξευσης των σταγονιδίων φαίνεται να εξαρτάται από την αναλογία της ηλεκτρικής τάσης έναντι της επιφανειακής. Η ηλεκτροστατική απώθηση των φορτίων στον πίδακα τείνει να αυξήσει την επιφάνειά του. Από την άλλη, η επιφανειακή τάση τείνει να μειώσει τη συνολική επιφάνεια του πίδακα. Συνεπώς εμφανίζεται αστάθεια (Rayleigh instability), η οποία οδηγεί στη διάσπαση του πίδακα σε σταγονίδια, το καθένα με επιφάνεια που ελαχιστοποιείται σε σφαιρικό σχήμα. Επικρατεί μία από αυτές τις δύο αντίθετες δυνάμεις, ανάλογα με τη φύση και τις μηχανικές ιδιότητες του ρευστού, ιδιαίτερα το ιξώδες και την επιφανειακή τάση του. Εάν το ιξώδες είναι υψηλό και το ρευστό περιέχει μόρια μακράς αλυσίδας, η διάμετρος του ρεύματος εκτόξευσης ρευστού θα μειώνεται συνεχώς έως ότου η αποξηραμένη ίνα εναποτεθεί τελικά στον συλλέκτη. Ωστόσο, εάν χρησιμοποιείται ένα υγρό χαμηλού ιξώδους, δεν μπορεί να παρουσιάσει μεγάλη αντίσταση έναντι της αστάθειας του Rayleigh και τείνει να διασπαστεί σε σταγονίδια. Εάν τα μόρια της αλυσίδας δεν υπάρχουν ή δεν είναι αρκετά μακριά για να αποτρέψουν τη διάσπαση, σχηματίζονται διακριτά σφαιρικά σταγονίδια. Η ηλεκτροστατική απώθηση μεταξύ των φορτισμένων σταγονιδίων εμποδίζει τη συνένωση τους. Λόγω της αυξανόμενης πυκνότητας φορτίου στην επιφάνεια των συρρικνούμενων σταγονιδίων, εκρήγνυνται σε ακόμη μικρότερα σταγονίδια. Αυτή η διαδικασία οδηγεί σε ηλεκτροστατικό ψεκασμό (Garg and Bowlin 2011).

- **Επίδραση συγκέντρωσης**

Κατά την εφαρμογή της μεθόδου, πραγματοποιούνται παράλληλα, τόσο εξάτμιση του διαλύτη όσο και διάχυση πολυμερούς. Μέσω αυτών των διαδικασιών που λαμβάνουν χώρα, οι αλυσίδες του πολυμερούς εμπλέκονται, οδηγώντας στην τελική μορφολογία των δομών. Ο αριθμός των διαπλοκών ή περιπλοκών (entanglements) σε ένα διάλυμα ne_{sol} μπορεί να εκφραστεί μέσω του λόγου του μέσου μοριακού βάρους του πολυμερούς M_w και του οριακού μοριακού βάρους πάνω από το οποίο εμφανίζονται περιπλοκές M_e (Shenoy, Bates et al. 2005):

$$ne_{sol} = \frac{M_w}{M_e} \quad (2)$$

Πλήθος μελετών για το πολυγαλακτικό οξύ, το πολυστυρένιο, το οξείδιο του πολυαιθυλενίου, έχουν αποδείξει ότι όταν η τιμή του ne_{sol} ξεπερνά το 3,5 και χρησιμοποιείται ο κατάλληλος διαλύτης, τότε παράγονται ομοιόμορφες ίνες, δηλαδή ευνοείται η ηλεκτροστατική ινοποίηση. Αντίστοιχα για τιμές μεταξύ 2 και 3,5, παραλαμβάνεται μίγμα ινών-σωματιδίων, για $ne_{sol} < 2$ δεν παρατηρείται σχηματισμός ινών και ευνοείται ο ηλεκτροστατικός ψεκασμός (Ray, Chen et al. 2019).

Η συγκέντρωση του πολυμερούς διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο καθεστώς διαπλοκής και αποτελεί έναν ουσιαστικό παράγοντα ο οποίος υπαγορεύει και το εάν το σύστημα θα οδηγηθεί σε σχηματισμό ινών ή σωματιδίων. Συγκεκριμένα υπάρχει μία κρίσιμη συγκέντρωση C^* όπου γίνεται η έναρξη επικάλυψης των αλυσίδων του πολυμερούς και κάτω από την οποία παρατηρείται απουσία επικαλύψεων-περιπλοκών. Στην περίπτωση αυτή ευνοείται ο ηλεκτροστατικός ψεκασμός καθώς μειωμένες περιπλοκές βοηθούν στην διαμόρφωση μικρότερων σταγονιδίων και ομοιόμορφων σωματιδίων. Καθώς η συγκέντρωση του πολυμερούς αυξάνεται ($c \sim c^*$), παρατηρείται ένα μείγμα ινών και σφαιριδίων. Σε αυτό το καθεστώς, υπάρχουν ανεπαρκείς εμπλοκές αλυσίδας για την πλήρη σταθεροποίηση του πίδακα. Σε ακόμη υψηλότερες συγκεντρώσεις πολυμερούς ($c > c^*$), οι αυξημένες εμπλοκές της αλυσίδας μπορούν να χρησιμεύσουν προσωρινά για να σταθεροποιήσουν τον πίδακα ηλεκτροστατικής ινοποίησης αναστέλλοντας τη διάσπασή του σε σταγονίδια (Shenoy, Bates et al. 2005). Έχει παρατηρηθεί ότι για την παραλαβή ομοιόμορφων ινών η συγκέντρωση της τροφοδοσίας πρέπει να είναι σημαντικά υψηλότερη του κρίσιμου ορίου δημιουργίας περιπλοκών, σε ορισμένες περιπτώσεις έως και 4 φορές μεγαλύτερη της συγκέντρωσης όπου δημιουργείται το πλέγμα των αλυσίδων του πολυμερούς (Meng, Du et al. 2021).

Ωστόσο, η συγκέντρωση του διαλύματος αποτελεί παράγοντα άρρηκτα συνδεδεμένο με την επιφανειακή τάση και η αύξηση της πάνω από μια ορισμένη τιμή μπορεί να οδηγήσει σε πολύ μεγάλη αύξηση της επιφανειακής τάσης, εμποδίζοντας την εξώθηση του υγρού από την έξοδο του ακροφυσίου (McKee, Wilkes et al. 2004, Ki, Baek et al. 2005). Επομένως, σε κάθε σύστημα διαλυτή-πολυμερούς απαιτείται να βρεθεί η βέλτιστη συγκέντρωση ώστε και να επιτευχθεί η επιθυμητή προσέγγιση της μεθόδου αλλά και να υπάρξει ομαλή λειτουργία της διεργασίας. Για παράδειγμα στην περίπτωση της ζεΐνης, οι Gomez-Estaca et al. μελέτησαν συγκεντρώσεις της πρωτεΐνης από 1% έως 20% (w/v) και παρατήρησαν την μορφολογία των παραγόμενων δομών. Αυτό που διαπίστωσαν ήταν ότι η συγκέντρωση 1% ήταν πολύ χαμηλή για το σχηματισμό σωματιδίων ενώ στο 20% παρατηρήθηκε μετάβαση από τη διαμόρφωση των σωματιδίων προς ίνες (Gomez-Estaca, Balaguer et al. 2012). Αντίστοιχα και οι Rodríguez-Félix et al. μελέτησαν συγκεντρώσεις 1-5% w/v του ίδιου πολυμερούς σε συνδυασμό με διαφορετικές αναλογίες μίγματος αιθανόλης/νερού ως διαλύτη και παρατήρησαν την σημαντική συνδυαστική επίδραση της συγκέντρωσης και της επιφανειακής τάσης στην παραγωγή ομοιόμορφων δομών. Παραγωγή των βέλτιστων σφαιρικών δομών επιτεύχθηκε για συγκέντρωση ζεΐνης 5% (w/v) και αιθανόλη 80% (v/v) (Rodríguez-Félix, Del-Toro-Sánchez et al. 2019).

- **Επιλογή διαλυτών**

Όπως διαπιστώνεται από το τελευταίο παράδειγμα πέρα από τη συγκέντρωση του πολυμερούς, η επιλογή του διαλύτη είναι καθοριστική καθώς επηρεάζει σημαντικά την επιφανειακή τάση και την

ηλεκτρική αγωγιμότητα του διαλύματος. Ενδεικτικά, μερικοί από τους πιο διαδεδομένους διαλύτες (κατά αυξανόμενο σημείο βρασμού) για την παραγωγή σωματιδίων είναι το διχλωρομεθάνιο, το οποίο χρησιμοποιείται κατά κόρον στην ενθυλάκωση φαρμακευτικώνσκευασμάτων, η ακετόνη, το χλωροφόρμιο, η μεθανόλη, η αιθανόλη, το ακετονιτρίλιο, το διχλωροαιθάνιο, το οξικό οξύ κ.α. Το νερό αποτελεί επίσης μία δημοφιλή επιλογή ως ένας οικονομικός και μη τοξικός διαλύτης, ωστόσο λόγω της μεγάλης του επιφανειακής τάσης, διηλεκτρικής σταθεράς και υψηλότερου σημείου βρασμού, δημιουργεί ορισμένες δυσκολίες στη χρήση (Badran, Gharios et al. 2019).

Το σημείο βρασμού ενός διαλύτη είναι η θερμοκρασία κατά την οποία η τάση ατμών εξισώνεται με την ατμοσφαιρική πίεση και είναι ενδεικτικό της πτητικότητας του διαλύτη. Οι διαλύτες που εμφανίζουν χαμηλή τάση ατμών (υψηλή θερμοκρασία βρασμού) εξατμίζονται δυσκολότερα από τους διαλύτες με υψηλή τάση ατμών (χαμηλές θερμοκρασίες βρασμού). Αυτό σημαίνει ότι στις δομές που προκύπτουν από την ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία η διάχυση του πολυμερούς μειώνεται με χρήση διαλυτών που εμφανίζουν μεγάλη τάση ατμών (θερμοκρασίες βρασμού μικρότερες των 70 °C) και αντίστοιχα αυξάνεται το μέγεθος των προϊόντων. Από την άλλη, με αύξηση του σημείου βρασμού (> 140 °C) προκύπτει μειωμένο μέγεθος σωματιδίων (Park and Lee 2009, Bock, Woodruff et al. 2011). Η διαφορά στο μέγεθος των παραγόμενων δομών έγκειται στον διαφορετικό ρυθμό εξάτμισης του διαλύτη. Έτσι στα χαμηλά σημεία βρασμού λαμβάνει χώρα ταχεία εξάτμιση του διαλύτη και δεν δίνεται ο απαραίτητος χρόνος στις πολυμερικές αλυσίδες για να αναδιαταχθούν, να συσταλούν και να τακτοποιηθούν εκ νέου μέσα στο σταγονίδιο κατά την πορεία προς το συλλέκτη. Κατά συνέπεια, η σωστή επιλογή διαλύτη είναι πολύ σημαντική για τη δομή και μορφολογία των σωματιδίων και ινών της διεργασίας.

- **Ηλεκτρική αγωγιμότητα και ιξώδες**

Δεδομένης της αρχής λειτουργίας της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας που βασίζεται στην ηλεκτροστατική έλξη φορτισμένων σωματιδίων προς έναν γειωμένο ή αντίθετα φορτισμένο συλλέκτη, γίνεται προφανές ότι η ηλεκτρική αγωγιμότητα του διαλύματος του πολυμερούς και του αντίστοιχου διαλύτη αποτελεί καθοριστική παράμετρο. Συνδυαστικά με τον ρυθμό ροής η ηλεκτρική αγωγιμότητα μπορεί να καθορίσει σημαντικά την διαμόρφωση του σχήματος και του μεγέθους των παραγόμενων σωματιδίων ή ινών. Με βάση τη θεωρία της ηλεκτρο-υδροδυναμικής κίνησης τριχοειδούς πίδακα του Ganap-Calvo αποδεικνύεται ότι μια υψηλή ηλεκτρική αγωγιμότητα οδηγεί σε μείωση του μεγέθους καθώς για μεγάλες τιμές αυτής απαιτείται και επιβολή εντονότερης φόρτισης για την εξώθηση του πίδακα (Gañán-Calvo, Dávila et al. 1997). Για την περίπτωση του ηλεκτροστατικού ψεκασμού δεν επιθυμούνται γενικά υψηλές αγωγιμότητες, καθώς οι υψηλότερες τιμές ευνοούν περισσότερο την επιμήκυνση των δομών προς το σχηματισμό ινών αν μάλιστα το διάλυμα έχει και υψηλή συγκέντρωση- μεγάλο ιξώδες.

Μία επιτυχής ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία μπορεί να πραγματοποιηθεί μόνο όταν η αγωγιμότητα είναι χαμηλή ή το ιζώδες σχετικά υψηλό. Η ηλεκτρική αγωγιμότητα μπορεί να μεταβληθεί με αλλαγές στον χρησιμοποιούμενο διαλύτη ή επιλέγοντας συνδιαλύτες των οποίων ωστόσο η χρήση μπορεί να έχει μη επιθυμητά αποτελέσματα στην κατανομή μεγέθους και τη μορφολογία των παραγόμενων δομών. Γενικά, οι οργανικοί διαλύτες εμφανίζουν μικρότερη αγωγιμότητα από τα υδατικά συστήματα ενώ πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι η προσθήκη του πολυμερούς στον διαλύτη θα οδηγήσει σε μείωση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας.

Αρκετές μελέτες έχουν καταλήξει ότι για τη σταθερή διαμόρφωση κώνου-πίδακα, η ηλεκτρική αγωγιμότητα πρέπει να βρίσκεται μεταξύ κάποιων ορίων. Όσον αφορά στο άνω όριο, έχει παρατηρηθεί ότι ο πίδακας αλλάζει από συνεχής σε διακοπτόμενος για αγωγιμότητες που ξεπερνούν τα 10^{-5} S/m. Αντίστοιχα για το κάτω όριο, οι εκτιμήσεις κυμαίνονται στο 10^{-8} με 10^{-10} S/m. Διεύρυνση αυτών των ορίων μπορεί να συμβεί για διαλύματα με μικρή επιφανειακή τάση (Zhang, Campagne et al. 2019).

- **Λειτουργικές και περιβαλλοντικές παράμετροι**

Πέρα από την επιλογή των κατάλληλων ιδιοτήτων όσον αφορά στο διάλυμα του πολυμερούς, απαιτείται και εύρεση της βέλτιστης ροής για το διάλυμα αυτό. Ο ρυθμός ροής λαμβάνεται υπόψη ως μία από τις βασικές παραμέτρους για τον έλεγχο της διαμέτρου, την κατανομή μεγέθους, το αρχικό σχήμα των σταγονιδίων, την τροχιά του πίδακα, τη συντήρηση του κώνου Taylor και την επιτυχή εναπόθεση στο συλλέκτη. Σε υψηλούς ρυθμούς ροής, σχηματίζονται μεγαλύτερα σταγονίδια, τα οποία αυξάνουν τη μέση διάμετρο των δομών. Ωστόσο, πιστεύεται ότι σε υψηλούς ρυθμούς ροής υπάρχει περιορισμός στην αύξηση της διαμέτρου, επειδή ο ρυθμός ροής με την ποσότητα φορτίου δεν αυξάνονται ταυτόχρονα. Από την άλλη πλευρά, οι χαμηλότεροι ρυθμοί ροής είναι πιο επιθυμητοί καθώς ο διαλύτης θα έχει αρκετό χρόνο για εξάτμιση αποτρέποντας φαινόμενα συνένωσης των παραγόμενων ινών ή σωματιδίων λόγω παρουσίας υπολειμμάτων διαλύτη στο συλλέκτη (Zargham, Bazgir et al. 2012).

Όσον αφορά στην εφαρμοζόμενη τάση, σε χαμηλές τιμές, οι δυνάμεις Coulomb δεν επαρκούν για να υπερνικήσουν την επιφανειακή τάση του διαλύματος πολυμερούς, με αποτέλεσμα τη ροπή προς τον ηλεκτροστατικό ψεκασμό και το σχηματισμό σταγονιδίων/σφαιριδίων αντί για ίνες. Με την αύξηση της τάσης, οι ιξωδοελαστικές δυνάμεις και η επιφανειακή τάση εξισορροπούνται, σχηματίζοντας ένα φορτισμένο πίδακα και παράγοντας ίνες μικρών διαμέτρων. Σε ακόμα υψηλότερες τιμές εφαρμοζόμενης τάσης, οι δυνάμεις Coulomb υπερνικούν τις ιξωδοελαστικές δυνάμεις, σπάζοντας τον πίδακα και οδηγώντας στην παραγωγή δομών μεγαλύτερων διαμέτρων (Can-Herrera, Oliva et al. 2021).

Κατ' αντιστοιχία με την εφαρμοζόμενη τάση, το ιξώδες και τον ρυθμό ροής, η απόσταση μεταξύ του μεταλλικού ακροφυσίου και του συλλέκτη ποικίλλει ανάλογα με το σύστημα πολυμερούς. Η μορφολογία των ινών ή σωματιδίων μπορεί εύκολα να επηρεαστεί από την απόσταση επειδή εξαρτάται από τον χρόνο εναπόθεσης, τον ρυθμό εξάτμισης του διαλύτη και το διάστημα αστάθειας του πίδακα. Ως εκ τούτου, πρέπει να διατηρηθεί μια κρίσιμη απόσταση για το σχηματισμό ομοιόμορφων δομών (Haider, Haider et al. 2018). Πολλές ερευνητικές ομάδες έχουν μελετήσει την επίδραση της απόστασης μεταξύ του άκρου της βελόνας και του συλλέκτη και συμπέραναν ότι όταν η απόσταση διατηρείται αρκετά μικρή, παράγονται μεγάλες και ελαττωματικές δομές, ενώ η διάμετρος μειώνεται όσο αυξάνεται η απόσταση (Matabola and Moutloali 2013). Ωστόσο, έχουν καταγραφεί περιπτώσεις όπου δεν παρατηρήθηκε καμία επίδραση στη μορφολογία με αλλαγή της απόστασης ακροφυσίου-συλλέκτη (Zhang, Yuan et al. 2005).

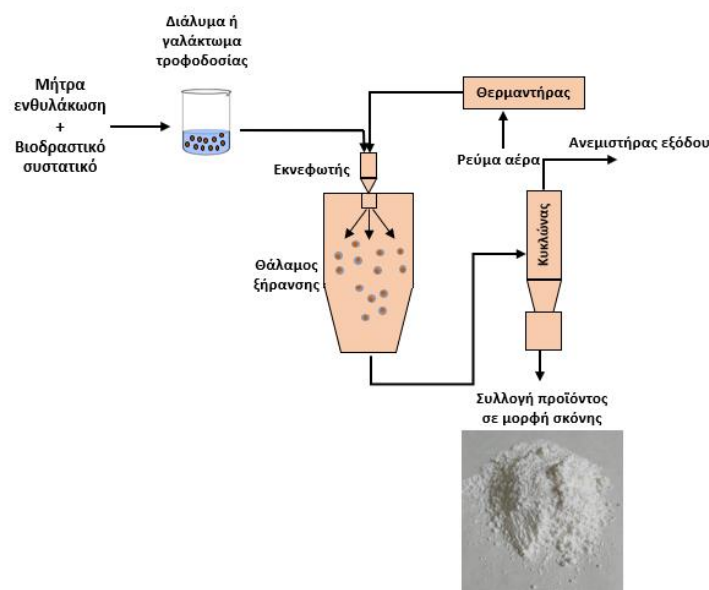
Τέλος, αξιοσημείωτη επίδραση στη λειτουργία της μεθόδου έχουν η θερμοκρασία και η υγρασία του θαλάμου όπου διενεργείται η ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία. Η θερμοκρασία επιδρά σε δύο βασικούς παράγοντες του διαλύματος, την εξάτμιση του διαλύτη και το ιξώδες του διαλύματος καθώς η αύξηση της θερμοκρασίας οδηγεί σε αύξηση του ρυθμού εξάτμισης και σε μείωση του ιξώδους. Όσον αφορά στην υγρασία, αυτή φαίνεται να επιδρά διαφορετικά για κάθε σύστημα, συμβάλλοντας στη μείωση ή αύξηση της διαμέτρου των παραγόμενων δομών (De Vrieze, Camp et al. 2009).

1.1.2.2 Ξήρανση με ψεκασμό ως μέθοδος μικροεγκλεισμού

Βασικές αρχές και διάταξη διεργασίας

Η ξήρανση με ψεκασμό αποτελεί μία από τις συχνότερα χρησιμοποιούμενες τεχνικές ενθυλάκωσης στη βιομηχανία τροφίμων. Η διαδικασία είναι οικονομική και ευέλικτη, χρησιμοποιεί εξοπλισμό που είναι άμεσα διαθέσιμος και παράγει σωματίδια σκόνης αρκετά καλής ποιότητας. Για το λόγο αυτό συνιστά μία από τις πιο δημοφιλείς τεχνικές μεταξύ των μεθόδων ενθυλάκωσης. Κατά τη διάρκεια της ξήρανσης με ψεκασμό, το δραστικό υλικό διασπείρεται σε ένα διάλυμα πολυμερούς φορέα το οποίο στη συνέχεια ψεκάζεται σε μικρά σταγονίδια. Ο διαλύτης, συνήθως νερό, εξατμίζεται χρησιμοποιώντας ρεύμα θερμού αέρα με ελεγχόμενη θερμοκρασία και σχετική υγρασία για να ληφθεί στιγμιαία μια σκόνη. Ωστόσο, η χρήση σχετικά υψηλών θερμοκρασιών κατά τη διάρκεια της ξήρανσης μπορεί να προκαλέσει θερμική αποικοδόμηση και έτσι να επηρεάσει τη σταθερότητα θερμικά ασταθών συστατικών. Η ξήρανση με ψεκασμό είναι η παλαιότερη και η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική εγκλεισμού στον τομέα της βιομηχανίας τροφίμων. Είναι μια ευέλικτη, συνεχούς λειτουργίας και οικονομική μεθοδολογία που παράγει σωματίδια που κυμαίνονται από λίγα έως δεκάδες μικρά με κατανομή στενού μεγέθους. Η ενθυλάκωση μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό προστατεύει, σταθεροποιεί και ενισχύει τη διαλυτότητα και την ελεγχόμενη

απελευθέρωση των βιοδραστικών ενώσεων που παραλαμβάνονται σε μορφή σκόνης. Επιπλέον, εξασφαλίζει μικροβιολογική σταθερότητα των προϊόντων, μειώνει το κόστος αποθήκευσης και μεταφοράς και ελαχιστοποιεί τον κίνδυνο χημικών ή / και βιολογικών υποβαθμίσεων μειώνοντας την περιεκτικότητα σε νερό (Gharsallaoui, Roudaut et al. 2007). Αν και οι ξηραντήρες ψεκάσμου είναι ευρέως διαδεδομένοι στη βιομηχανία τροφίμων, υπάρχουν δύο περιορισμοί αυτής της τεχνικής. Συγκεκριμένα, το υλικό φορέας θα πρέπει να σχηματίζει φιλμ και να είναι διαλυτό στο νερό και η δραστική ουσία πρέπει να είναι ανθεκτική στη θερμότητα στις θερμοκρασίες που συνήθως εφαρμόζονται για αυτήν τη μέθοδο ξήρανσης κατά τη σχετικά σύντομη έκθεση στο ρεύμα ζεστού αέρα. Η ενθυλάκωση με τη συγκεκριμένη τεχνική περιλαμβάνει τα εξής στάδια: 1) Γίνεται προετοιμασία ενός σταθερού γαλακτώματος/μείγματος του ή των υλικών του φορέα ενθυλάκωσης, 2) η δραστική ουσία προς ενθυλάκωση διασπείρεται στο διάλυμα του φορέα, 3) το μείγμα ή το γαλάκτωμα που αποτελεί το διάλυμα τροφοδοσίας αντλείται με σωληνάκι προς τον θάλαμο ξήρανσης διαμέσου ακροφυσίου και ψεκάζεται στο θάλαμο ξήρανσης, 4) τα σταγονίδια έρχονται σε επαφή με το ξηραντικό ρευστό (θερμό αέριο) μέσα στο θάλαμο ξήρανσης και 5) τα αφυδατωμένα σωματίδια συλλέγονται.



Εικόνα 4 Διάταξη ξήρανσης με ψεκάσμο.

Παράμετροι διεργασίας

Όπως αναφέρθηκε στα στάδια της διεργασίας, αρχικά, λαμβάνει χώρα διάλυση της μήτρας ενθυλάκωσης. Η διάλυση αυτή πραγματοποιείται σε κατάλληλο διαλύτη (συνήθως, απιονισμένο νερό) με χρήση μαγνητικού αναδευτήρα στους 25 °C. Με τον τρόπο αυτό εξασφαλίζεται ο πλήρης κορεσμός των μορίων του πολυμερούς και να αποφεύγονται τυχόν διακυμάνσεις που προκαλούνται από αλλαγές θερμοκρασίας. Για την πραγματοποίηση του δεύτερου σταδίου, τα

υλικά πυρήνα (βιοδραστικά συστατικά) αναμειγνύονται με το διάλυμα της μήτρας και στη συνέχεια, ανάλογα με τα γαλακτωματοποιητικά χαρακτηριστικά της μήτρας και του συστατικού, μπορεί να γίνει προσθήκη επιφανειοδραστικών παραγόντων. Το σχηματιζόμενο διάλυμα ή γαλάκτωμα που περιέχει τα υλικά του τοιχώματος και τις ουσίες του πυρήνα πρέπει να είναι σταθερό μέχρι το στάδιο της ξήρανσης (Mohammed, Tan et al. 2020). Στη συνέχεια, το μίγμα τροφοδοσίας μέσω εκνεφωτή, ψεκάζεται στο εσωτερικό του θαλάμου ξήρανσης και έρχεται σε επαφή με θερμό αέριο (συνήθως αέρας). Ο διαλύτης (συνήθως νερό) εξατμίζεται από τη ροή του ζεστού αέρα και όταν η περιεκτικότητα σε σταγονίδια νερού φτάσει σε μία κρίσιμη τιμή, σχηματίζεται ξηρή κρούστα στην επιφάνεια του σταγονιδίου και το πολυμερές (μήτρα) καλύπτει τα μικροσωματίδια του βιοδραστικού υλικού. Εάν το σταγονίδιο συρρικνωθεί πολύ αργά, η ξηρή κρούστα μπορεί επίσης να αναπτυχθεί σε εσωτερικές περιοχές του σταγονιδίου και πιθανώς οδηγήσει στο σχηματισμό ενός πλήρους σωματιδίου. Στην περίπτωση της ταχύτερης εξάτμισης νερού, σχηματίζεται γρήγορα μια κρούστα στην επιφάνεια του σταγονιδίου, μειώνοντας στη συνέχεια τον ρυθμό εξάτμισης νερού. Τέλος, τα μικροσωματίδια με τη μορφή σκόνης συγκεντρώνονται στον συλλέκτη σκόνης του κυκλώνα (Drosou, Krokida et al. 2017). Πρέπει να αναφερθεί ότι παρά τις υψηλές θερμοκρασίες εισόδου της διαδικασίας ξήρανσης με ψεκασμό (συνήθως 220–250 °C), η θερμοκρασία ενθυλάκωσης του πυρήνα είναι αρκετά χαμηλότερη λόγω της ταχείας ξήρανσης που λαμβάνει χώρα (Geranpour, Assadpour et al. 2020).

Τα φυσικοχημικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά των κόνεων που παράγονται μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό εξαρτώνται από ορισμένες παραμέτρους της διεργασίας όπως η θερμοκρασία εισόδου του αέρα καθώς και η συγκέντρωση και η ροή του διαλύματος τροφοδοσίας.

- **Ροή αερίου**

Ο ψεκασμός του υγρού και ο χρόνος επαφής των σταγονιδίων του με το θερμό αέριο (συνήθως ατμοσφαιρικό αέρα), αποτελούν δύο παράγοντες που καθορίζουν τον ρυθμό και την ένταση της διεργασίας της ξήρανσης. Η επαφή σταγονιδίων υγρού-αέρα ξεκινά με τον ψεκασμό στο εσωτερικό του θαλάμου ξήρανσης και προκαλεί τη σταδιακή εξάτμιση του διαλύτη. Η ατμόσφαιρα μέσα στο θάλαμο θέρμανσης του ξηραντήρα ελέγχεται από τις λειτουργικές παραμέτρους του συστήματος θέρμανσης και φιλτραρίσματος αέρα. Γενικά, αναφέρονται δύο τύποι ροής αέρα τροφοδοσίας (Mohammed, Tan et al. 2020):

(α) Σχεδιασμός ξήρανσης σε ομορροή: σε αυτή τη διαμόρφωση, ο εκνεφωτής βρίσκεται στην κορυφή του θαλάμου ξήρανσης μαζί με την είσοδο του ρεύματος αερίου ξήρανσης. Κατά συνέπεια, η τροφοδοσία ψεκάζεται προς την ίδια κατεύθυνση με τον θερμό αέρα, και προτιμάται για θερμοευαίσθητα υλικά. Η θερμοκρασία εισόδου κυμαίνεται συνήθως 150–220 °C και

πραγματοποιείται ταχεία εξάτμιση. Η θερμοκρασία εξόδου κυμαίνεται στους 60–85 °C, περιορίζοντας έτσι τη θερμική υποβάθμιση. Με τη διαμόρφωση αυτή, τα ευαίσθητα στη θερμότητα υλικά εκτίθενται μόνο στη χαμηλότερη θερμοκρασία εξόδου.

(β) Σχεδιασμός ξήρανσης σε αντιρροή: αυτή η διαμόρφωση δεν είναι ιδιαίτερα δημοφιλής και παρουσιάζει περιορισμένες εφαρμογές για την παραλαβή ξηρών προϊόντων. Το διάλυμα/γαλάκτωμα της τροφοδοσίας και ο αέρας ξήρανσης εισάγονται στα αντίθετα άκρα του ξηραντήρα. Αν και αυτή η σύνθεση είναι θερμικά πιο αποτελεσματική από το σχέδιο ξήρανσης σε ομορροή, καθώς εκθέτει τις αποξηραμένες σκόρες σε υψηλές θερμοκρασίες, έχει περιορισμένη χρήση για προϊόντα που είναι ευαίσθητα στη θερμότητα. Ως αποτέλεσμα των περίπλοκων κατανομών των ροών, τα φαινόμενα ξήρανσης δεν είναι ξεκάθαρα σε αυτά τα συστήματα (Edris, Kalembe et al. 2016).

- **Ρυθμός ροής και συγκέντρωση διαλύματος τροφοδοσίας**

Ο ρυθμός ροής της τροφοδοσίας συνδέεται άμεσα με το μέγεθος των σωματιδίων που λαμβάνονται. Όσο υψηλότερος είναι ο ρυθμός ροής τροφοδοσίας, τόσο μεγαλύτερο είναι το μέγεθος των σωματιδίων του τελικού προϊόντος που λαμβάνεται. Επιπλέον, η χρήση υψηλών ρυθμών τροφοδοσίας αυξάνει την περιεκτικότητα σε υγρασία. τότε, πρέπει να ρυθμιστεί μεγαλύτερη διαφορά μεταξύ της θερμοκρασίας εισόδου και εξόδου.

Όσον αφορά στη συγκέντρωση του διαλύματος τροφοδοσίας, αυτή η μεταβλητή αναφέρεται στην αρχική συγκέντρωση στερεών διαλυμένων στο υγρό που εισάγεται στη διάταξη. Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση του διαλύματος τροφοδοσίας, τόσο μεγαλύτερο είναι το ιξώδες και επομένως αυξάνεται ο κίνδυνος συσσωμάτωσης και η ανάπτυξη ακανόνιστου σχήματος των σωματιδίων. Επιπλέον, καθώς η συγκέντρωση των στερεών αυξάνεται, το μέγεθος των σωματιδίων παρουσιάζει επίσης μια αναλογική αύξηση. Δεδομένου ότι μια υψηλή συγκέντρωση στερεών συνεπάγεται αναγκαστικά μια χαμηλότερη συγκέντρωση του εξατμιζόμενου διαλύτη, αυτή η μεταβλητή συσχετίζεται επίσης με τη θερμοκρασία εξόδου. Διαλύματα που παρασκευάζονται από ουσίες υψηλότερου μοριακού βάρους περιλαμβάνουν διαλύματα υψηλότερου ιξώδους. Επομένως, ο ρυθμός τροφοδοσίας μειώνεται, ενώ αυξάνεται το τελικό μέγεθος σωματιδίων. Επιπλέον, άλλες ελεγχόμενες παράμετροι που οδηγούν στη βελτίωση των ξηρών προϊόντων που σχετίζονται με τα χαρακτηριστικά του τροφοδοτούμενου διαλύματος είναι η σωστή ανάμιξη-διαλυτοποίηση, η επιφανειακή τάση, η φύση του διαλύτη (υδατικός ή οργανικός) και η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης του πολυμερούς (Piñón-Balderrama, Leyva-Porras et al. 2020).

- **Ξήρανση και δημιουργία σωματιδίων**

Το στάδιο της ξήρανσης και του σχηματισμού των σωματιδίων μέσω συναγωγής θερμότητας. Η θερμότητα μεταφέρεται από το μέσο ξήρανσης στα σταγονίδια του υγρού τροφοδοσίας, όπου μετατρέπεται σε λανθάνουσα θερμότητα με την εξάτμιση της περιεχόμενης υγρασίας από τα σταγονίδια. Οι ρυθμοί μεταφοράς μάζας και θερμότητας εξαρτώνται από τη διάμετρο των σταγονιδίων και τη σχετική ταχύτητα του αέρα και των σταγονιδίων. Όταν τα σταγονίδια έρθουν σε επαφή με τον θερμό αέρα ξήρανσης, λαμβάνει χώρα, ταχεία εξάτμιση της υγρασίας. Αρχικά, η επιφάνεια των σταγονιδίων παρουσιάζει μια συνεχή μεταφορά μάζας της υγρασίας από το εσωτερικό του σταγονιδίου ώσπου σταδιακά, σχηματίζεται ένα αποξηραμένο κέλυφος και η εξάτμιση της υγρασίας συνεχίζεται με βραδύτερο ρυθμό μέχρι να σχηματιστεί το τελικό προϊόν (Sosnik and Seremeta 2015).

- **Διαχωρισμός προϊόντος από αέρα ξήρανσης**

Το τελευταίο βήμα της διεργασίας, περιλαμβάνει τον διαχωρισμό των παραγόμενων, ξηρών σωματιδίων από το μέσο ξήρανσης. Ο διαχωρισμός αυτός πραγματοποιείται σε δύο στάδια. Σε πρώτη φάση, τα πιο πυκνά και μεγάλα σωματίδια συλλέγονται λόγω βαρύτητας στον πυθμένα του κεντρικού, κωνικού θαλάμου ξήρανσης. Σε δεύτερη φάση, τα πιο λεπτά σωματίδια παρασύρονται από τον αέρα ξήρανσης και διαχωρίζονται από αυτόν και ανακτώνται στην έξοδο του κυκλώνα της συσκευής. Τα αποξηραμένα σωματίδια της μεθόδου έχουν γενικά σφαιρικό σχήμα με εύρος μεγέθους από 10 έως 100 μικρόμετρα (Daniel, Ana Colette et al. 2017).

- **Θερμοκρασίες εισόδου-εξόδου**

Για την παραλαβή τελικού προϊόντος με υψηλή απόδοση ενθυλάκωσης, οι θερμοκρασίες του αέρα εισόδου και εξόδου θα πρέπει να βελτιστοποιηθούν και το διάλυμα/γαλάκτωμα της τροφοδοσίας θα πρέπει, όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, να διατηρείται σταθερό καθ' όλη τη διάρκεια της διεργασίας (Pellicer, Fortea et al. 2018). Γενικά, η θερμοκρασία του αέρα εισόδου κυμαίνεται από 150 έως 220 °C και η εξάτμιση συμβαίνει στιγμιαία. Σε χαμηλές θερμοκρασίες εισόδου αέρα παρατηρείται χαμηλός ρυθμός εξάτμισης, που οδηγεί στο σχηματισμό μικροκαψουλών με κελύφη υψηλής πυκνότητας, υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία, χαμηλή ρευστότητα και ευκολία συσσωμάτωσης. Επομένως, είναι πολύ πιθανό τα σωματίδια να κολλήσουν στο εσωτερικό τοίχωμα του θαλάμου ξήρανσης, με αποτέλεσμα τη χαμηλή απόδοση της διεργασίας. Από την άλλη, μια πολύ υψηλή θερμοκρασία εισόδου οδηγεί σε ακαριαία εξάτμιση με αποτέλεσμα την εμφάνιση ρωγμών στη μεμβράνη των σωματιδίων και κατά συνέπεια την πρόωρη απελευθέρωση και υποβάθμιση ή απώλεια των ενθυλακωμένων συστατικών (Gharsallaoui, Roudaut et al. 2007).

1.1.3 Επιλογή μήτρας ενθυλάκωσης

Όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, εκτός από τα βιοενεργά συστατικά, η επιλογή του υλικού που θα αποτελέσει τον φορέα ενθυλάκωσης είναι επίσης απαραίτητη. Μερικές από τις παραμέτρους που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την επιλογή της μήτρας, περιλαμβάνουν τη συμβατότητα και μη αντιδραστικότητα με το υλικό του πυρήνα, σταθερότητα, αντοχή, μη τοξικότητα, βιοσυμβατότητα, βιοαποικοδομησιμότητα, επιθυμητό μέγεθος και μορφολογία, εύκολη επεξεργασία και χαμηλό κόστος (Suganya and Anuradha 2017).

Πίνακας 2. Υλικά ανά κατηγορία που χρησιμοποιούνται ως μέσα εγκλεισμού.

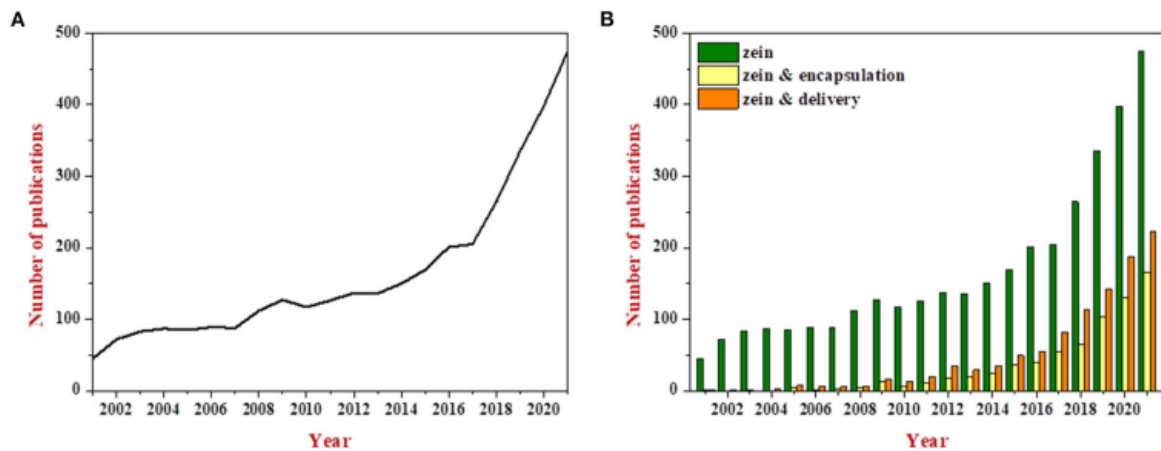
Κατηγορία	Μέσα Εγκλεισμού
Υδατάνθρακες-Κόμματα	άμυλο, μαλτοδεξτρίνη, κυκλοδεξτρίνη, κυτταρίνη, χιτοζάνη, πουλλουλάνη, γελλάνης, ξανθάνης, καρραγενάνες, αλγινικά, γκουάρ, χαρουπιού, αραβικό
Πρωτεΐνες	ζελατίνη, αλβουμίνη, ζεΐνης, πρωτεΐνη ορού γάλακτος, καζεΐνη, κολλαγόνο
Λιπίδια	λιπαρά οξέα, γλυκερίδια, φωσφολιπίδια

1.1.3.1 Η ζεΐνη ως μήτρα ενθυλάκωσης

Η ζεΐνη (ZN), η προλαμίνη του καλαμποκιού, είναι ένα άμορφο πολυμερές, αδιάλυτο στο νερό και στην άνυδρη αλκοόλη (εκτός της μεθανόλης) αλλά διαλυτό σε αλκοόλη 60-90% (Danzer, Ades et al. 1975, Kim and Xu 2008). Έχει, επίσης, υψηλή θερμοκρασία θερμικής αποσύνθεσης (>300 °C) (Magoshi, Nakamura et al. 1992) και σημαντικές αντιμικροβιακές ιδιότητες (Gonçalves, Torres et al. 2020). Επιπλέον, παρουσιάζει αμφίφιλο χαρακτήρα καθώς περιέχει ίση, σχεδόν, ποσότητα υδρόφοβων (λευκίνη, αλανίνη, προλίνη) και υδρόφιλων αμινοξέων (γλουταμινικό οξύ) και είναι επίσης άγευστη και άοσμη (Shukla and Cheryan 2001, Torres-Giner, Martínez-Abad et al. 2010). Όλα τα παραπάνω, σε συνδυασμό με το χαμηλό κόστος της και την έγκρισή της ως GRAS (Γενικά Αναγνωρισμένο ως Ασφαλές) από τον FDA (Food and Drug Administration), καθιστούν τη ZN ως το τέλειο υλικό-φορέα για την ενθυλάκωση βιοδραστικών ενώσεων για χρήση σε τρόφιμα, καλλυντικά και φαρμακευτικά προϊόντα (Shukla and Cheryan 2001, Sharif, Fabra et al. 2019).

Η πρωτεΐνη αυτή, με βάση σύγχρονες μελέτες αποδεικνύεται ότι παρέχει τη δυνατότητα σχηματισμού τόσο μικρο-νάνο σωματιδίων όσο και μεμβρανών-φιλμ. Από τη μία πλευρά τα νανοσωματίδια ζεΐνης είναι κατάλληλα για χορήγηση φαρμάκων και άλλες ιατρικές εφαρμογές, κυρίως επειδή ταιριάζουν με τα τυπικά μεγέθη των φυσικών λειτουργικών μονάδων σε ζωντανούς οργανισμούς, γεγονός που επιτρέπει την καλύτερη αλληλεπίδρασή τους με τα βιομόρια (Tortorella, Maturi et al. 2021) ενώ από την άλλη οι μεμβράνες της πρωτεΐνης έχουν πολύ καλές ιδιότητες φραγμού των υδρατμών σε σύγκριση με άλλες βρώσιμες μεμβράνες (Bayer 2021). Η

βιοσυμβατότητα, βιοαποικοδομησιμότητα, μη τοξικότητα και η καλή κυτταρική πρόσληψη το καθιστούν ιδανικό υποψήφιο για την ενθυλάκωση βιοδραστικών μορίων.



Εικόνα 5 Εξέλιξη του αριθμού των δημοσιεύσεων σχετικά με τον όρο «ζεΐνη» (Α) και σύγκριση του αριθμού δημοσιεύσεων σχετικά με τους όρους «ζεΐνη», «ζεΐνη και ενθυλάκωση» και «ζεΐνη και μεταφορά ουσιών» (Β) για τα έτη 2001-2021 (Προσαρμογή από Yan, Li et al. 2022).

1.1.4 Βιοδραστικά συστατικά

Μια βιοδραστική ένωση είναι: «μια ουσία ικανή να αλληλεπιδρά με ένα ή περισσότερα συστατικά του ζωντανού ιστού προκαλώντας άμεση επίδραση». Αυτές οι ενώσεις μπορεί να είναι είτε συνθετικές είτε να προέρχονται από φυσικές (φυτικές, ορυκτές, θαλάσσιες) πηγές (Guaadaoui, Benaicha et al. 2014). Εκτός από τα βασικά θρεπτικά συστατικά, βιοδραστικές ενώσεις υπάρχουν φυσικά σε φυτά και πηγές τροφίμων όπως τα φρούτα, τα λαχανικά και άλλους καρπούς. Οι Chandrasekara και Shahidi σε μελέτη τους πραγματοποίησαν ανασκόπηση της παρουσίας βιοδραστικών ενώσεων σε πολλά φυτά και τον ρόλο τους στην πρόληψη και τον έλεγχο ασθενειών. Όπως αναφέρουν τα φυτικά εκχυλίσματα προερχόμενα από τα φύλλα, τους βλαστούς, τις ρίζες, τους καρπούς και τα άνθη είναι πλούσιες πηγές φυσικών βιοδραστικών ενώσεων όπως καρτενοειδή, φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή, αλκαλοειδή, πολυακετυλένια, σαπωνίνες και τερπενοειδή, μεταξύ άλλων (Chandrasekara and Shahidi 2018). Επιστημονικά στοιχεία δείχνουν ότι αυτές οι βιοδραστικές ενώσεις εμφανίζουν μια πληθώρα βιολογικών επιδράσεων, όπως αντιοξειδωτική, αντιβακτηριδιακή, αντική, αντιφλεγμονώδη, αντιθρομβωτική, αντιαλλεργική, και αγγειοδιασταλτική δράση, καθώς και αντιμεταλλαξιογόνες, αντικαρκινικές και αντιγηραντικές δράσεις (Chandrasekara and Shahidi 2018).

Ωστόσο, οι βιοδραστικές ενώσεις παρουσιάζουν συχνά προβλήματα όπως χαμηλή διαλυτότητα σε υδατικές φάσεις, γίνονται ασταθείς με την επίδραση της θερμοκρασίας ή/ και υποβαθμίζονται κατά την επεξεργασία τους με αποτέλεσμα τη χαμηλή βιοδιαθεσιμότητά και αποτελεσματικότητά τους και επομένως τον περιορισμό των δυνατών εφαρμογών τους (Abdul Mudalip, Khatiman et al. 2021). Για

το λόγο αυτό η τεχνολογία της ενθυλάκωσης καλείται να απαλείψει αυτούς τους περιορισμούς και να προάγει την αποτελεσματικότερη εκμετάλλευση των δράσεων των βιοδραστικών συστατικών.

1.1.4.1 Συστατικά ενδιαφέροντος της παρούσας μελέτης

Οι βιοδραστικές ενώσεις για τις οποίες μελετήθηκε ο εγκλεισμός τους ήταν το δεοξυχολικό οξύ (DCA) και ο βλαστός, τα φύλλα και ο άγουρος και ώριμος καρπός τομάτας ως υπολείμματα της επεξεργασίας τομάτας.

- **Δεοξυχολικό οξύ**

Το δεοξυχολικό οξύ (DCA) είναι ένα δευτερογενές χολικό οξύ που παράγεται φυσικά από το χολικό οξύ στο σώμα μας ως μεταβολικό υποπροϊόν των εντερικών βακτηρίων. Ο ρόλος του είναι η γαλακτωματοποίηση των λιπών ώστε να απορροφηθούν από το έντερο (Thuangtong, Bentow et al. 2010). Για το λόγο αυτό, έχει μελετηθεί εκτενώς η λιπολυτική του δράση που μπορεί να αποβεί εξαιρετικά χρήσιμη στον κλάδο των καλλυντικών. Το ATX-101, ένα ενέσιμο σκεύασμα συνθετικού DCA για τη αντιμετώπιση του ανεπιθύμητου υποδόριου λίπους κάτω από το πηγούνι (submental fat (SMF)) αλλά και άλλων περιοχών συσσωρευμένου λίπους, αποτελεί ένα αντιπροσωπευτικό παράδειγμα προς αυτή την κατεύθυνση (Humphrey, Sykes et al. 2016). Η περιοχή κάτω από το πηγούνι συχνά θεωρείται ως μη ελκυστική γιατί είναι επιρρεπής στη συσσώρευση λίπους. Ωστόσο, η πιο κοινή τεχνική για την αφαίρεση του τοπικού αυτού λίπους είναι μέσω χειρουργικής επέμβασης (λιποαναρρόφηση, πλαστική μυώδους πλατύσματος), με ακριβές, και μερικές φορές επικίνδυνες, τεχνικές που απαιτούν αναισθησία, κατάλληλο εξοπλισμό, εξειδικευμένο προσωπικό και συχνές μετεγχειρητικές επιπλοκές (Rzany, Griffiths et al. 2013, Liu, Chesnut et al. 2019). Η ένεση του ATX-101 είναι μια πολύ λιγότερο επεμβατική τεχνική που προκαλεί ρήξη στις μεμβράνες των λιποκυττάρων οδηγώντας σε μη αναστρέψιμη κυτταρική λύση (λιποκυττάρωση). Ωστόσο, η χρήση του ATX-101 απαιτεί επίσης απαραίτητο εξοπλισμό και εξειδικευμένο προσωπικό για την πραγματοποίηση των ενέσεων, καθιστώντας το απρόσιτο στο ευρύ κοινό ενώ έχουν δημοσιευθεί και μελέτες που αναφέρουν παρενέργειες όπως νέκρωση/ ατροφία του δέρματος τοπικά, έντονο πόνο, σημάδια που παραμένουν, εξέλκωση κ.α. από την ενέσιμη διαδικασία στην περιοχή κάτω από το σαγόνι (Sachdev, Mohammadi et al. 2018, Ramirez, Marinaro et al. 2019, Metzger, Crowley et al. 2020). Κατά συνέπεια η εύρεση εναλλακτικών λύσεων όπως η ενθυλάκωση του δεοξυχολικού οξέος με τη δημιουργία μικρο/νανοδομών σε φυσικές πολυμερείς μήτρες και ενσωμάτωση σε καλλυντικά προϊόντα ευρείας χρήσης, μπορεί να είναι η απάντηση για τη στοχευμένη αντιμετώπιση τοπικού λίπους μη επεμβατικά και ανώδυνα. Αναφέρεται ότι, το άλας νατρίου του δεοξυχολικού οξέος έχει μελετηθεί συνδυαστικά με τη ζεΐνη για τη δημιουργία σταθερού συστήματος εγκλεισμού

για τη μεταφορά φαρμάκων, ωστόσο δεν υπάρχουν αναφορές για την ενθυλάκωση του ίδιου του δεοξυχολικού ως δραστική ουσία (Gagliardi, Paolino et al. 2018).

- **Παραπροϊόντα επεξεργασίας ντομάτας**

Τα υπολείμματα και τα απόβλητα αποτελούν σημαντικό ποσοστό της παγκόσμιας αγροτικής παραγωγικότητας. Επί του παρόντος, η τάση στον τομέα των αγροτικών επιχειρήσεων είναι η ανάκαμψη, η αξιολόγηση και η εύρεση καλύτερων χρήσεων για όλα τα υποπροϊόντα τους, όπως οι φλούδες, οι σπόροι, οι μίσχοι και τα φύλλα (Silva, Ruiz-Cruz et al. 2015). Η τομάτα είναι το τρίτο πιο σημαντικό λαχανικό που καλλιεργείται στον κόσμο (Larbat, Paris et al. 2014). Η ετήσια παραγωγή του ανέρχεται σε 130-150 εκατομμύρια τόνους με περίπου 8 εκατομμύρια τόνους να αντιπροσωπεύουν τα απόβλητά του (Bugatti, Brachi et al. 2019, Trombino, Cassano et al. 2021). Αυτές οι τεράστιες ποσότητες υποπροϊόντων περιλαμβάνουν φύλλα, βλαστούς, ώριμες καλλιέργειες και καρπούς τομάτας που δεν πληρούν τις προδιαγραφές για περαιτέρω εμπορευματοποίηση και θεωρούνται ως περιβαλλοντικό και οικονομικό πρόβλημα χωρίς όφελος (Sarkar and Kaul 2014, Domínguez, Gullón et al. 2020). Αυτά τα υποπροϊόντα της καλλιέργειας τομάτας περιέχουν πολύτιμες βιοδραστικά συστατικά, όπως φαινολικές ενώσεις και φλαβονοειδή, με σπουδαία αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή και αντικαρκινική δράση (Taveira, Silva et al. 2010, Silva, Ruiz-Cruz et al. 2015). Ιδιαίτερη αναφορά πρέπει να γίνει στα γλυκοαλκαλοειδή (τοματίνη, τοματιδίνη) που περιλαμβάνονται στα μέρη του φυτού της τομάτας. Αυτά τα αλκαλοειδή, αποτελούν μέρος του φυσικού προστατευτικού μηχανισμού του φυτού έναντι των παθογόνων μικροοργανισμών, επιδεικνύοντας μεγάλη αντιμυκητιακή, αντιβακτηριακή και εντομοκτόνο δράση (Dzakovich, Hartman et al. 2020, Bailly 2021). Επομένως, η ανάκτηση και αξιοποίηση αυτού του βιοενεργού περιεχομένου μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία καινοτόμων υλικών για διάφορες εφαρμογές.

Με βάση τη βιβλιογραφία, έχουν γίνει πολλές προσπάθειες για τη διερεύνηση μεθόδων για την αξιοποίηση των γεωργικών υπολειμμάτων σε διάφορους τομείς τις τελευταίες δεκαετίες, θεωρώντας τη μετατροπή τους σε νέο πόρο, ως βασική πρόκληση (Bugatti, Brachi et al. 2019, Kumar, Srivastav et al. 2021, Laranjeira, Costa et al. 2022). Επιπλέον, το εργαστήριο ανάλυσης και σχεδιασμού διεργασιών μας είχε προηγουμένως ερευνήσει την ανάπτυξη και τον χαρακτηρισμό καινοτόμων πολυμερικών μεμβρανών εδαφοκάλυψης με ενθυλακωμένα φυσικά φυτοφάρμακα για εφαρμογή σε βιολογικές καλλιέργειες (Stramarkou, Oikonomopoulou et al. 2020) και την εκμετάλλευση υποπροϊόντων της βιομηχανίας επεξεργασίας τομάτας (Szabo, Dulf et al. 2021). Ο συνδυασμός αυτών των προηγούμενων ερευνών αποτέλεσε το επιστημονικό υπόβαθρο για την ανάπτυξη της συγκεκριμένης μελέτης.

1.1.5 Κυριότερες εφαρμογές της ενθυλάκωσης

1.1.5.1 Βιομηχανία καλλυντικών

Η βιομηχανία καλλυντικών και προσωπικής φροντίδας αντιπροσωπεύει έναν από τους πιο κερδοφόρους κλάδους παγκοσμίως με τα περισσότερα από τα προϊόντα της να περιέχουν βιοδραστικές ενώσεις. Λόγω, συνεπώς, της ταχέως ανάπτυξης του συγκεκριμένου κλάδου, απαιτείται και εξέλιξη στην έρευνα γύρω από νέα προϊόντα. Η χρήση αναδυόμενων τεχνολογιών ενθυλάκωσης δίνει προηγμένες και αποτελεσματικές ιδιότητες και κατά συνέπεια οδηγεί σε υπεραξία στα καλλυντικά. Η τεχνολογία της ενθυλάκωσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε καλλυντικές εφαρμογές όπως στην παραγωγή τζελ για ντους και μπάνιο, λοσιόν και κρέμες, προϊόντα μαλλιών, αντηλιακά και κρέμες μαυρίσματος, μακιγιάζ, αρώματα, σαπούνια, προϊόντα απολέπισης, οδοντόπαστες κ.α. Επιπλέον, μπορεί να βοηθήσει στην εξέλιξη των βιομηχανιών καλλυντικών και προσωπικής φροντίδας, καθώς φέρνει καινοτομία και συμβάλει στην παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας, που ανταποκρίνονται στις ανθρώπινες ανάγκες και επιθυμίες (Casanova and Santos 2016). Τα οφέλη της ενθυλάκωσης, όπως η αύξηση της σταθερότητας, η αύξηση της αποτελεσματικότητας και η μείωση της τοξικότητας κερδίζουν διαρκώς έδαφος στις αγορές καλλυντικών και προσωπικής φροντίδας (Elkalla, Khizar et al. 2023). Στο πλαίσιο αυτό πολλές μελέτες έχουν παρουσιάσει την ενθυλάκωση αιθέριων ελαίων (δενδρολίβανο, λεβάντα, τριαντάφυλλο, γαρδένια, ρίγανη κ.α.) ως αρωματικούς παράγοντες ή συντηρητικά σε καλλυντικά προϊόντα αλλά και φυτικών εκχυλισμάτων λόγω της αντιμικροβιακής ή/και αντιοξειδωτικής δράσης τους (de Barros Fernandes, Marques et al. 2014, Carvalho, Estevinho et al. 2016, Yang, Liu et al. 2020, Guzmán and Lucia 2021).

Η εφαρμογή της νανοτεχνολογίας, με την αξιοποίηση των υλικών σε μικρότερα μεγέθη, μπορεί να οδηγήσει σε καινούργιες δυνατότητες για τη βιομηχανία καλλυντικών. Η παρατεταμένη δράση, η αυξημένη βιοδιαθεσιμότητα και η αισθητική βελτίωση της εμφάνισης των προϊόντων είναι μόνο μερικά από τα πλεονεκτήματα που προσφέρει η νανοτεχνολογία στον τομέα των καλλυντικών. Αυτά τα προϊόντα προσφέρουν μειωμένο μέγεθος των δραστικών ουσιών, μεγάλη αύξηση της αναλογίας επιφάνειας προς όγκο, μεγαλύτερη προστασία των ουσιών σε σχέση με τα παραδοσιακά χρησιμοποιούμενα καλλυντικά καθιστώντας τα πιο αποτελεσματικά πρόσθετα στα καλλυντικά (Gurta, Mohapatra et al. 2022). Επιπλέον, η ενσωμάτωση νανοσωματιδίων σε καλλυντικά σκευάσματα δεν υποβαθμίζει τις ιδιότητες των καλλυντικών αλλά βελτιώνει την εμφάνιση και τη διείσδυσή τους στο δέρμα. Οι κατασκευαστές καλλυντικών χρησιμοποιούν συστατικά σε νανομεγέθη για να βελτιώσουν την προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία, τη διείσδυτικότητα, το χρώμα, την απελευθέρωση αρώματος, την ποιότητα του φινιρίσματος, την αντιγηραντική δράση

κ.α. Παρατείνουν τη διάρκεια της δράσης είτε ελέγχοντας την παροχή των δραστικών συστατικών, προκαλώντας εξειδίκευση στη θέση και βελτιώνοντας τη βιοσυμβατότητα ή ενισχύοντας την ικανότητα φόρτωσης φαρμάκου. Τα νανο-καλλυντικά έχουν αξιοποιηθεί σε μεγάλο βαθμό για τη σύνθεση διαφόρων αντιγηραντικών σκευασμάτων, ενώ διατίθενται με επιτυχία ως προϊόντα περιποίησης δέρματος, περιποίησης μαλλιών και νυχιών (Dhawan, Sharma et al. 2020). Μάλιστα, ένας ρυθμός αύξησης της τάξης του 17% κατά μέσο όρο προϊόντων βασισμένων στη νανοτεχνολογία αναμένεται κάθε χρόνο στον κλάδο των καλλυντικών παγκοσμίως (Bilal and Iqbal 2020).

Πρέπει ωστόσο να αναφερθεί ότι, αν και έχουν πολλά οφέλη, ταυτόχρονα, τα προϊόντα της νανοτεχνολογίας διαθέτουν και ορισμένους περιορισμούς που σχετίζονται με τη σταθερότητα, την τοξικότητα, το κόστος τους κ.λπ. Τα προφίλ ασφάλειας και τοξικότητας των νανοϋλικών είναι ακόμη συζητήσιμα. Επιπλέον το μικρό μέγεθος, η αυξημένη επιφάνεια και το θετικό επιφανειακό φορτίο των νανοσωματιδίων, όπως προαναφέρθηκε, σίγουρα βελτιώνουν την ικανότητά τους να αλληλεπιδρούν βιολογικά με το περιβάλλον του δέρματος (Lin, Xie et al. 2018). Από την άλλη πλευρά, όμως, είναι ευρέως γνωστό ότι η βιοδιαθεσιμότητα ενός δραστικού συστατικού επηρεάζεται περισσότερο από τη δοσολογία παρά από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του δραστικού τμήματος. Ως εκ τούτου, στην περίπτωση των καλλυντικών προϊόντων, μια σημαντική ανησυχία για την πρόοδο των νανοσκευασμάτων είναι ότι μπορεί να ενισχύσουν τη συγκέντρωση των δραστικών συστατικών που φτάνουν στο αίμα και να προκαλέσουν τοξικότητα (Souto, Fernandes et al. 2020).

1.1.5.2 Συσσκευασία τροφίμων

Τα τρόφιμα είναι πολύ επιρρεπή στην αλλοίωση, καθιστώντας τα συχνά μη αποδεκτά για τους καταναλωτές μετά από πολύ σύντομο χρόνο αποθήκευσης. Η συσκευασία των τροφίμων είναι, συνεπώς, από τα πιο κρίσιμα σημεία για τον σωστό χειρισμό και τη διατήρηση της ποιότητας των τροφίμων. Η συμβατική συσκευασία τροφίμων εξυπηρετεί τέσσερις βασικές λειτουργίες: την συγκέντρωση-τακτοποίηση, προστασία ή συντήρηση, ευκολία και μεταφορά. Ωστόσο απαιτούνται βελτιώσεις σε αυτές τις βασικές λειτουργίες για τον σχεδιασμό βελτιωμένης, ενεργής ή/και έξυπνης συσκευασίας (Gregor-Svetec 2018). Η παθητική ή παραδοσιακή συσκευασία τροφίμων στρέφεται στις μέρες μας προς την ενεργή ή καινοτόμο συσκευασία τροφίμων ενσωματώνοντας τη χρήση της νανοτεχνολογίας για την παραγωγή έξυπνων, διαδραστικών και ευαίσθητων συσκευασιών τροφίμων με βελτιωμένες λειτουργίες (Mlalila, Kadam et al. 2016). Τα νανοϋλικά και οι βρώσιμες επικαλύψεις που κατασκευάζονται εμφανίζουν σημαντικά πλεονεκτήματα σε σχέση με τα συμβατικά υλικά συσκευασίας για την ποιοτικότερη συντήρηση των προϊόντων διατροφής. Τα νανοσωματίδια μπορούν να τροποποιήσουν τις φυσικές και μηχανικές ιδιότητες του πολυμερούς

συσκευασίας βελτιώνοντας την θερμική αντοχή, την ανθεκτικότητα στην υγρασία, την ευελιξία, την ενίσχυση του φράγματος στο οξυγόνο και την επαναχρησιμοποίησή του. Επιπλέον η νανοοενθυλάκωση αντιμικροβιακών, αντιοξειδωτικών ουσιών, προβιοτικών ή θρεπτικών συστατικών στη συσκευασία μπορεί να οδηγήσει σε επέκταση του χρόνου ζωής και των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του τροφίμου (Mlalila, Kadam et al. 2016). Γενικά, αντιμικροβιακές ουσίες συμπεριλαμβανομένων των ενζύμων, των οργανικών αλάτων και των οξέων τους, μακρομορίων όπως η χιτοζάνη, φυσικά εκχυλίσματα, αιθέρια έλαια, μυκητοκτόνα, μεταλλικά άλατα και νανοϋλικά, είναι κοινές αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ουσίες που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία της συσκευασίας τροφίμων. Οι Alkan και Yemenicioğlu ανέπτυξαν αντιμικροβιακό φιλμ ζεΐνης με εγκλεισμένες φυσικές φαινολικές ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων του γαλλικού, του βανιλλικού οξέος και των εκχυλισμάτων ρίγανης, γαρύφαλλου, κελύφους καρδιού και στελέχους αγκινάρας (Alkan and Yemenicioğlu 2016). Οι αναπτυγμένες ενεργές μεμβράνες ανέστειλαν σημαντικά την ανάπτυξη πολλών παθογόνων βακτηρίων όπως *Xanthomonas vesicatoria*, *Erwinia carotovora*, *E. amylovora* και *Pseudomonas syringae*.

1.2 Αντικείμενο και στόχος

Η τεχνολογία του μικρο- και νανο- εγκλεισμού αναπτύσσεται ραγδαία, ιδιαίτερα την τελευταία δεκαετία, βρίσκοντας εφαρμογή σε ποικίλους τομείς όπως αυτοί των φαρμάκων και των τροφίμων. Η ολοένα και μεγαλύτερη ζήτηση βιοδραστικών συστατικών για καινοτόμες εφαρμογές στη φαρμακοβιομηχανία, τη βιομηχανία τροφίμων κτλ. και η ανάγκη για μέγιστη αξιοποίησή τους με στοχευμένη, ενισχυμένη δράση ελαχιστοποιώντας παράγοντες που θα την περιόριζαν ή κατέστραφαν έχει κάνει όλο και πιο επιτακτική την ανάγκη για εφαρμογή της τεχνολογίας του εγκλεισμού. Η νέα τάση προστάζει την ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών στα φαρμακοτεχνικά σκευάσματα, τα τρόφιμα ή/και τις συσκευασίες τους υπό το πρίσμα μιας νέας εποχής με στροφή στην φύση και την υγιεινή ζωή. Ωστόσο τα συστατικά αυτά στην πλειονότητά τους διαθέτουν κάποιο ή κάποια χαρακτηριστικά που τα περιορίζουν ως προς την λειτουργικότητά τους και την εκτεταμένη χρήση τους σε ποικίλες εφαρμογές. Το κυριότερο πρόβλημα των περισσότερων βιοδραστικών ενώσεων, είναι η έλλειψη σταθερότητας με αποτέλεσμα να υποβαθμίζονται άμεσα με την επεξεργασία και αποθήκευσή τους, χάνοντας έτσι την λειτουργικότητα και επομένως χρησιμότητά τους. Η υγρασία, η θερμοκρασία, το φως αποτελούν μερικούς από τους παράγοντες που συμβάλλουν στην υποβάθμιση των βιοδραστικών ενώσεων. Παράλληλα μία άλλη εξίσου σημαντική παράμετρος που ενδέχεται να δρα ανασταλτικά στην αποδοτική αξιοποίηση των συστατικών αυτών είναι η αδυναμία διαλυτοποίησής τους στο εκάστοτε προϊόν λόγω διαφορετικής φύσης ή άλλα ποιοτικά χαρακτηριστικά τους όπως το χρώμα τους ή μια

έντονη οσμή τους που μπορεί να οδηγούν σε υποβάθμιση του τελικού προϊόντος προσδίδοντάς τους ανεπιθύμητες οργανοληπτικές ιδιότητες. Το στοίχημα συνεπώς, για τις βιομηχανίες σήμερα είναι η δημιουργία σταθερών συστημάτων που θα συνδυάζουν την μέγιστη δυνατή αποτελεσματικότητα και διάρκεια δράσης για τα συστατικά ενδιαφέροντος χωρίς η ενσωμάτωσή τους να αλλοιώνει τα τελικά προϊόντα καθώς αυτά περνούν από διάφορα στάδια ανάπτυξης, επεξεργασίας, αποθήκευσης και διανομής. Στις παραπάνω επιταγές της αγοράς έρχεται να απαντήσει η τεχνολογία της ενθυλάκωσης. Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος εγκλεισμού στη βιομηχανία τροφίμων είναι η ξήρανση με ψεκάσμο. Η μέθοδος αυτή αξιοποιείται εδώ και πολλές δεκαετίες στην ενθυλάκωση πλήθους βιοδραστικών συστατικών (αιθέρια έλαια, χρωστικές, ένζυμα κ.α.). Ωστόσο η μέθοδος αυτή παρουσιάζει σημαντικά μειονεκτήματα και περιορισμούς στη χρήση της. Αρχικά οι υψηλές θερμοκρασίες λειτουργίας της (180-200°C), την καθιστούν απαγορευτική για θερμοευαίσθητα συστατικά, γεγονός που περιορίζει τις δυνατότητες χρήσης της για πολλά βιοδραστικά υλικά. Επιπλέον οι υψηλές θερμοκρασίες περιορίζουν και τις επιλογές των διαλυτών που θα χρησιμοποιηθούν, καθώς θα πρέπει να μην είναι ευφλεκτος (χρήση υδατικών διαλυμάτων) ή σε διαφορετική περίπτωση θα υπάρχει ανάγκη για χρησιμοποίηση ψυκτικών υγρών (συστοιχίες αζώτου) ανεβάζοντας το κόστος λειτουργίας. Οι περιορισμοί επεκτείνονται και στα χαρακτηριστικά των διαλυμάτων εισόδου στο όργανο. Η τροφοδοσία θα πρέπει να έχει υψηλές συγκεντρώσεις στερεών, χαμηλό ιξώδες και το συστατικό ενδιαφέροντος να έχει διασπαρεί δημιουργώντας μίγμα ή γαλάκτωμα στο διάλυμα του φορέα εγκλεισμού καθώς υπάρχει μία μόνο είσοδος για τη διεργασία. Κατά συνέπεια, η ανάπτυξη νέων τεχνικών ενθυλάκωσης συγκεντρώνει μεγάλο επιστημονικό ενδιαφέρον. Μία καινοτόμα τεχνολογία εγκλεισμού που προσελκύει όλο και μεγαλύτερο ερευνητικό ενδιαφέρον, αποτελεί η ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία. Η τεχνολογία αυτή περιλαμβάνει την ηλεκτροστατική ινοποίηση και τον ηλεκτροστατικό ψεκάσμο που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή μικρο- και νανο- ινών και σωματιδίων αντίστοιχα από διαλύματα πολυμερών. Έναντι της ξήρανσης με ψεκάσμο, η διεργασία αυτή λειτουργεί σε θερμοκρασία περιβάλλοντος χωρίς να υποβάλλει τα βιοδραστικά συστατικά σε θερμική καταπόνηση. Το γεγονός αυτό την καθιστά πιο εύχρηστη και ως προς την επιλογή διαλυτών (χρήση και διαλυτών με χαμηλό σημείο βρασμού) ενώ επιτρέπει την επίτευξη υψηλών αποδόσεων εγκλεισμού. Τέλος, η διαμόρφωση του οργάνου της συγκεκριμένης διεργασίας επιτρέπει τη λειτουργία σε δύο συνδεσμολογίες: την μονοαξονική και την ομοαξονική, δίνοντας τη δυνατότητα ανάμιξης ή μη του βιοδραστικού συστατικού με τον φορέα ενθυλάκωσης, αντίστοιχα. Το γεγονός αυτό είναι πολύ σημαντικό στις περιπτώσεις μη αναμίξιμων μεταξύ τους υλικών τοιχώματος-πυρήνα καθώς δεν απαιτεί δημιουργία γαλακτωμάτων. Τα σπουδαία αυτά πλεονεκτήματα έχουν

καταστήσει τη συγκεκριμένη μεθοδολογία, πολύ δημοφιλή στις βιομηχανίες τροφίμων, καλλυντικών και φαρμάκων.

Όσον αφορά στα βιοδραστικά συστατικά, υλικά με λιποδιαλυτικές ιδιότητες στον τομέα της υγείας και ομορφιάς και με σημαντικές αντιοξειδωτικές-αντιμικροβιακές δράσεις στον τομέα των τροφίμων εμφανίζουν μεγάλο ερευνητικό και οικονομικό ενδιαφέρον.

Στόχος της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν η σε βάθος μελέτη της ενθυλάκωσης βιοδραστικών συστατικών με σκοπό την αξιοποίησή τους σε ποικίλες εφαρμογές μέσω της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας. Ειδικότερα, πραγματοποιήθηκε πλήρης αξιολόγηση των δύο εκδοχών της μεθόδου, καθώς διεξήχθη εφαρμογή και χαρακτηρισμός τόσο της ηλεκτροστατικής ινοποίησης όσο και του ηλεκτροστατικού ψεκασμού και μάλιστα για την ίδια μήτρα ενθυλάκωσης. Οι δύο περιπτώσεις αυτής της καινοτόμου διεργασίας, μέσω της παρούσας μελέτης συγκρίθηκαν μεταξύ τους αλλά και με μία συμβατική μέθοδο, αυτή της ξήρανσης με ψεκασμό, για την ενθυλάκωση των ίδιων βιοδραστικών συστατικών και εξήχθησαν συμπεράσματα για τη βέλτιστη διεργασία.

Ως επιμέρους στόχοι της διατριβής αποτέλεσαν οι εξής:

- Μελέτη των λειτουργικών παραμέτρων της καινοτόμου ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας κατά την εφαρμογή πολυμερικών διαλυμάτων
- Ανάπτυξη καινοτόμων νανοδομών από φυσικά πολυμερή μέσω της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας (ηλεκτροστατικός ψεκασμός και ηλεκτροστατική ινοποίηση) σε σχέση με μια συμβατική μέθοδο (ξήρανση με ψεκασμό) με σκοπό τη χρήση τους ως συστήματα ενθυλάκωσης για εφαρμογές στην παραγωγή εξελιγμένων καλλυντικοτεχνικών σκευασμάτων και συσκευασιών τροφίμων.
- Βελτιστοποίηση των διεργασιών ενθυλάκωσης ως προς την απόδοση εγκλεισμού των μελετούμενων βιοδραστικών συστατικών.
- Ανάπτυξη εγκλεισμένων δομών δεοξυχολικού οξέος και εκχυλίσματος φύλλων τομάτας με υψηλή σταθερότητα ως προς την υγρασία, τη θερμοκρασία, την διαλυτότητα και την σταδιακή απελευθέρωση
- Ανάπτυξη λειτουργικών προϊόντων καλλυντικής κρέμας προσώπου εμπλουτισμένης με ενθυλακωμένο δεοξυχολικό οξύ και φιλμ λεπτού υμενίου με επικάλυψη εγκλεισμένου εκχυλίσματος φύλλων τομάτας με παράλληλη διατήρηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών τους.

Βιβλιογραφία

- Abdul Mudalip, S. K., M. N. Khatiman, N. A. Hashim, R. Che Man and Z. I. M. Arshad (2021). "A short review on encapsulation of bioactive compounds using different drying techniques." Materials Today: Proceedings **42**: 288-296.
- Aditya, N., S. Aditya, H.-J. Yang, H. Kim, s. o. Park and S. Ko (2015). "Co-Delivery of hydrophobic curcumin and hydrophilic catechin by a water-in-oil-in-water double emulsion." Food Chemistry **173**: 7–13.
- Aguiar, J., B. N. Estevinho and L. Santos (2016). "Microencapsulation of natural antioxidants for food application – The specific case of coffee antioxidants – A review." Trends in Food Science & Technology **58**: 21-39.
- Alkan, D. and A. Yemencioğlu (2016). "Potential application of natural phenolic antimicrobials and edible film technology against bacterial plant pathogens." Food Hydrocolloids **55**: 1-10.
- Badran, R., R. Gharios and A. R. Tehrani-Bagha. 6. Water-based electrospinning, edited by N. Horzum, M. M. Demir, R. Muñoz-Espí and D. Crespy, *Green Electrospinning*, Boston 2019, De Gruyter, pp: 129-156.
- Bailly, C. (2021). "The steroidal alkaloids α -tomatine and tomatidine: Panorama of their mode of action and pharmacological properties." Steroids **176**: 108933.
- Bayer, I. S. (2021). Zein in Food Packaging. Sustainable Food Packaging Technology: 199-224.
- Bilal, M. and H. M. N. Iqbal (2020) "New Insights on Unique Features and Role of Nanostructured Materials in Cosmetics." Cosmetics **7** DOI: 10.3390/cosmetics7020024.
- Bisceglie, V. (1934). "Über die antineoplastische Immunität." Zeitschrift für Krebsforschung **40(1)**: 122-140.
- Bock, N., M. A. Woodruff, D. W. Hutmacher and T. R. Dargaville (2011) "Electrospraying, a Reproducible Method for Production of Polymeric Microspheres for Biomedical Applications." Polymers **3**, 131-149 DOI: 10.3390/polym3010131.
- Bugatti, V., P. Brachi, G. Viscusi and G. Gorrasi (2019). "Valorization of Tomato Processing Residues Through the Production of Active Bio-Composites for Packaging Applications." Frontiers in Materials **6**.
- Can-Herrera, L. A., A. I. Oliva, M. A. A. Dzul-Cervantes, O. F. Pacheco-Salazar and J. M. Cervantes-Uc (2021) "Morphological and Mechanical Properties of Electrospun Polycaprolactone Scaffolds: Effect of Applied Voltage." Polymers **13** DOI: 10.3390/polym13040662.
- Carvalho, I. T., B. N. Estevinho and L. Santos (2016). "Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal healthcare products – a review." International Journal of Cosmetic Science **38(2)**: 109-119.
- Casanova, F. and L. Santos (2016). "Encapsulation of cosmetic active ingredients for topical application – a review." Journal of Microencapsulation **33(1)**: 1-17.

- Chandrasekara, A. and F. Shahidi (2018). "Herbal beverages: Bioactive compounds and their role in disease risk reduction - A review." Journal of Traditional and Complementary Medicine **8**(4): 451-458.
- Cheng, S. Y., M. C. W. Yuen, C. W. Kan, K. K. L. Cheuk, C. H. Chui and K. H. Lam (2009). "Cosmetic textiles with biological benefits: Gelatin microcapsules containing Vitamin C." Int J Mol Med **24**(4): 411-419.
- Cheng, S. Y., Yuen, C.W.M., Kan, C.W. and Cheuk, K.K.L. (2008). " Development of Cosmetic Textiles Using Microencapsulation Technology." Research Journal of Textile and Apparel **12**(4): 41-51.
- Dai, L., C. Sun, R. Li, L. Mao, F. Liu and Y. Gao (2017). "Structural characterization, formation mechanism and stability of curcumin in zein-lecithin composite nanoparticles fabricated by antisolvent co-precipitation." Food Chemistry **237**: 1163-1171.
- Daniel, S., M. Ana Colette, S. Vitor, S. José Domingos, H. F. Maria and S. G. Pedro (2017). Spray Drying: An Overview. Biomaterials. P. Rosario and M. Teresa. Rijeka, IntechOpen: Ch. 2.
- Danzer, L. A., H. Ades and E. D. Rees (1975). "The helical content of zein, a water insoluble protein, in non-aqueous solvents." Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure **386**(1): 26-31.
- de Barros Fernandes, R. V., G. R. Marques, S. V. Borges and D. A. Botrel (2014). "Effect of solids content and oil load on the microencapsulation process of rosemary essential oil." Industrial Crops and Products **58**: 173-181.
- de Oliveira, J. L., L. F. Fraceto, A. Bravo and R. A. Polanczyk (2021). "Encapsulation Strategies for Bacillus thuringiensis: From Now to the Future." Journal of Agricultural and Food Chemistry **69**(16): 4564-4577.
- de Souza Simões, L., D. A. Madalena, A. C. Pinheiro, J. A. Teixeira, A. A. Vicente and Ó. L. Ramos (2017). "Micro- and nano bio-based delivery systems for food applications: In vitro behavior." Advances in Colloid and Interface Science **243**: 23-45.
- De Vrieze, S., T. Camp, A. Nelvig, B. Hagström, P. Westbroek and K. Clerck (2009). "The effect of temperature and humidity on electrospinning." Journal of Materials Science **44**: 1357-1362.
- Deng, L., X. Kang, Y. Liu, F. Feng and H. Zhang (2017). "Effects of surfactants on the formation of gelatin nanofibres for controlled release of curcumin." Food Chemistry **231**.
- Dhawan, S., P. Sharma and S. Nanda (2020). Chapter 8 - Cosmetic nanoformulations and their intended use. Nanocosmetics. A. Nanda, S. Nanda, T. A. Nguyen, S. Rajendran and Y. Slimani, Elsevier: 141-169.
- Dias, D. R., D. A. Botrel, R. V. D. B. Fernandes and S. V. Borges (2017). "Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods." Current Opinion in Food Science **13**: 31-37.
- Domínguez, R., P. Gullón, M. Pateiro, P. E. S. Munekata, W. Zhang and J. M. Lorenzo (2020). "Tomato as Potential Source of Natural Additives for Meat Industry. A Review." Antioxidants **9**(1).
- Drosou, C. G., M. K. Krokida and C. G. Biliaderis (2017). "Encapsulation of bioactive compounds through electrospinning/electrospraying and spray drying: A comparative assessment of food-related applications." Drying Technology **35**(2): 139-162.

- Dzakovich, M. P., J. L. Hartman and J. L. Cooperstone (2020). "A High-Throughput Extraction and Analysis Method for Steroidal Glycoalkaloids in Tomato." Frontiers in Plant Science **11**.
- Edris, A. E., D. Kalemba, J. Adamiec and M. Piątkowski (2016). "Microencapsulation of Nigella sativa oleoresin by spray drying for food and nutraceutical applications." Food Chemistry **204**: 326-333.
- Elkalla, E., S. Khizar, M. Tarhini, N. Lebaz, N. Zine, N. Jaffrezic-Renault, A. Errachid and A. Elaissari (2023). "Core-shell micro/nanocapsules: from encapsulation to applications." Journal of Microencapsulation **40**(3): 125-156.
- Ezhilarasi, P. N., P. Karthik, N. Chhanwal and C. Anandharamakrishnan (2013). "Nanoencapsulation Techniques for Food Bioactive Components: A Review." Food and Bioprocess Technology **6**(3): 628-647.
- Gagliardi, A., D. Paolino, M. Iannone, E. Palma, M. Fresta and D. Cosco (2018). "Sodium deoxycholate-decorated zein nanoparticles for a stable colloidal drug delivery system." International Journal of Nanomedicine **13**: 601-614.
- Gañán-Calvo, A. M., J. Dávila and A. Barrero (1997). "Current and droplet size in the electrospraying of liquids. Scaling laws." Journal of Aerosol Science **28**(2): 249-275.
- Gao, W., J. Jiang, X. Wang, W. Li and G. Zheng (2023) "State Recognition of Multi-Nozzle Electrospinning Based on Image Processing." Micromachines **14** DOI: 10.3390/mi14030529.
- Garg, K. and G. Bowlin (2011). "Electrospinning Jets and Nanofibrous Structures." Biomicrofluidics **5**: 13403.
- Geranpour, M., E. Assadpour and S. M. Jafari (2020). "Recent advances in the spray drying encapsulation of essential fatty acids and functional oils." Trends in Food Science & Technology **102**: 71-90.
- Gharsallaoui, A., G. Roudaut, O. Chambin, A. Voilley and R. Saurel (2007). "Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview." Food Research International **40**(9): 1107-1121.
- Ghosh, S. K. (2006). Functional Coatings and Microencapsulation: A General Perspective. Weinheim, Wiley-VCH, Verlag GmbH & Co. KgaA.
- Gomez-Estaca, J., M. P. Balaguer, R. Gavara and P. Hernandez-Munoz (2012). "Formation of zein nanoparticles by electrohydrodynamic atomization: Effect of the main processing variables and suitability for encapsulating the food coloring and active ingredient curcumin." Food Hydrocolloids **28**(1): 82-91.
- Gómez-Estaca, J., R. Gavara and P. Hernández-Muñoz (2015). "Encapsulation of curcumin in electrosprayed gelatin microspheres enhances its bioaccessibility and widens its uses in food applications." Innovative Food Science & Emerging Technologies **29**: 302-307.
- Gonçalves, J., N. Torres, S. Silva, F. Gonçalves, J. Noro, A. Cavaco-Paulo, A. Ribeiro and C. Silva (2020). "Zein impart hydrophobic and antimicrobial properties to cotton textiles." Reactive and Functional Polymers **154**: 104664.

- Gregor-Svetec, D. (2018). Chapter 8 - Intelligent Packaging. Nanomaterials for Food Packaging. M. Â. P. R. Cerqueira, J. M. Lagaron, L. M. Pastrana Castro and A. A. M. de Oliveira Soares Vicente, Elsevier: 203-247.
- Guaadaoui, A., S. Benaicha, N. Elmajdoub, M. Bellaoui and A. Hamal (2014). "What is a bioactive compound? A combined definition for a preliminary consensus." International Journal of Nutrition and Food Sciences **3**: 174-179.
- Gupta, V., S. Mohapatra, H. Mishra, U. Farooq, K. Kumar, M. J. Ansari, M. F. Aldawsari, A. S. Alalaiwe, M. A. Mirza and Z. Iqbal (2022) "Nanotechnology in Cosmetics and Cosmeceuticals—A Review of Latest Advancements." Gels **8** DOI: 10.3390/gels8030173.
- Guzmán, E. and A. Lucia (2021) "Essential Oils and Their Individual Components in Cosmetic Products." Cosmetics **8** DOI: 10.3390/cosmetics8040114.
- Haider, A., S. Haider and I.-K. Kang (2018). "A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology." Arabian Journal of Chemistry **11**(8): 1165-1188.
- Humphrey, S., J. Sykes, J. Kantor, V. Bertucci, P. Walker, D. R. Lee, P. F. Lizzul, T. M. Gross and F. C. Beddingfield (2016). "ATX-101 for reduction of submental fat: A phase III randomized controlled trial." Journal of the American Academy of Dermatology **75**(4): 788-797.e787.
- Jacobsen, C., P. J. García-Moreno, A. C. Mendes, R. V. Mateiu and I. S. Chronakis (2018). "Use of Electrohydrodynamic Processing for Encapsulation of Sensitive Bioactive Compounds and Applications in Food." Annual Review of Food Science and Technology **9**(1): 525-549.
- Jaskulski, M., A. Kharaghani and E. Tsotsas (2017). Encapsulation Methods Spray Drying, Spray Chilling and Spray Cooling. Thermal and Nonthermal Encapsulation Methods. M. Krokida. 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300 Boca Raton, CRC Press: 67-114.
- Jaworek, A. (2007). "Micro- and nanoparticle production by electrospraying." Powder Technology **176**(1): 18-35.
- Jia, Z., M.-J. Dumont and V. Orsat (2016). "Encapsulation of phenolic compounds present in plants using protein matrices." Food Bioscience **15**: 87-104.
- Jiang, J., G. Zheng, X. Wang, W. Li, G. Kang, H. Chen, S. Guo and J. Liu (2020) "Arced Multi-Nozzle Electrospinning Spinneret for High-Throughput Production of Nanofibers." Micromachines **11** DOI: 10.3390/mi11010027.
- Jin, J., S. H. Yeom, H. J. Lee, C. K. Choi and S. H. Lee (2023). "The effect of nozzle spacing on the electric field and fiber size distribution in a multi-nozzle electrospinning system." Journal of Applied Polymer Science **140**(16): e53764.
- Joye, I. J. and D. J. McClements (2014). "Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application." Current Opinion in Colloid & Interface Science **19**(5): 417-427.
- Ki, C. S., D. H. Baek, K. D. Gang, K. H. Lee, I. C. Um and Y. H. Park (2005). "Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin–formic acid solution." Polymer **46**(14): 5094-5102.

- Kim, S. and J. Xu (2008). "Aggregate formation of zein and its structural inversion in aqueous ethanol." Journal of Cereal Science **47**(1): 1-5.
- Konermann, L. (2009). "A Simple Model for the Disintegration of Highly Charged Solvent Droplets during Electrospray Ionization." Journal of the American Society for Mass Spectrometry **20**(3): 496-506.
- Kumar, K., S. Srivastav and V. S. Sharanagat (2021). "Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review." Ultrasonics Sonochemistry **70**: 105325.
- Laranjeira, T., A. Costa, C. Faria-Silva, D. Ribeiro, J. M. P. F. de Oliveira, S. Simões and A. Ascenso (2022). "Sustainable Valorization of Tomato By-Products to Obtain Bioactive Compounds: Their Potential in Inflammation and Cancer Management." Molecules (Basel, Switzerland) **27**(5): 1701.
- Larbat, R., C. Paris, J. Le Bot and S. Adamowicz (2014). "Phenolic characterization and variability in leaves, stems and roots of Micro-Tom and patio tomatoes, in response to nitrogen limitation." Plant science : an international journal of experimental plant biology **224**: 62-73.
- Li, Z., H. Jiang, C. Xu and L. Gu (2015). "A review: Using nanoparticles to enhance absorption and bioavailability of phenolic phytochemicals." Food Hydrocolloids **43**: 153-164.
- Lin, H., Q. Xie, X. Huang, J. Ban, B. Wang, X. Wei, Y. Chen and Z. Lu (2018). "Increased skin permeation efficiency of imperatorin via charged ultradeformable lipid vesicles for transdermal delivery." International Journal of Nanomedicine **13**: 831-842.
- Liu, M., C. Chesnut and G. Lask (2019). "Overview of Kybella (Deoxycholic Acid Injection) as a Fat Resorption Product for Submental Fat." Facial Plastic Surgery **35**: 274-277.
- Magoshi, J., S. Nakamura and K.-I. Murakami (1992). "Structure and physical properties of seed proteins. I. Glass transition and crystallization of zein protein from corn." Journal of Applied Polymer Science **45**(11): 2043-2048.
- Matabola, K. P. and R. M. Moutloali (2013). "The influence of electrospinning parameters on the morphology and diameter of poly(vinylidene fluoride) nanofibers- effect of sodium chloride." Journal of Materials Science **48**(16): 5475-5482.
- McKee, M. G., G. L. Wilkes, R. H. Colby and T. E. Long (2004). "Correlations of Solution Rheology with Electrospun Fiber Formation of Linear and Branched Polyesters." Macromolecules **37**(5): 1760-1767.
- Meng, X., Y. Du, Y. Liu, E. B. Coughlin, S. L. Perry and J. D. Schiffman (2021). "Electrospinning Fibers from Oligomeric Complex Coacervates: No Chain Entanglements Needed." Macromolecules **54**(11): 5033-5042.
- Metzger, K. C., E. L. Crowley, D. Kadlubowska and M. J. Gooderham (2020). "Uncommon Adverse Effects of Deoxycholic Acid Injection for Submental Fullness: Beyond the Clinical Trials." Journal of Cutaneous Medicine and Surgery **24**(6): 619-624.
- Mlalila, N., D. M. Kadam, H. Swai and A. Hilonga (2016). "Transformation of food packaging from passive to innovative via nanotechnology: concepts and critiques." Journal of Food Science and Technology **53**(9): 3395-3407.

- Mohammed, N. K., C. P. Tan, Y. A. Manap, B. J. Muhiaddin and A. S. M. Hussin (2020). "Spray Drying for the Encapsulation of Oils-A Review." Molecules (Basel, Switzerland) **25**(17): 3873.
- Oehlke, K., D. Behsnlian, E. Mayer-Miebach, P. G. Weidler and R. Greiner (2017). "Edible solid lipid nanoparticles (SLN) as carrier system for antioxidants of different lipophilicity." PLOS ONE **12**(2): e0171662.
- Pachau, L., Laldinchhana, P. K. Roy, J. H. Zothantluanga, S. Ray and S. Das (2021). Encapsulation of Bioactive Compound and Its Therapeutic Potential. Bioactive Natural Products for Pharmaceutical Applications. D. Pal and A. K. Nayak. Cham, Springer International Publishing: 687-714.
- Park, C. H. and J. Lee (2009). "Electrosprayed polymer particles: Effect of the solvent properties." Journal of Applied Polymer Science **114**(1): 430-437.
- Pellicer, J. A., M. I. Fortea, J. Trabal, M. I. Rodríguez-López, C. Carazo-Díaz, J. A. Gabaldón and E. Núñez-Delicado (2018). "Optimization of the microencapsulation of synthetic strawberry flavour with different blends of encapsulating agents using spray drying." Powder Technology **338**: 591-598.
- Piñón-Balderrama, C. I., C. Leyva-Porras, Y. Terán-Figueroa, V. Espinosa-Solís, C. Álvarez-Salas and M. Z. Saavedra-Leos (2020) "Encapsulation of Active Ingredients in Food Industry by Spray-Drying and Nano Spray-Drying Technologies." Processes **8** DOI: 10.3390/pr8080889.
- Ramirez, M. R., R. E. Marinaro, M. L. Warthan and C. S. Burton (2019). "Permanent Cutaneous Adverse Events After Injection With Deoxycholic Acid." Dermatologic Surgery **45**(11).
- Ray, S. S., S.-S. Chen, N. C. Nguyen and H. T. Nguyen (2019). Chapter 9 - Electrospinning: A Versatile Fabrication Technique for Nanofibrous Membranes for Use in Desalination. Nanoscale Materials in Water Purification. S. Thomas, D. Pasquini, S.-Y. Leu and D. A. Gopakumar, Elsevier: 247-273.
- Rayleigh, L. (1882). "XX. On the equilibrium of liquid conducting masses charged with electricity." The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science **14**(87): 184-186.
- Rodríguez-Félix, F., C. L. Del-Toro-Sánchez, F. Javier Cinco-Moroyoqui, J. Juárez, S. Ruiz-Cruz, G. A. López-Ahumada, E. Carvajal-Millan, D. D. Castro-Enríquez, C. G. Barreras-Urbina and J. A. Tapia-Hernández (2019). "Preparation and Characterization of Quercetin-Loaded Zein Nanoparticles by Electrospinning and Study of In Vitro Bioavailability." Journal of Food Science **84**(10): 2883-2897.
- Rzany, B., T. Griffiths, P. Walker, S. Lippert, J. McDiarmid and B. Havlickova (2013). "Reduction of unwanted submental fat with ATX-101 (deoxycholic acid), an adipocytolytic injectable treatment: Results from a phase III, randomized, placebo-controlled study." The British journal of dermatology **170**.
- Sachdev, D., T. Mohammadi and S. G. Fabi (2018). "Deoxycholic Acid-Induced Skin Necrosis: Prevention and Management." Dermatologic Surgery **44**(7).
- Saifullah, M., M. R. I. Shishir, R. Ferdowsi, M. R. Tanver Rahman and Q. Van Vuong (2019). "Micro and nano encapsulation, retention and controlled release of flavor and aroma compounds: A critical review." Trends in Food Science & Technology **86**: 230-251.
- SalehHudin, H. S., E. N. Mohamad, A. M. Afifi and W. N. L. W. Mahadi (2023). "Simulation and experimental study of parameters in multiple-nozzle electrospinning: Effects of voltage and

- nozzle configuration on the electric field and electrospun jet attributes." Journal of Manufacturing Processes **85**: 544-555.
- SalehHudin, H. S., E. N. Mohamad, W. N. L. Mahadi and A. M. Afifi (2021). "Simulation and experimental study of parameters in multiple-nozzle electrospinning: Effects of nozzle arrangement on jet paths and fiber formation." Journal of Manufacturing Processes **62**: 440-449.
- Sarkar, A. and P. Kaul (2014). "Evaluation of Tomato Processing By-Products: A Comparative Study in a Pilot Scale Setup." Journal of Food Process Engineering **37**(3): 299-307.
- Sharif, N., M. Fabra and A. López-Rubio (2019). Nanostructures of zein for encapsulation of food ingredients: 217-245.
- Shenoy, S. L., W. D. Bates, H. L. Frisch and G. E. Wnek (2005). "Role of chain entanglements on fiber formation during electrospinning of polymer solutions: good solvent, non-specific polymer–polymer interaction limit." Polymer **46**(10): 3372-3384.
- Shishir, M. R. I., L. Xie, C. Sun, X. Zheng and W. Chen (2018). "Advances in micro and nano-encapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters." Trends in Food Science & Technology **78**: 34-60.
- Shukla, R. and M. Cheryan (2001). "Zein: The industrial protein from corn." Industrial Crops and Products **13**: 171-192.
- Silva, N., S. Ruiz-Cruz, L. Cira, M. Estrada, J. Ornelas-Paz, M. López, L. Del Toro, J. F. Ayala-Zavala and E. Marquez Rios (2015). "Total Phenolic, Flavonoid, Tomatine, and Tomatidine Contents and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Extracts of Tomato Plant." International Journal of Analytical Chemistry **2015**: 1-10.
- Sosnik, A. and K. P. Seremeta (2015). "Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers." Advances in Colloid and Interface Science **223**: 40-54.
- Souto, E. B., A. R. Fernandes, C. Martins-Gomes, T. E. Coutinho, A. Durazzo, M. Lucarini, S. B. Souto, A. M. Silva and A. Santini (2020) "Nanomaterials for Skin Delivery of Cosmeceuticals and Pharmaceuticals." Applied Sciences **10** DOI: 10.3390/app10051594.
- Stramarkou, M., V. Oikonomopoulou, T. Missirli, I. Thanassoulia and M. Krokida (2020). "Encapsulation of Rosemary Essential Oil into Biodegradable Polymers for Application in Crop Management." Journal of Polymers and the Environment **28**.
- Suganya, V. and V. Anuradha (2017). "Microencapsulation and Nanoencapsulation: A Review." International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research **9**.
- Szabo, K., F. V. Dulf, B.-E. Teleky, P. Eleni, C. Boukouvalas, M. Krokida, N. Kapsalis, A. V. Rusu, C. T. Socol and D. C. Vodnar (2021) "Evaluation of the Bioactive Compounds Found in Tomato Seed Oil and Tomato Peels Influenced by Industrial Heat Treatments." Foods **10** DOI: 10.3390/foods10010110.
- Taveira, M., L. R. Silva, L. A. Vale-Silva, E. Pinto, P. Valentão, F. Ferreres, P. Guedes de Pinho and P. B. Andrade (2010). "Lycopersicon esculentum Seeds: An Industrial Byproduct as an Antimicrobial Agent." Journal of Agricultural and Food Chemistry **58**(17): 9529-9536.

- Taylor, G. I. (1964). "Disintegration of water drops in an electric field." Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences **280**(1382): 383-397.
- Thuangtong, R., J. J. Bentow, K. Knopp, A. N. Mahmood, E. N. David and S. M. Kolodney (2010). "Tissue-Selective Effects of Injected Deoxycholate." Dermatologic Surgery **36**: 899-908.
- Torres-Giner, S., A. Martínez-Abad, M. Ocio and J. M. Lagaron (2010). "Stabilization of a Nutraceutical Omega-3 Fatty Acid by Encapsulation in Ultrathin Electrospayed Zein Prolamine." Journal of food science **75**: N69-79.
- Tortorella, S., M. Maturi, V. Vetri Buratti, G. Vozzolo, E. Locatelli, L. Sambri and M. Comes Franchini (2021). "Zein as a versatile biopolymer: different shapes for different biomedical applications." RSC Advances **11**(62): 39004-39026.
- Trombino, S., R. Cassano, D. Procopio, M. L. Di Gioia and E. Barone (2021). "Valorization of Tomato Waste as a Source of Carotenoids." Molecules (Basel, Switzerland) **26**(16): 5062.
- Yan, X., M. Li, X. Xu, X. Liu and F. Liu (2022). "Zein-based nano-delivery systems for encapsulation and protection of hydrophobic bioactives: A review." Frontiers in Nutrition **9**.
- Yang, S., L. Liu, J. Han and Y. Tang (2020). "Encapsulating plant ingredients for dermocosmetic application: an updated review of delivery systems and characterization techniques." International Journal of Cosmetic Science **42**(1): 16-28.
- Zabot, G. L., F. Schaefer Rodrigues, L. Polano Ody, M. Vinícius Tres, E. Herrera, H. Palacin, J. S. Córdova-Ramos, I. Best and L. Olivera-Montenegro (2022) "Encapsulation of Bioactive Compounds for Food and Agricultural Applications." Polymers **14** DOI: 10.3390/polym14194194.
- Zargham, S., S. Bazgir, A. Tavakoli, A. Rashidi and R. Damerchely (2012). "The Effect of Flow Rate on Morphology and Deposition Area of Electrospun Nylon 6 Nanofiber." Journal of Engineered Fibers and Fabrics **7**: 42-49.
- Zhang, C., X. Yuan, L. Wu, Y. Han and J. Sheng (2005). "Study on morphology of electrospun poly(vinyl alcohol) mats." European Polymer Journal **41**(3): 423-432.
- Zhang, S., C. Campagne and F. Salaün (2019) "Influence of Solvent Selection in the Electrospaying Process of Polycaprolactone." Applied Sciences **9** DOI: 10.3390/app9030402.
- Zulkifli, M. Z., D. Nordin, N. Shaari and S. K. Kamarudin (2023) "Overview of Electrospinning for Tissue Engineering Applications." Polymers **15** DOI: 10.3390/polym15112418.

2 Ανάκτηση βιοδραστικών συστατικών από τα υπολείμματα υδροπονικής καλλιέργειας τομάτας

2.1 Εισαγωγή

Το 40% περίπου του φυτού της τομάτας, σήμερα, παραμένει αχρησιμοποίητο και απορρίπτεται κατά τη διάρκεια της παραγωγής, της συγκομιδής και της επεξεργασίας της (Taylor and Fraser 2011). Τα απόβλητα περιλαμβάνουν φύλλα και βλαστούς που είτε αφαιρούνται τακτικά από τις καλλιέργειες για την βελτίωση της παραγωγής των καρπών είτε παραμένουν μετά την συγκομιδή και απορρίπτονται ετησίως σε χώρους υγειονομικής ταφής. Η αυξανόμενη ζήτηση για βιωσιμότητα στα τρόφιμα και τον γεωργικό τομέα έχει οδηγήσει στην εξερεύνηση νέων προσεγγίσεων για την αξιοποίηση αυτών των ρών αποβλήτων για να εξουδετερώσει το κόστος διάθεσης.

Στο παρόν κεφάλαιο πραγματοποιήθηκε ανάκτηση βιοδραστικών συστατικών από τα μέρη του φυτού της τομάτας (φύλλα, βλαστοί) που παραμένουν ανεκμετάλλευτα στον αγρό μετά την συγκομιδή των καρπών και τα οποία θα οδηγούνταν ως επί τω πλείστων για καύση. Για το σκοπό αυτό μελετήθηκαν διαφορετικές μέθοδοι εκχύλισης: με απλή ανάδευση, Soxhlet, υποβοηθούμενη από υπερήχους, μικροκύματα και η εκχύλιση με πεπιεσμένο υγρό. Τα εκχυλίσματα που συλλέχθηκαν μελετήθηκαν ως προς το περιεχόμενό τους σε βιοδραστικά συστατικά με εγκεκριμένα πρωτόκολλα και επιλέχθηκε το βέλτιστο για ενθυλάκωση με απώτερο σκοπό την αξιοποίησή του στη συσκευασία τροφίμων. Για το επιλεγμένο εκχύλισμα πραγματοποιήθηκε λεπτομερέστερη μελέτη για την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των κυριότερων περιεχόμενων φαινολικών, καροτενοειδών και αλκαλοειδών.

2.2 Προκατεργασία υπολειμμάτων

Οι πρώτες ύλες (φύλλα και βλαστοί τομάτας) παραλήφθηκαν από την εταιρεία Agritex ως υπολείμματα της συγκομιδής της υδροπονικής καλλιέργειας τομάτας τους. Ακολούθησε κοπή και τοποθέτηση στους $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 24 h. Στη συνέχεια υπέστησαν λυοφυλίωση σε ξηραντήρα υπό κατάψυξη (Leybold-Heraeus GT 2A, Koln, Germany) για 8 h υπό υψηλό κενό (3 mbar). Η ξήρανση αντιπροσωπεύει μια ουσιαστική προεπεξεργασία, καθώς επιτυγχάνει την ελαχιστοποίηση της μικροβιακής ανάπτυξης, των οξειδωτικών αντιδράσεων, ενώ οδηγεί σε μείωση του όγκου και του βάρους του υλικού για αποδοτικότερη εκμετάλλευση. Μεταξύ όλων των τεχνικών ξήρανσης, η λυοφυλίωση επιλέχθηκε καθώς αποτελεί την πιο ευγενή μέθοδο και διατηρεί αποτελεσματικά την αισθητική και θρεπτική αξία των προϊόντων τα οποία θα μπορούσαν να αλλοιωθούν με χρήση κάποιας άλλης μεθόδου ξήρανσης π.χ. ξήρανσης με ψεκασμό, λόγω των υψηλών θερμοκρασιών λειτουργίας της (Oikonomopoulou and Krokida 2017).

2.3 Προσδιορισμός περιεχομένου σε ολικές χλωροφύλλες και ολικά καροτενοειδή

Πραγματοποιήθηκε μελέτη για την ποσοτικοποίηση των χλωροφυλλών α και β στις πρώτες ύλες και μέσω αυτών υπολογίστηκαν και τα ολικά καροτενοειδή, τιμή που συγκρίθηκε με την τιμή τους όπως αυτή προσδιορίστηκε μέσω της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης που θα αναφερθεί στη συνέχεια. Για το σκοπό αυτό 0,1-0,2 g πρώτης ύλης (λυοφυλιωμένη σκόνη φύλλων ή βλαστού) αναμίχθηκαν με 10 mL 80% ακετόνη. Ύστερα από καλή ανάδευση, ακολούθησε φυγοκέντρηση στα 3500 rpm για 5 λεπτά και συλλογή του υπερκείμενου υγρού. Η διαδικασία επαναλήφθηκε μέχρι να αποχρωματιστεί το υπόλειμμα (Argon 1949). Τα υπερκείμενα αναμίχθηκαν και μετρήθηκε η απορρόφηση του μίγματος με φασματοφωτόμετρο UV-Vis (BEL Photonics) στα 663, 645 και 470 nm. Οι τιμές απορρόφησης χρησιμοποιήθηκαν στη συνέχεια στους ακόλουθους τύπους (Wellburn 1994). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg/L από τις εξισώσεις και τροποποιήθηκαν σε mg/g ξηρής μάζας.

$$\text{Χλωροφύλλη } \alpha = 12,25 \cdot \text{Abs}_{663} - 2,79 \cdot \text{Abs}_{645} \quad (3)$$

$$\text{Χλωροφύλλη } \beta = 21,5 \cdot \text{Abs}_{645} - 5,1 \cdot \text{Abs}_{663} \quad (4)$$

$$\text{Ολικά καροτενοειδή} = \frac{1000 \cdot \text{Abs}_{470} - 1,82 \cdot \text{Χλωροφύλλη } \alpha - 85,02 \cdot \text{Χλωροφύλλη } \beta}{198} \quad (5)$$

2.4 Μέθοδοι εκχύλισης

2.4.1 Εκχύλιση Soxhlet

Η εκχύλιση με τη μέθοδο Soxhlet είναι η πλέον διαδεδομένη, μικρής κλίμακας, και οικονομική τεχνική εκχύλισης που υπερτερεί σε απόδοση έναντι άλλων συμβατικών τεχνικών. Η αποτελεσματικότητα της μεθόδου εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του φυτικού ιστού και από το μέγεθος των σωματιδίων, καθώς η εσωτερική διάχυση είναι το καθοριστικό στάδιο της εκχύλισης.

Στα πλεονεκτήματα της μεθόδου περιλαμβάνονται η συνεχής επαφή του οργανικού διαλύτη με το στερεό φυτικό υλικό και η απουσία του σταδίου της διήθησης μετά την έκπλυση. Ως βασικά μειονεκτήματα της μεθόδου Soxhlet καταλογίζονται η μεγάλη χρονική διάρκεια της εκχύλισης, η κατανάλωση μεγάλων όγκων διαλύτη, η απουσία ανάδευσης και η πιθανή θερμική αποσύνθεση των καροτενοειδών λόγω των υψηλών θερμοκρασιών που εφαρμόζονται, καθώς η εκχύλιση πραγματοποιείται κοντά στο σημείο ζέσεως του διαλύτη για μεγάλο χρονικό διάστημα (Luque de Castro and Priego-Capote 2010).

Με τη συγκεκριμένη μέθοδο πραγματοποιήθηκαν δύο ειδών εκχυλίσεις:

Εκχύλιση μίας φάσης: Απευθείας εκχύλιση της πρώτης ύλης για καθένα από τα δύο μελετώμενα μέρη του φυτού (φύλλα, βλαστός)

Εκχύλιση δύο φάσεων: 1η: Παραμονή υπό ανάδευση σε μίγμα Αιθανόλης: Οξικού οξέος (95:5 v/v) για 72 h, διήθηση υπό κενό και εν συνεχεία 2η: Εκχύλιση Soxhlet του στερεού. Πραγματοποιήθηκε συλλογή και ανάμιξη των εκχυλισμάτων και από τις δύο φάσεις της εκχύλισης.

Σε όλες τις περιπτώσεις το πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε παρατίθεται στον ακόλουθο πίνακα:

Πίνακας 3: Πρωτόκολλο εκχύλισης Soxhlet για όλα τα δείγματα

Χρησιμοποιούμενοι διαλύτες	Αιθανόλη: Οξικό οξύ (95:5 v/v)
Αναλογία στερεού: διαλύτη	1:20 w/v
Διάρκεια/ αρ. σιφωνισμών	8h/ 20 σιφωνισμοί

2.4.2 Εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερήχους και μικροκύματα

Η εκχύλιση με χρήση υπερήχων (Ultrasound assisted extraction (UAE)) αποτελεί μία σύγχρονη εναλλακτική της συμβατικής εκχύλισης με οργανικούς διαλύτες γιατί είναι ταχύτερη και παρέχει μεγαλύτερες αποδόσεις ανάκτησης των βιοδραστικών συστατικών με μικρότερη κατανάλωση διαλυτών. Η αποτελεσματική εκχύλιση με χρήση υπερήχων σχετίζεται με το φαινόμενο που ονομάζεται ακουστική σπηλαίωση (Tiwari 2015). Η διάδοση των υπερήχων δημιουργεί κοιλότητες ή μικροφουσαλίδες στο υγρό. Μόλις σχηματιστούν, οι φουσαλίδες απορροφούν ενέργεια από τα ηχητικά κύματα και αναπτύσσονται κατά τη διάρκεια των κύκλων διαστολής, ενώ κατά τη διάρκεια του κύκλου συμπίεσης επανασυμπιέζονται (Louisnard and González-García 1970). Με τον τρόπο αυτό πλήττεται η επιφάνεια της στερεάς δομής, προκαλείται διάσπασή της και απελευθέρωση των επιθυμητών συστατικών. Ο μηχανισμός της συγκεκριμένης μεθόδου βασίζεται σε μηχανικές και θερμικές επιδράσεις που καταλήγουν στη διάρρηξη των κυτταρικών τοιχωμάτων, στη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων και στην ενισχυμένη μεταφορά μάζας μέσω των κυτταρικών μεμβρανών. Τα οφέλη της εκχύλισης με υπερήχους συνοψίζονται σε: α) μια συνολική βελτίωση του ρυθμού εκχύλισης θερμοευαίσθητων συστατικών, παρέχοντας τη δυνατότητα χρήσης χαμηλότερων θερμοκρασιών επεξεργασίας, β) στη δυνατότητα χρήσης εναλλακτικών (GRAS) διαλυτών εκχύλισης, βελτιώνοντας τις επιδόσεις τους, και γ) την ελάττωση του χρόνου εκχύλισης στα 10-20 min για την πλειονότητα των πρώτων υλών.

Η εκχύλιση με χρήση μικροκυμάτων (Microwave assisted extraction (MAE)) βασίζεται στη βοήθεια της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με συχνότητες από 0,3 έως 300 GHz, η οποία παράγει θερμότητα μέσα στο υλικό μέσω διπολικής περιστροφής και ιοντικής αγωγής των μορίων. Η ενεργοποίηση αυτών των μορίων και η θερμότητα που παράγεται σε αυτήν τη διαδικασία μπορεί να αποδυναμώσουν ή να σπάσουν τα κυτταρικά τοιχώματα, έτσι οι βιοδραστικές ενώσεις μπορούν να απελευθερωθούν ευκολότερα από τη μήτρα υλικού στους διαλύτες εκχύλισης (Chuyen, Nguyen

et al. 2018). Πιο συγκεκριμένα, η εσωτερική υγρασία των κυττάρων εξατμίζεται με τη θερμότητα που παράγεται από τα μικροκύματα κι έτσι αναπτύσσεται υψηλή πίεση στο κυτταρικό τοίχωμα. Η αύξηση της πίεσης μεταβάλλει τις φυσικές ιδιότητες των βιολογικών ιστών, αυξάνει το πορώδες του βιολογικού υλικού και έτσι επιτρέπει την ευκολότερη διείσδυση του διαλύτη εκχύλισης στο υλικό και συνεπώς την ανάκτηση των επιθυμητών συστατικών. Το πλεονέκτημα της εκχύλισης με χρήση μικροκυμάτων σε σχέση με την κλασική εκχύλιση είναι ότι το υλικό θερμαίνεται εσωτερικά και εξωτερικά ομοιόμορφα, και τα προς ανάκτηση συστατικά εκχυλίζονται αποτελεσματικά με μικρότερη κατανάλωση ενέργειας και διαλύτη (Mandal, Mohan et al. 2006).



Εικόνα 6 Διάταξη εκχύλισης με μικροκύματα και υπερήχους.

Όπως και στην περίπτωση της εκχύλισης Soxhlet, οι υπέρηχοι και τα μικροκύματα χρησιμοποιήθηκαν συνδυαστικά και με ήπια ανάδευση για ορισμένο χρόνο. Οι εκχυλίσεις που πραγματοποιήθηκαν με τις μεθόδους αυτές συνοψίζονται στον ακόλουθο πίνακα.

Πίνακας 4: Πρωτόκολλο εκχυλίσεων με υπερήχους και συνδυαστικά με υπερήχους-μικροκύματα

Μέθοδος	Ανάλυση
UAE 20 min	Απευθείας εκχύλιση ξηρού δείγματος με υπερήχους
UAE-MAE 20 min	Απευθείας εκχύλιση ξηρού δείγματος με συνδυαστική χρήση υπερήχων και μικροκυμάτων
4h-UAE 20 min	Παραμονή υπό ανάδευση σε μίγμα αιθανόλης/οξικού οξέος (95:5 v/v) για 4 h, διήθηση υπό κενό και εκχύλιση με υπερήχους για 20 min
72h-UAE 10 min	Παραμονή υπό ανάδευση σε μίγμα αιθανόλης/οξικού οξέος (95:5 v/v) για 72 h, διήθηση υπό κενό και εκχύλιση με υπερήχους για 10 min
72h-UAE 20 min	Παραμονή υπό ανάδευση σε μίγμα Αιθανόλης/Οξικού οξέος (95:5 v/v) για 72 h, διήθηση υπό κενό και εκχύλιση με

υπερήχους για 20 min

Για όλες τις παραπάνω μεθόδους η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε σε συσκευή XO-SM50 Ultrasonic Microwave Reaction System (Nanjing Xianou Instruments Manufacture co., Ltd., Nanjing City, China).

UAE: συχνότητα 25 kHz, 450 W (50 %) και 50°C με αναλογία στερεού/διαλύτη 1:20

MAE: συχνότητα 200 W, 50°C με αναλογία στερεού/διαλύτη 1:20

2.4.3 Εκχύλιση με χρήση πεπιεσμένου υγρού

Η εκχύλιση με χρήση πεπιεσμένου υγρού (Pressurized liquid extraction (PLE) που αναφέρεται επίσης ως επιταχυνόμενη εκχύλιση με διαλύτη, συνδυάζει υψηλή θερμοκρασία και πίεση για να προκαλέσει μια εξαντλητική εκχύλιση βιοδραστικών παραγόντων από ένα στερεό πλέγμα. Λόγω αυτής της συνδυασμένης χρήσης θερμοκρασίας και πίεσης, οι ρυθμοί μεταφοράς μάζας ενισχύονται, ενώ ταυτόχρονα, η επιφανειακή τάση και το ιξώδες του διαλύτη μειώνονται και η διαλυτότητα των δραστικών ουσιών αυξάνεται. Αυτό επιτρέπει στον διαλύτη να διεισδύσει ευκολότερα και βαθύτερα στο στερεό που εκχυλίζεται. Κατά συνέπεια, επιτυγχάνονται σημαντικά υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης σε σύγκριση με τις συμβατικές εκχυλίσεις. Επομένως, το PLE οδηγεί όχι μόνο σε ταχύτερες διαδικασίες εκχύλισης αλλά και σε χαμηλότερη κατανάλωση διαλύτη για την προετοιμασία του δείγματος. Επιπλέον, τα περισσότερα από τα όργανα που χρησιμοποιούνται για το PLE είναι αυτοματοποιημένα, επιτρέποντας την ανάπτυξη μεθόδων λιγότερο έντονης λειτουργίας βελτιώνοντας την αναπαραγωγιμότητα (Alvarez-Rivera, Bueno et al. 2020).



Εικόνα 7 Διάταξη εκχύλισης με χρήση πεπιεσμένου υγρού (PLE)

Το PLE είναι μια από τις πιο υποσχόμενες τεχνικές στην εκχύλιση βιοδραστικών ενώσεων. Κατά τη διεργασία αυτή, οι διαλύτες χρησιμοποιούνται κοντά στην υπερκρίσιμη περιοχή τους, όπου οι υψηλές θερμοκρασίες παράγουν υψηλή διαλυτότητα και υψηλούς ρυθμούς διάχυσης διαλυμένων ουσιών στο διαλύτη, ενώ η υψηλή πίεση, κρατώντας τον διαλύτη κάτω από το σημείο βρασμού του, επιτρέπει υψηλή διείσδυση του διαλύτη στο δείγμα. Αυτή η τεχνική είναι μια διαδικασία εκχύλισης στερεού-υγρού που εκτελείται σε υψηλές θερμοκρασίες (25–200 °C) με υψηλές πιέσεις (500–3000 psi) για μικρά χρονικά διαστήματα (5–20 min) (Picó 2012). Έτσι, ο διαλύτης διατηρείται σε υγρή κατάσταση καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας εκχύλισης. Αυτή η μέθοδος απαιτεί μικρούς όγκους οργανικών διαλυτών, παρουσία μεγάλων ποσοτήτων νερού στο δείγμα, παρέχοντας υψηλή απόδοση εκχύλισης, ενώ οι παράμετροι που επηρεάζουν την εκχύλιση και πρέπει να λαμβάνονται υπόψη είναι ο χρόνος εκχύλισης, η πίεση που χρησιμοποιείται και η θερμοκρασία εκχύλισης (Alvarez-Rivera, Bueno et al. 2020).

Για τη συγκεκριμένη μέθοδο χρησιμοποιήθηκε όργανο PLE της εταιρείας FMS - Fluid Management Systems, με εφαρμογή πίεσης 1750 psi από φιάλη αζώτου σε κλειστό σύστημα των φύλλων τομάτας με διαλύτη Αιθανόλη/οξικό οξύ (95:5 v/v) σε αναλογία δείγματος-διαλύτη 1:20. Ο χρόνος εκχύλισης ήταν 20 λεπτά και η θερμοκρασία διατηρήθηκε μέχρι 60°C.

2.4.4 Υπολογισμός της απόδοσης εκχύλισης

Για τον υπολογισμό της απόδοσης εκχύλισης, τα εκχυλίσματα που προέκυψαν από τις διαφορετικές εκχυλίσεις τοποθετήθηκαν σε προζυγισμένες φιάλες και οδηγήθηκαν σε περιστροφικό εξατμιστήρα (Rotavapor R-210, Buchi, Germany) με σκοπό την απομάκρυνση του διαλύτη. Ακολούθησε παραμονή τους σε θάλαμο θερμοκρασίας 42 °C για 12 h ώστε να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα διαλυτών και παραλήφθηκαν τα ξηρά εκχυλίσματα προς ζύγιση. Ο υπολογισμός της απόδοσης εκχύλισης έγινε σύμφωνα με την εξίσωση 4:

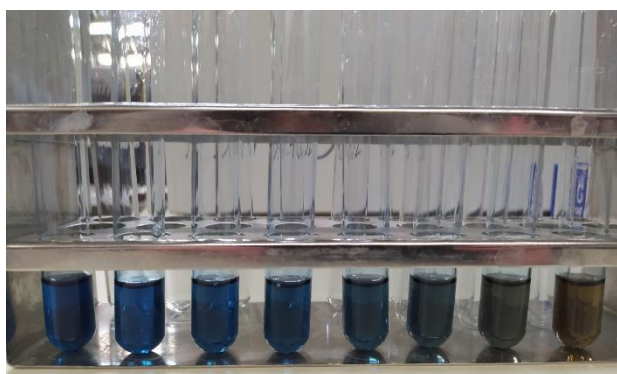
$$\text{Απόδοση εκχύλισης \%} = \frac{\text{μάζα ξηρού εκχυλίσματος}}{\text{μάζα αρχικής ξηρής βιομάζας}} \times 100 \quad (6)$$

2.4.5 Χαρακτηρισμός εκχυλισμάτων και επιλογή βέλτιστου για ενθυλάκωση

Η επιλογή του βέλτιστου εκχυλίσματος ώστε να αξιοποιηθεί περαιτέρω για ενθυλάκωση έγινε μέσω της αξιολόγησης του βιοδραστικού περιεχομένου δειγμάτων που προέκυψαν από τις διαφορετικές διεργασίες εκχύλισης. Πιο συγκεκριμένα, αξιολογήθηκε το περιεχόμενο των εκχυλισμάτων σε φαινολικά, φλαβονοειδή και η αντιοξειδωτικής τους δράση με τη μέθοδο ανίχνευσης DPPH. Για το βέλτιστο εκχύλισμα πραγματοποιήθηκε και ταυτοποίηση των κυριότερων δραστικών ουσιών με χρήση Υγρής Χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC), συμπεριλαμβανομένου και του περιεχομένου σε γλυκοαλκαλοειδή με πιστοποιημένη αντιμικροβιακή δράση (τοματίνη, τοματιδίνη).

2.4.5.1 Συνολικό φαινολικό περιεχόμενο (Total Phenolic Content, TPC)

Για τον προσδιορισμό του ολικού φαινολικού φορτίου των εκχυλισμάτων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Folin-Ciocalteu (Folin and Ciocalteu 1927) η οποία εφαρμόστηκε απευθείας στα εκχυλίσματα που συλλέχθηκαν από τις διαφορετικές μεθόδους εκχύλισης. Πιο συγκεκριμένα προστέθηκαν σε δοκιμαστικό σωλήνα 100 μL δείγματος (εκχύλισμα), 7,9 mL απιονισμένο νερό και 500 μL αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Ακολούθησε ανάδευση σε vortex και έπειτα το διάλυμα αφέθηκε σε ηρεμία για 30 λεπτά απουσία φωτός. Ύστερα, έγινε προσθήκη 1500 μL δ/τος Na_2CO_3 . Ακολούθησε και πάλι ανάδευση σε vortex κι έπειτα παραμονή για 30 λεπτά σε υδατόλουτρο στους 40°C . Στην συνέχεια, το διάλυμα φωτομετρήθηκε σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis (Bel Photonics) στα 765 nm με τυφλό, αντιστοιχώς παρασκευασμένο δείγμα όπου στη θέση των 100 μL δείγματος προστέθηκε απιονισμένο νερό. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως ισοδύναμα mg γαλλικού οξέος (Gallic acid equivalents, GAE)/ g ξηρής μάζας) μέσω γνωστής καμπύλης βαθμονόμησης πρότυπου γαλλικού οξέος.



Εικόνα 8 Δείγματα μέτρησης ολικού φαινολικού φορτίου με χρήση του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu (φθίνουσα συγκέντρωση φαινολικών από αριστερά προς τα δεξιά)

2.4.5.2 Συνολικό περιεχόμενο σε φλαβονοειδή (Total Flavonoid Content, TFC)

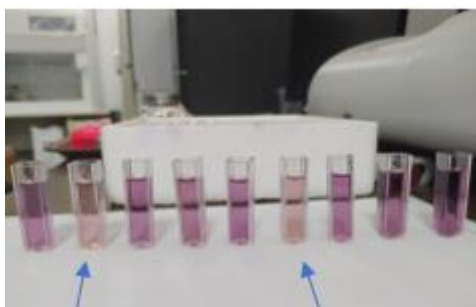
Για την μέτρηση του περιεχομένου των εκχυλισμάτων σε φλαβονοειδή πραγματοποιήθηκε διαλυτοποίησή τους σε μεθανόλη. Στη συνέχεια παραλήφθηκαν 400 μL δείγματος και αναμίχθηκαν με 1,72 mL NaNO_2 5% (w/v) και ακολούθησε επώαση για 5 min. Στη συνέχεια προστέθηκαν στο μίγμα 120 μL of AlCl_3 (10%) και 1,76 mL NaOH (1 mol/L) και μετρήθηκε η απορρόφηση στα 496 nm σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis (Bel Photonics) χρησιμοποιώντας την ουσία κερκετίνη (quercetin) σαν πρότυπο. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg ισοδύναμων κερκετίνης (QE) ανά g ξηρής μάζας (Silva-Beltrán, Ruiz-Cruz et al. 2015).



Εικόνα 9 Δείγματα για μέτρηση φλαβονοειδών (με σειρά από αριστερά προς τα δεξιά από το τυφλό προς το πλουσιότερο σε φλαβονοειδή δείγμα).

2.4.5.3 Αντιοξειδωτική ικανότητα

Για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων χρησιμοποιήθηκε το 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζύλιο (DPPH) που αποτελεί μια σταθερή ρίζα με έντονο ιώδες χρώμα και παρουσιάζει ισχυρή απορρόφηση στα 515 nm στο φάσμα του ορατού. Κατά τη διάρκεια της αντίδρασης του με κάποια ένωση, αποσπά άτομα H και παράγει την αντίστοιχη υδραζίνη (A^{•-}), η οποία λόγω απουσίας μονήρους ηλεκτρονίου, απορροφά ελάχιστα στα μήκη κύματος της ορατής ακτινοβολίας. Σε άλλη περίπτωση το αντιοξειδωτικό αντιδρά με το DPPH και δεσμεύεται πάνω σε αυτό (Molyneux 2003).



Εικόνα 10 Ενδεικτική απεικόνιση αποχρωματισμού δειγμάτων εκχυλίσματος φύλλων τομάτας που αναμίχθηκαν με το DPPH.

Για την εφαρμογή της μεθόδου, παρασκευάστηκε αρχικά διάλυμα του DPPH. Για το σκοπό αυτό ζυγίστηκαν 2,9 mg αντιδραστηρίου, αραιώθηκαν με 100 mL μεθανόλης σε ειδικό δοχείο που ασφαλίζει και το διάλυμα αναδεύτηκε μέχρι πλήρους διάλυσης απουσία φωτός. Στη συνέχεια, σε ειδικές κυψελίδες εισήχθησαν με τη βοήθεια πιπέτας 3,9 mL διαλύματος DPPH και 0,1 mL εκχυλίσματος και πραγματοποιήθηκε μέτρηση της απορρόφησης σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis στα 515 nm σε χρόνο 0, 10, 20, 30 και 60 min. Σαν τυφλό χρησιμοποιήθηκε διάλυμα που στη θέση του δείγματος χρησιμοποιήθηκε ο διαλύτης της εκχύλισης. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα Trolox μέσω γνωστής καμπύλης βαθμονόμησης της πρότυπης ουσίας.

2.4.6 Προφίλ επιλεγμένου εκχυλίσματος

Εφαρμόστηκε υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης για την ανάλυση του προφίλ του εκχυλίσματος που επιλέχθηκε για ενθυλάκωση. Συγκεκριμένα έγινε προσπάθεια ανίχνευσης και ταυτοποίησης των κυριότερων ουσιών του εκχυλίσματος που έδωσε τις υψηλότερες τιμές ολικών φαινολικών-φλαβονοειδών και μέγιστη αντιοξειδωτική δράση. Η μέθοδος υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης που χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση των κύριων φαινολικών και καρροτενοειδών ενώσεων του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας προτάθηκε από τους Merken και Beecher (Merken and Beecher 2000) και τροποποιήθηκε από τους Tsimogiannis et al. (Tsimogiannis, Stavrakaki et al. 2006). Το χρωματογραφικό σύστημα αποτελείτο από μια αντλία Shimadzu Prominence-i LC -2030C 3D Plus, με αυτόματο δειγματολήπτη και ανιχνευτή συστοιχίας φωτοδιόδων (Photodiode Array, (PDA) detector, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Germany). Η στήλη Kromasil 100-5-C18 (5 μm, 250 x 4,6 mm, Nouryon, Amsterdam, Netherlands) χρησιμοποιήθηκε υπό θερμοστατικές συνθήκες στους 30 °C. Τα δείγματα εγχύθηκαν μετά από διήθηση (0,45 μm, φίλτρα σύριγγας PVDF, Teknokroma, Barcelona, Ισπανία) και ο ρυθμός ροής ήταν 1 mL/min. Το σύστημα διαλυτών αποτελούνταν από νερό (A), μεθανόλη (B), ακετονιτρίλιο (C) και ισοπροπανόλη (D) που το καθένα περιείχε 0,2% τριφθοροξικό οξύ. Η αρχική σύσταση της κινητής φάσης ήταν 90% A, 6% B και 4% C. Με γραμμική κλίση, η σύνθεση άλλαζε σε 85% A, 9% B και 6% C μέσα σε 5 λεπτά, 71% A, 17,4 % B και 11,6% C εντός 30 λεπτών, 0% A, 85% B και 15% C εντός 60 λεπτών και 60% B και 40% D εντός 70 λεπτών με διατήρηση έως τα 80 λεπτά. Ο όγκος έγχυσης ήταν 20 μL, ενώ η έκλυση των ενώσεων παρακολουθήθηκε στα 360 και 445 nm. Ο έλεγχος του συστήματος, η καταγραφή και η επεξεργασία των δεδομένων πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το λογισμικό εργασίας LabSolutions (Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Germany). Η ταυτοποίηση των ενώσεων πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τα φάσματα UV-Vis των κορυφών, τους χρόνους κατακράτησης, τη χρήση προτύπων και τη σύγκριση με δεδομένα της βιβλιογραφίας. Η ρουτίνη, η λουτεΐνη και το β-καροτένιο ποσοτικοποιήθηκαν σύμφωνα με καμπύλες βαθμονόμησης που λήφθηκαν με τις αντίστοιχες πρότυπες ενώσεις αναφοράς, ενώ οι υπόλοιπες καρροτενοειδείς ενώσεις ποσοτικοποιήθηκαν ως ισοδύναμα λουτεΐνης σύμφωνα με την αντίστοιχη καμπύλη βαθμονόμησης. Οι καμπύλες βαθμονόμησης ελήφθησαν στην περιοχή 20-200 mg/L αναλύοντας τέσσερις συγκεντρώσεις (20, 50, 100, 200 mg/L) των πρότυπων ενώσεων. Η ανίχνευση των ενώσεων πραγματοποιήθηκε στα προαναφερθέντα μήκη κύματος και οι προκύπτουσες γραμμικές συναρτήσεις παρουσίασαν $R^2 > 0,996$.

2.4.6.1 Ανίχνευση γλυκοαλκαλοειδών

Τα γλυκοαλκαλοειδή είναι μεταβολίτες που προστατεύουν τα φυτά από έντομα, μύκητες, βακτήρια και ιούς. Επιπλέον, παρουσιάζουν μια ποικιλία από φαρμακολογικές και θρεπτικές ιδιότητες σε ζώα και ανθρώπους (Taveira, Ferreres et al. 2012, Choi, Lee et al. 2013). Έγινε προσπάθεια ανίχνευσης των ουσιών τοματίνη και τοματιδίνη μέσω της μεθόδου Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Πίεσης (HPLC) συζευγμένης με ανιχνευτή συστοιχίας φωτοδίοδων (Photodiode Array Detector-PDA). Ειδικότερα οι δύο ουσίες ποσοτικοποιήθηκαν με εφαρμογή της μεθόδου που προτείνεται από τους Okamura et al. (Okamura, Fujimoto et al. 1994) για τον προσδιορισμό καρνοσικού οξέος σε εκχυλίσματα δενδρολίβανου. Για την ανίχνευση χρησιμοποιήθηκε η στήλη Kromasil 100-5-C18 (Nouygon, Sweden). Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε υπό ισοκρατικές συνθήκες με 0,1% φωσφορικό οξύ και 60% ακετονιτρίλιο ως κινητή φάση με ρυθμό ροής 1,0 mL/min και ανίχνευση στα 232 nm. Ο ποσοτικός προσδιορισμός βασίστηκε στην αντίστοιχη καμπύλη βαθμονόμησης που κατασκευάστηκε με πρότυπες ενώσεις αναφοράς. Τα πρότυπα διαλύματα παρασκευάστηκε εις διπλούν σε συγκέντρωση 1500 mg/L. Τα μητρικά διαλύματα αραιώθηκαν στα 1200, 1000, 800, 500, 200, 100, 50 και 20 mg/L και όλα τα δείγματα αναλύθηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφηκε παραπάνω. Η γραμμική συνάρτηση των εμβαδών κορυφής στα 232 nm με τη συγκέντρωση της τοματίνης και τοματιδίνης παρουσίασε $R^2 = 0,999$, καθώς και μεγάλη γραμμική περιοχή και για τις δύο ουσίες.

2.4.7 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

Για τα αποτελέσματα των μετρήσεων εφαρμόστηκαν αναλύσεις διακύμανσης (ANOVA) κατά δύο παράγοντες (factorial) προκειμένου να αναλυθούν οι διαφορές μεταξύ των παραγόμενων εκχυλισμάτων ως προς το βιοδραστικό τους περιεχόμενο. Όλες οι στατιστικές δοκιμές πραγματοποιήθηκαν με το λογισμικό STATISTICA (έκδοση 13.6 StatSoft® Inc., Palo Alto, ΗΠΑ). Εφαρμόστηκε η δοκιμή Tukey και οι τιμές που παρουσίαζαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους ($p < 0,05$) εμφάνιζαν διαφορετικό εκθέτη.

2.5 Αποτελέσματα

2.5.1 Περιεχόμενο πρώτων υλών σε χλωροφύλλες και ολικά καροτενοειδή

Στον ακόλουθο πίνακα παρατίθενται οι τιμές του περιεχομένου των λυοφιλιωμένων φύλλων και βλαστού σε χλωροφύλλες και ολικά καροτενοειδή όπως αυτές υπολογίστηκαν από τις εξισώσεις 1-3 (βλ. υποενότητα 2.3).

Πίνακας 5 Περιεχόμενο υπολειμμάτων καλλιέργειας τομάτας (φύλλα, βλαστοί) σε χλωροφύλλες α, β και ολικά καροτενοειδή.

	Χλωροφύλλη α (mg/g ξ.β.)	Χλωροφύλλη β (mg/g ξ.β.)	Ολικά Καροτενοειδή (mg/g ξ.β.)
Φύλλα	5,88	3,22	1,57
Βλαστός	0,696	0,192	0,173

Στη βιβλιογραφία, οι τιμές που καταγράφονται για τα φύλλα της τομάτας κυμαίνονται στα 4-15 mg/g ξ.β., στα 3-5,5 mg/g ξ.β. και 3-4,5 mg/g ξ.β. για τις χλωροφύλλες α, β και τα ολικά καροτενοειδή, αντίστοιχα (Latkowska, Lechowski et al. 2006, Aydi, Sassi Aydi et al. 2023). Όπως ήταν αναμενόμενο, το περιεχόμενο σε χλωροφύλλες ήταν αυξημένο στα φύλλα και αποτελεί έναν πρώτο δείκτη υγείας αυτών των πρώτων υλών (Dey, Sharma et al. 2016, Ahmad, Muttalib et al. 2023) καθώς φαίνεται πως δεν έχουν αλλοιωθεί τα βασικά χαρακτηριστικά τους από την μεταχείριση στο χωράφι και την μετέπειτα μεταφορά τους.

2.5.2 Χαρακτηρισμός εκχυλισμάτων

Στον ακόλουθο πίνακα συνοψίζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων για το βιοδραστικό περιεχόμενο των εκχυλισμάτων από τα φύλλα και το βλαστό τομάτας υδροπονικής καλλιέργειας. Συγκεκριμένα προσδιορίστηκαν η απόδοση εκχύλισης, το ολικό περιεχόμενο σε φαινολικά, φλαβονοειδή και η αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων, ενώ πραγματοποιήθηκε και στατιστική επεξεργασία για την ανίχνευση της σημαντικότητας των διαφορών των υπολογιζόμενων μεγεθών μεταξύ των διαφορετικών μεθόδων εκχύλισης για καθένα από τα δύο μέρη του φυτού.

Πίνακας 6 Απόδοση εκχύλισης, ολικό φαινολικό φορτίο, ολικά φλαβονοειδή και αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων φύλλων και βλαστού τομάτας για τις διαφορετικές μεθόδους εκχύλισης που εφαρμόστηκαν.

Μέρος φυτού	Μέθοδος εκχύλισης	Απόδοση εκχύλισης (%) / 72h- Soxhlet	TPC (mg GAE/g ξηρής βιομάζας)	TFC (mg QE/g ξηρής βιομάζας)	DPPH (mg TE/g ξηρής βιομάζας)
Φύλλα	UAE 20 min	45,7 ± 0,33 ^h	23,1 ± 0,24 ^f	10,9 ± 0,69 ^f	2,06 ± 0,18 ⁱ
	UAE-MAE 20 min	63,5 ± 0,20 ^d	8,58 ± 0,35 ⁱ	8,23 ± 1,2 ^g	0,82 ± 0,050 ^k
	Ανάδευση 4h-UAE 20 min	47,6 ± 0,079 ^g	29,4 ± 0,49 ^e	11,4 ± 0,31 ^e	2,56 ± 0,12 ^h

	Ανάδευση 72h UAE 10 min	67,8 ± 1,02 ^c	86,2 ± 0,57 ^b	17,3 ± 0,42 ^c	7,75 ± 0,22 ^c
	Ανάδευση 72h- UAE 20 min	88,9 ± 0,15^a	102 ± 2,2^a	27,9 ± 0,57^a	12,4 ± 0,23^a
	PLE 20 min	76,0 ± 2,2 ^b	33,3 ± 2,1 ^d	8,13 ± 0,41 ^g	5,64 ± 0,05 ^d
	UAE 20 min	26,9 ± 0,020 ^j	5,86 ± 0,63 ^j	3,56 ± 0,88 ⁱ	1,48 ± 0,57 ^j
	UAE-MAE 20 min	16,1 ± 0,010 ^k	3,27 ± 0,15 ^k	1,61 ± 1,2 ^j	0,34 ± 0,19 ^l
	Ανάδευση 4h-UAE 20 min	41,7 ± 0,041 ⁱ	11,3 ± 0,38 ^h	6,86 ± 0,94 ^h	2,97 ± 0,19 ^g
Βλαστός	Ανάδευση 72h- UAE 10 min	52,7 ± 0,16 ^f	19,8 ± 0,68 ^g	13,4 ± 0,87 ^d	4,89 ± 0,32 ^e
	Ανάδευση 72h- UAE 20 min	55,4 ± 0,14^e	58,5 ± 4,9^c	21,9 ± 1,2^b	8,24 ± 0,60^b
	PLE 20 min	48,4 ± 0,33 ^g	22,3 ± 0,18 ^f	11,0 ± 0,07 ^{e,f}	3,21 ± 0,06 ^f

* Οι τιμές με διαφορετικό εκθέτη είναι στατιστικά σημαντικά διαφορετικές ($p < 0,05$).

Όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα του πίνακα, παρουσιάστηκαν εν γένει σημαντικές διαφορές στο βιοδραστικό περιεχόμενο των εκχυλισμάτων τόσο για τα δείγματα από το ίδιο μέρος του φυτού με εφαρμογή διαφορετικής μεθόδου εκχύλισης όσο και μεταξύ των δύο μερών του φυτού. Επιπλέον, και για τα δύο μέρη του φυτού η μέθοδος της ανάδευσης για 72h με επακόλουθη χρήση υπερήχων για 20 λεπτά στο υπόλειμμα έδωσε τα πιο πλούσια, σε βιοδραστικά συστατικά, εκχυλίσματα. Το γεγονός ότι η διεργασία 72h-UAE 10 min οδήγησε σε εκχυλίσματα με μικρότερο περιεχόμενο σε βιοδραστικά από τη διεργασία των 72h-UAE 20 min δείχνει και τη σημαντική συμβολή των υπερήχων στην παραλαβή τους. Ακόμα, το PLE αποτελεί μία καινοτόμα και πολλά υποσχόμενη μέθοδο, όπως φάνηκε από τα αποτελέσματα. Ειδικότερα, η μέθοδος αυτή, όσον αφορά στα φύλλα, έδωσε υψηλή απόδοση εγκλεισμού (τη δεύτερη υψηλότερη μετά την διεργασία των 72h-UAE 20 min) και βιοδραστικό περιεχόμενο μεγαλύτερο της απευθείας εκχύλισης με υπερήχους (UAE). Όσον αφορά στο βλαστό, που συνολικά έδωσε μικρότερες τιμές σε όλες τις μετρήσεις από τα φύλλα, τα εκχυλίσματα της μεθόδου αυτής βρέθηκαν ανταγωνιστικά (μη στατιστικά σημαντικές διαφορές) ως προς το βιοδραστικό τους περιεχόμενο (TPC, TFC) και την απόδοση εκχύλισης σε σχέση με εκείνα που παραλήφθηκαν από την αποκλειστική χρήση υπερήχων και την 4ωρη κατεργασία με επακόλουθη χρήση υπερήχων για τα δείγματα των φύλλων. Αντίθετα η συνδυαστική χρήση υπερήχων και μικροκυμάτων έδωσε τα εκχυλίσματα με το μικρότερο βιοδραστικό περιεχόμενο, γεγονός που οφείλεται πιθανότατα στην μεγάλη αύξηση της θερμοκρασία λόγω των μικροκυμάτων που έφτασε τους 60-70°C. Η ταχεία αύξηση της θερμοκρασίας του μείγματος εκχύλισης που μπορεί να τερματίσει γρήγορα τη διαδικασία εκχύλισης λόγω του βρασμού του διαλύτη αποτελεί ένα από τα βασικά μειονεκτήματα της εκχύλισης με μικροκύματα (Chuyen, Nguyen et al. 2018). Όταν η εκχύλιση τερματίζεται νωρίς, οι

επιθυμητές ενώσεις δεν διαχέονται επαρκώς από το υλικό στον διαλύτη και κατά συνέπεια η απόδοση εκχύλισης να μειώνεται (Nguyen, Vuong et al. 2017). Βελτίωση στα αποτελέσματα αυτής της μεθόδου θα μπορούσε να προκύψει με την εφαρμογή διαλείπουσας λειτουργίας του οργάνου ώστε να προλαβαίνει να ψυχθεί το μίγμα κι έτσι να παραταθεί σημαντικά ο χρόνος εκχύλισης.

Το ολικό φαινολικό φορτίο μετρήθηκε σε μέγιστο τα 101 και τα 58,5 mg GAE/g ξ.β. για τα φύλλα και το βλαστό αντίστοιχα με τις τιμές που αναφέρονται στη βιβλιογραφία να κάνουν λόγο για ένα εύρος μεταξύ 83 και 125 mg GAE/g για τα φύλλα της τομάτας (Silva-Beltrán, Ruiz-Cruz et al. 2015). Πρέπει να τονιστεί ότι οι περιβαλλοντικές συνθήκες, συμπεριλαμβανομένου της ηλιακής έκθεσης, της υγρασίας, της θερμοκρασίας και της εποχής, διαδραματίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στα επίπεδα των περιεχόμενων φαινολικών ενώσεων στο φυτό (Slimestad and Verheul 2009).

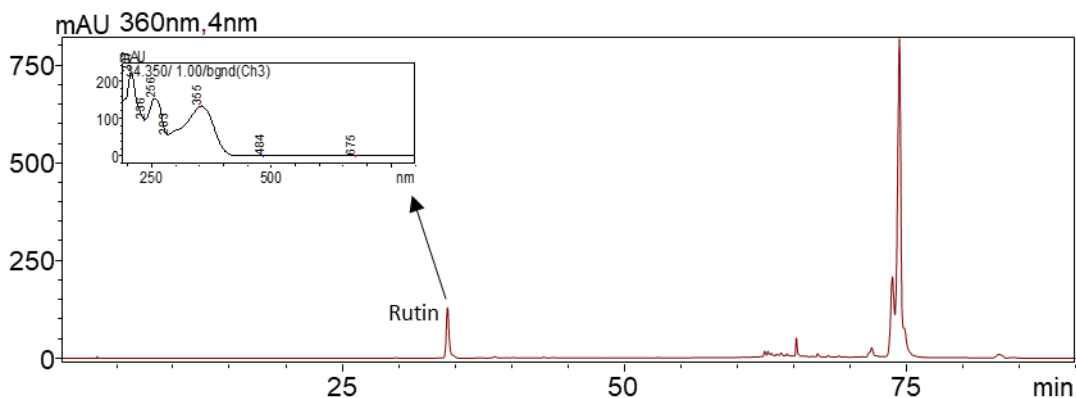
Όσον αφορά στο περιεχόμενο σε φλαβονοειδή, στη βιβλιογραφία αναφέρονται τιμές μεταξύ 25-60 mg Qe/g ξ.β. για τα φύλλα και το βλαστό από διάφορες ποικιλίες τομάτας (Silva-Beltrán, Ruiz-Cruz et al. 2015). Ωστόσο, τόσο η ποικιλία όσο και η χώρα προέλευσης αποτελούν καθοριστικούς παράγοντες οι οποίοι μπορούν να μεταβάλουν κατά πολύ το περιεχόμενο σε φλαβονοειδή (Arab, Bahramian et al. 2019).

Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφερθεί ότι η ανάδευση για 72 ώρες πριν την εφαρμογή των υπερήχων ή/και που εφαρμόστηκε μεταξύ άλλων, έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς για τη μεγιστοποίηση του βιοδραστικού περιεχομένου στα εκχυλίσματα φυτικών πρώτων υλών με κοινότερο διαλύτη την αιθανόλη (Vongsak, Sithisarn et al. 2013, Buanasari, Eden et al. 2017, Muhamad, On et al. 2019, Silva, Salvador et al. 2020, Yildirim 2022, Mukhametov, Pallivets et al. 2023).

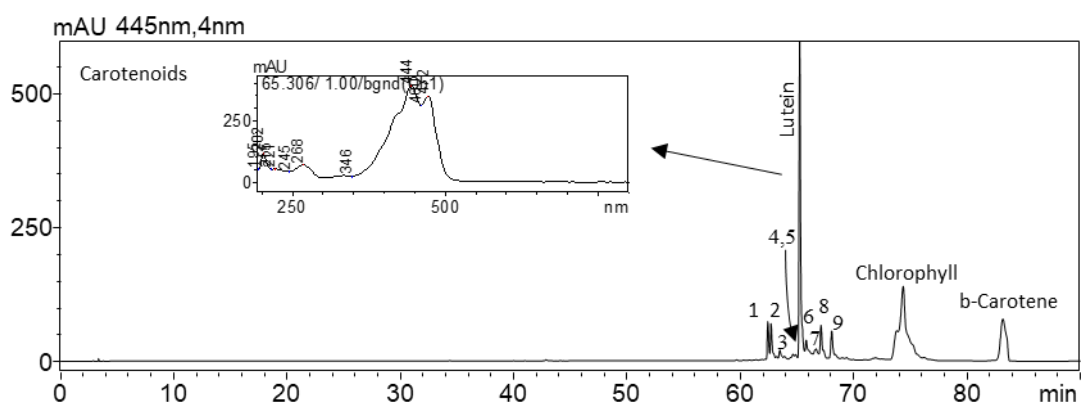
Το εκχύλισμα των φύλλων τομάτας από την ανάδευση 72 ωρών και την επακόλουθη εφαρμογή υπερήχων ήταν αυτό που επιλέχθηκαν για τη διεργασία ενθυλάκωσης λόγω του μεγαλύτερου περιεχομένου τους σε βιοδραστικά συστατικά και την υψηλότερη απόδοση εκχύλισης. Σε αυτό πραγματοποιήθηκε και περαιτέρω διερεύνηση του προφίλ των κυριότερων ενώσεων που περιέχει.

2.5.3 Περαιτέρω χαρακτηρισμός επιλεγμένου εκχυλίσματος με χρήση HPLC

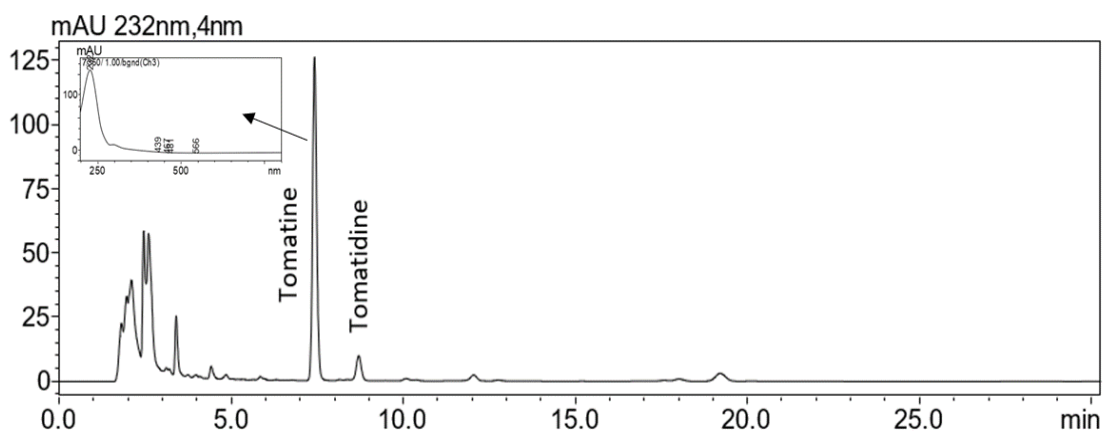
Το εκχύλισμα των φύλλων που προέκυψε από ανάδευση 72 ωρών ακολουθούμενη από εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερήχους και επέδειξε το υψηλότερο περιεχόμενο σε βιοδραστικά συστατικά με βάση τη μελέτη που προηγήθηκε, εξετάστηκε περαιτέρω με χρήση υγρής χρωματογραφίας με ανιχνευτή συστοιχίας φωτοδιόδων (PDA) ώστε να ταυτοποιηθούν οι κύριες ενώσεις του.



Σχήμα 1 Χρωματογράφημα εκχυλίσματος φύλλων τομάτας στα 360nm. Ανίχνευση του φλαβονοειδούς ρουτίνη.



Σχήμα 2 Χρωματογράφημα εκχυλίσματος φύλλων τομάτας στα 445nm. Ανίχνευση του καροτενοειδούς λουτεΐνη (κορυφές 1-9 άλλες ενώσεις καροτενοειδών).



Σχήμα 3 Χρωματογράφημα εκχυλίσματος φύλλων τομάτας στα 232 nm. Ανίχνευση των γλυκοαλκαλοειδών τοματίνη και τοματιδίνη.

Η ανάλυση του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας με τη χρήση της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης επιβεβαίωσε την ύπαρξη φλαβονοειδών (κυρίως ρουτίνη), καροτενοειδών (κυρίως λουτεΐνη και β-καροτένιο) και αλκαλοειδών (τοματίνη, τοματιδίνη) που είχαν ήδη εντοπιστεί με τη χρήση φωτόμετρου με τα πρωτόκολλα των ολικών φλαβονοειδών και του DPPH αλλά τώρα έγινε και ανίχνευσή τους ονομαστικά. Επιπλέον με βάση πρότυπα διαλύματα αυτών των ενώσεων που

αναλύθηκαν με την ίδια μέθοδο προσδιορίστηκε η συγκέντρωσή τους στο εκχύλισμα. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον ακόλουθο πίνακα.

Πίνακας 7 Ανάλυση βέλτιστου εκχυλίσματος φύλλων τομάτας σε βιοδραστικά συστατικά ανά g αρχικής ξηρής πρώτης ύλης.

Συστατικό	mg/g ξ.β
Ρουτίνη	1,37 ± 0,22
Λουτεΐνη	0,832 ± 0,12
B-καροτένιο	0,297 ± 0,057
Καροτενοειδή ως ισοδύναμα λουτεΐνης	0,433 ± 0,044
Ολικά καροτενοειδή	1,56 ± 0,34
Τοματίνη	2,37 ± 0,25
Τοματιδίνη	0,261 ± 0,059

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται συγκεντρώσεις ρουτίνης μεταξύ 0,4-1,2 mg/g ξ.β. για τα φύλλα της τομάτας, με τα ώριμα φύλλα να δίνουν τις μικρότερες τιμές έναντι των νεότερων (Groher, Röhlen-Schmittgen et al. 2019). Επιπλέον παρατηρήθηκε από την ανάλυση ότι το κύριο καροτενοειδές στα φύλλα ήταν η λουτεΐνη (Inbaraj and Chen 2008). Αναφέρεται ότι η τιμή των ολικών καροτενοειδών που υπολογίστηκε με την HPLC και τις καμπύλες αναφοράς βρίσκεται πολύ κοντά με την αντίστοιχη τιμή για τα ολικά καροτενοειδή που υπολογίστηκε μέσω των τιμών χλωροφυλλών a και b και είχε προκύψει 1,57 mg/g ξ.β. των φύλλων. Τέλος, όσον αφορά στα γλυκοαλκαλοειδή, το περιεχόμενο σε τοματίνη έχει υπολογιστεί μεταξύ 2,4-4,9 mg/g ξ. εκχ. και σε τοματιδίνη μεταξύ 0,22-0,82 mg/g ξ. εκχ. (Silva-Beltrán, Ruiz-Cruz et al. 2015) ενώ σε άλλη μελέτη δίνεται για το περιεχόμενο σε τοματίνη ένα εύρος τιμών 0,97-4,9 mg/g νωπών φύλλων τομάτας (Md Abu Bakar and Nigel 2019). Αναφέρεται ότι οι Tam et al. μελέτησαν την ικανότητα της τοματίνης στην αντιμετώπιση διαφορετικών στελεχών του γένους *Trichomonas* ενώ εξέτασαν σκόνες διαφορετικών μερών του φυτού της τομάτας ως προς την αναχαίτιση παθογόνων βακτηρίων (*B. Cereus*, *S. Enterica*) και μυκήτων (*C. Albicans*) με τη σκόνη των φύλλων να εμφανίζει την υψηλότερη συγκέντρωση σε τοματίνη και την καλύτερη αντιβακτηριδιακή και αντιμυκητιακή δράση (Tam, Nguyen et al. 2021).

2.6 Συμπεράσματα

Στο παρόν κεφάλαιο πραγματοποιήθηκε εκχύλιση φύλλων και βλαστών τομάτας που αποτελούν υπολείμματα της καλλιέργειας του φυτού και θα παρέμεναν αναξιοποίητα στο χωράφι οδηγούμενα προς καύση. Η ανάλυση των εκχυλισμάτων τους απέδειξε το πλούσιο βιοδραστικό τους περιεχόμενο με τα φύλλα να εμφανίζουν μεγαλύτερες τιμές για όλες τις μεθόδους εκχύλισης που εφαρμόστηκαν. Η συνδυαστική χρήση της ανάδευσης για 72 ώρες και επακόλουθη χρήση υπερήχων επιλέχθηκε ως η βέλτιστη μέθοδος εκχύλισης. Από την παρούσα μελέτη γίνεται αντιληπτό ότι η αξιοποίηση των υπολειμμάτων της τομάτας μπορεί να οδηγήσει στην παραλαβή

σημαντικών αντιοξειδωτικών και αντιμικροβιακών ουσιών σε σημαντικές ποσότητες, δημιουργώντας νέες δυνατότητες για την αξιοποίησή τους.

Βιβλιογραφία

- Ahmad, N. A., M. F. A. Muttalib, M. N. A. Uda, Z. A. Arsat, F. Abdullah, M. K. R. Hashim, F. A. Azizan, M. F. Jusoh, S. R. S. Kamaruzaman and A. A. Nordin (2023). "Measurement of leaf chlorophyll content in Harumanis mango cultivated in a greenhouse using SPAD meter." Materials Today: Proceedings.
- Alvarez-Rivera, G., M. Bueno, D. Ballesteros-Vivas, J. Mendiola and E. Ibáñez (2020). Pressurized Liquid Extraction: 375-398.
- Arab, M., B. Bahramian, A. Schindeler, P. Valtchev, F. Dehghani and R. McConchie (2019). "Extraction of phytochemicals from tomato leaf waste using subcritical carbon dioxide." Innovative Food Science & Emerging Technologies **57**: 102204.
- Arnon, D. I. (1949). "Copper Enzymes in Isolated Chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta Vulgaris." Plant Physiology **24**(1): 1-15.
- Aydi, S., S. Sassi Aydi, A. Marsit, N. El Abed, R. Rahmani, J. Bouajila, O. Merah and C. Abdelly (2023) "Optimizing Alternative Substrate for Tomato Production in Arid Zone: Lesson from Growth, Water Relations, Chlorophyll Fluorescence, and Photosynthesis." Plants **12** DOI: 10.3390/plants12071457.
- Buanasari, B., W. Eden and A. Sholichah (2017). "EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM PETAI LEAVES (PARKIA SPECIOSA HASSK.) USING MICROWAVE AND ULTRASOUND ASSISTED METHODS." Jurnal Bahan Alam Terbarukan **6**: 25-31.
- Choi, K.-M., Y.-S. Lee, D.-M. Shin, S. Lee, K.-S. Yoo, M. K. Lee, J.-H. Lee, S. Y. Kim, Y.-M. Lee, J.-T. Hong, Y.-P. Yun and H.-S. Yoo (2013). "Green tomato extract attenuates high-fat-diet-induced obesity through activation of the AMPK pathway in C57BL/6 mice." The Journal of nutritional biochemistry **24**(1): 335-342.
- Chuyen, H. V., M. H. Nguyen, P. D. Roach, J. B. Golding and S. E. Parks (2018). "Microwave-assisted extraction and ultrasound-assisted extraction for recovering carotenoids from Gac peel and their effects on antioxidant capacity of the extracts." Food Science & Nutrition **6**(1): 189-196.
- Dey, A. K., M. Sharma and M. R. Meshram (2016). "An Analysis of Leaf Chlorophyll Measurement Method Using Chlorophyll Meter and Image Processing Technique." Procedia Computer Science **85**: 286-292.
- Folin, O. and V. Ciocalteu (1927). "ON TYROSINE AND TRYPTOPHANE DETERMINATIONS IN PROTEINS." Journal of Biological Chemistry **73**(2): 627-650.
- Groher, T., S. Röhlen-Schmittgen, A. Fiebig, G. Noga and M. Hunsche (2019). "Influence of supplementary LED lighting on physiological and biochemical parameters of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) leaves." Scientia Horticulturae **250**: 154-158.
- Inbaraj, B. and B.-H. Chen (2008). Carotenoids in Tomato Plants: 133-164.

- Latkowska, E., Z. Lechowski, J. Bialczyk and J. Pilarski (2006). "Photosynthesis and Water Relations in Tomato Plants Cultivated Long-Term in Media Containing (+)-Usnic Acid." Journal of chemical ecology **32**: 2053-2066.
- Louisnard, O. and J. González-García (1970). Acoustic Cavitation: 13-64.
- Luque de Castro, M. D. and F. Priego-Capote (2010). "Soxhlet extraction: Past and present panacea." Journal of Chromatography A **1217**(16): 2383-2389.
- Mandal, V., Y. Mohan and S. Hemalatha (2006). "Microwave Assisted Extraction - An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research." Pharmacognosy Reviews **1**.
- Md Abu Bakar, S. and B. Nigel (2019). Food Glycoalkaloids: Distribution, Structure, Cytotoxicity, Extraction, and Biological Activity. Alkaloids. K. Joanna. Rijeka, IntechOpen: Ch. 4.
- Merken, H. M. and G. R. Beecher (2000). "Liquid chromatographic method for the separation and quantification of prominent flavonoid aglycones." Journal of Chromatography A **897**(1): 177-184.
- Molyneux, P. (2003). "The use of the stable radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity." **26**.
- Muhamad, S. H. A., S. On, S. N. A. Sanusi, A. A. Hashim and M. H. Addinna Zai (2019). "Antioxidant activity of Camphor leaves extract based on variation solvent." Journal of Physics: Conference Series **1349**(1): 012102.
- Mukhametov, A., M. Paliivets, I. Berechikidze and M. Serikkyzy (2023). "Evaluating the recovery of bioactive compounds and antioxidant activity of unripe red grape liquid extracts obtained by maceration." Food Science and Technology **43**.
- Nguyen, V. T., Q. V. Vuong, M. C. Bowyer, I. A. Van Altena and C. J. Scarlett (2017). "Microwave-Assisted Extraction for Saponins and Antioxidant Capacity from Xiao Tam Phan (Paramignya trimeria) Root." Journal of Food Processing and Preservation **41**(2): e12851.
- Oikonomopoulou, V. P. and M. K. Krokida (2017). Freeze drying and microwave freeze drying as encapsulation methods: 39-65.
- Okamura, N., Y. Fujimoto, S. Kuwabara and A. Yagi (1994). "High-performance liquid chromatographic determination of carnosic acid and carnosol in Rosmarinus officinalis and Salvia officinalis." Journal of Chromatography A **679**(2): 381-386.
- Picó, Y. (2012). 3.28 - Recent Advances in Sample Preparation for Pesticide Analysis. Comprehensive Sampling and Sample Preparation. J. Pawliszyn. Oxford, Academic Press: 569-590.
- Silva-Beltrán, N. P., S. Ruiz-Cruz, C. Chaidez, J. d. J. Ornelas-Paz, M. A. López-Mata, E. Márquez-Ríos and M. I. Estrada (2015). "Chemical constitution and effect of extracts of tomato plants byproducts on the enteric viral surrogates." International Journal of Environmental Health Research **25**(3): 299-311.
- Silva-Beltrán, N. P., S. Ruiz-Cruz, L. A. Cira-Chávez, M. I. Estrada-Alvarado, J. d. J. Ornelas-Paz, M. A. López-Mata, C. L. Del-Toro-Sánchez, J. F. Ayala-Zavala and E. Márquez-Ríos (2015). "Total Phenolic, Flavonoid, Tomatine, and Tomatidine Contents and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Extracts of Tomato Plant." International Journal of Analytical Chemistry **2015**: 284071.

- Silva, G. C. d., M. J. Salvador and C. B. G. Bottoli (2020). "Towards the cosmetic application of *Passiflora coccinea* (Aubl.): antioxidant activity and photo protective capacity of the methanolic and glycolic leaf extracts." Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences **56**.
- Slimestad, R. and M. Verheul (2009). "Review of flavonoids and other phenolics from fruits of different tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars." Journal of the Science of Food and Agriculture **89**(8): 1255-1270.
- Tam, C. C., K. Nguyen, D. Nguyen, S. Hamada, O. Kwon, I. Kuang, S. Gong, S. Escobar, M. Liu, J. Kim, T. Hou, J. Tam, L. W. Cheng, J. H. Kim, K. M. Land and M. Friedman (2021). "Antimicrobial properties of tomato leaves, stems, and fruit and their relationship to chemical composition." BMC Complementary Medicine and Therapies **21**(1): 229.
- Taveira, M., F. Ferreres, A. Gil-Izquierdo, L. Oliveira, P. Valentão and P. B. Andrade (2012). "Fast determination of bioactive compounds from *Lycopersicon esculentum* Mill. leaves." Food Chemistry **135**(2): 748-755.
- Taylor, M. A. and P. D. Fraser (2011). "Solanosol: Added value from Solanaceous waste." Phytochemistry **72**(11): 1323-1327.
- Tiwari, B. K. (2015). "Ultrasound: A clean, green extraction technology." TrAC Trends in Analytical Chemistry **71**: 100-109.
- Tsimogiannis, D., M. Stavrakaki and V. Oreopoulou (2006). "Isolation and characterisation of antioxidant components from oregano (*Origanum heracleoticum*)." International Journal of Food Science & Technology **41**(s1): 39-48.
- Vongsak, B., P. Sithisarn, S. Mangmool, S. Thongpraditchote, Y. Wongkrajang and W. Gritsanapan (2013). "Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method." Industrial Crops and Products **44**: 566-571.
- Wellburn, A. R. (1994). "The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution." Journal of Plant Physiology **144**(3): 307-313.
- Yıldırım, H. K. (2022). "Assessment of Propolis Treated by Different Extraction Methods." Brazilian Archives of Biology and Technology **65**.

3 Ενθυλάκωση επιλεγμένων βιοδραστικών συστατικών

3.1 Εισαγωγή

Στην παρούσα ενότητα πραγματοποιήθηκε μελέτη της ενθυλάκωσης του δεοξυχολικού οξέος και του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας που επιλέχθηκε από την μελέτη του κεφαλαίου 2 με βάση τον χαρακτηρισμό του βιοδραστικού περιεχομένου του. Η ενθυλάκωση πραγματοποιήθηκε σε μήτρα ζεΐνη και για τα δύο προϊόντα ενθυλάκωσης μέσω της καινοτόμου ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας. Αρχικά, έγινε διερεύνηση διαφορετικών πολυμερών ώστε να επιλεγεί το καταλληλότερο φυσικό πολυμερές για χρήση ως μήτρα ενθυλάκωσης με κριτήριο τόσο την επιθυμητή εφαρμογή αλλά και την απόδοση εγκλεισμού και τη σταθερότητα του προϊόντος. Για λόγους σύγκρισης, μελετήθηκε παράλληλα η ενθυλάκωση των συστατικών ενδιαφέροντος και με χρήση της συμβατικής μεθόδου της ξήρανσης με ψεκασμό με την ίδια μήτρα ενθυλάκωσης.

3.2 Υλικά

Τα πολυμερή που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη για την ικανότητα τους να χρησιμοποιηθούν ως μήτρες ενθυλάκωσης μέσω της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας ήταν η υδροξυπροπυλο-β-κυκλοδεξτρίνη (HP-β-CD), το πολυγαλακτικό οξύ (PLA), η χιτοζάνη (CTZ) και η ζεΐνη (ZN). Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν:

- Εμπορικό διάλυμα υδροξυπροπυλ-β-κυκλοδεξτρίνη 60% w/v (β-CD),
- Βιοαποικοδομήσιμο πολυγαλακτικό οξύ σε μορφή pellets,
- Χιτοζάνη σε μορφή σκόνης (Farmalabor, Lot: R2016471, Cod: 000761_005),
- Χημικά τροποποιημένο άμυλο σε σκόνη (HICAP FOR FOOD USE, Ingredient, UK) και
- Ζεΐνη σε μορφή νιφάδων (CP2010, Αχαϊκά πλαστικά)

Οι βιοδραστικές ενώσεις για τις οποίες μελετήθηκε ο εγκλεισμός τους ήταν το δεοξυχολικό οξύ (DCA ($\geq 98\%$ (HPLC) Sigma Aldrich, Germany) και το εκχύλισμα από φύλλα τομάτας που αποτελούσαν υπόλειμμα της συγκομιδής και επεξεργασίας τομάτας από την εταιρεία Agritex. Επίσης για την παρασκευή των διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκαν διαλύτες υψηλής καθαρότητας από τη Fisher Scientific (Analytical και HPLC-LC/MS grade).

3.3 Μεθοδολογία

3.3.1 Διερεύνηση πολυμερών υλικών για την επιλογή του καταλληλότερου φορέα ενθυλάκωσης-1^ο σετ πειραμάτων

3.3.1.1 Ανάπτυξη καινοτόμων ναοδομών μέσω της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας

Δύο είναι οι κεντρικοί άξονες για την επιτυχή ενθυλάκωση βιοδραστικών ενώσεων: Η μέθοδος εγκλεισμού και η επιλογή της κατάλληλης μήτρας ενθυλάκωσης. Με δεδομένη, συνεπώς την χρήση της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας ως μεθόδου, η μελέτη στρέφεται προς την επιλογή του κατάλληλου φυσικού πολυμερούς που θα λειτουργήσει ως φορέας για τις ενώσεις ενδιαφέροντος με γνώμονα και την επιθυμητή στη συνέχεια χρήση.

➤ Παρασκευή πολυμερικών διαλυμάτων

Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται οι συγκεντρώσεις των διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν καθώς και οι παράμετροι λειτουργίας της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας για τις οποίες παραλήφθηκε προϊόν.

Πίνακας 8 Συγκέντρωση διαλύματος και λειτουργικές παράμετροι της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας για τα μελετούμενα πολυμερή.

Πολυμερές	Συγκέντρωση	Εφαρμοζόμενη τάση (kV)	Ροή διαλύματος (μL/h)
HP-β-CD	Υδατικό διάλυμα 60-70% w/v	26-28	300-600
PLA	0,5-10% w/v σε μίγμα ακετόνης-νερού (90:10, v/v)	25-27	500-1000
CTZ	2-10% w/v σε μίγμα οξικού οξέος: Νερού (20:80, v/v)	-	-
ZN	5- 30 % w/v σε μίγμα αιθανόλης: νερού (90:10, v/v)	22-28	200-1000

➤ Προσδιορισμός ιξώδους διαλυμάτων

Το ιξώδες προσδιορίστηκε σε ιξωδόμετρο VISCO™-895 (Atago Co. Inc., Tokyo, Japan) το οποίο αποτελείται από μία ηλεκτρονική μονάδα, διαφορετικές ατράκτους αλουμινίου ανάλογα με το ιξώδες του διαλύματος (δυνατότητα μέτρησης από 1 έως 2·10⁶ mPa·s) και έναν αισθητήρα μέτρησης θερμοκρασίας RE-75540. Η μέτρηση του ιξώδους πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας 15 mL από το εκάστοτε διάλυμα και υπολογίστηκε στα 50 rpm, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ενώ πραγματοποιήθηκαν δύο επαναλήψεις για κάθε δείγμα.

➤ **Προσδιορισμός επιφανειακής τάσης και αγωγιμότητας διαλυμάτων**

Η επιφανειακή τάση όλων των διαλυμάτων μετρήθηκε σε τενσιόμετρο Attension (Biolin Scientific (Finland)) με τη μέθοδο Du Nouÿ ring. Η αγωγιμότητα των διαλυμάτων προσδιορίστηκε με το αγωγιμόμετρο Mi 180 Bench (Milwaukee Instruments, Inc., USA). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε δύο επαναλήψεις, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ($\approx 25^\circ\text{C}$).

➤ **Στατιστική επεξεργασία**

Για την αριστοποίηση των παραμέτρων της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας σε σχέση με την επιλογή της μήτρας ενθυλάκωσης αλλά και του εγκλεισμού των βιοδραστικών συστατικών ενδιαφέροντος που θα ακολουθήσει χρησιμοποιήθηκε ο πειραματικός σχεδιασμός κεντρικού σημείου (Central Composite Design (CCD)) και η μεθοδολογία αποκριτικών επιφανειών μέσω του λογισμικού STATISTICA (StatSoft. Inc, Chicago, IL, USA, 1999). Ο σχεδιασμός κεντρικού σημείου χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της σχέσης μεταξύ της απόκρισης (διάμετρος παραγόμενων δομών, απόδοσης ενθυλάκωσης) που μελετάται και των ποσοτικών παραγόντων που εξετάζονται (συγκέντρωση μήτρας, λειτουργικές παράμετροι διεργασίας). Η μεθοδολογία αυτή εφαρμόζεται όταν αναζητείται ο «βέλτιστος» συνδυασμός των τιμών των παραγόντων. Ο πειραματικός σχεδιασμός καθορίζει την επίδραση των παραγόντων και τις αλληλεπιδράσεις τους στη μεταβλητή απόκρισης και περιγράφεται από ένα μοντέλο παλινδρόμησης για το συνδυασμό των ανεξάρτητων μεταβλητών με γενικό τύπο:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon$$

Όπου Y είναι η μεταβλητή απόκρισης (διάμετρος παραγόμενων δομών ή απόδοση εγκλεισμού), k είναι ο αριθμός των ανεξάρτητων μεταβλητών, β_0 είναι σταθερός συντελεστής (σημείο τομής), β_i είναι ο γραμμικός συντελεστής των κύριων παραγόντων, β_{ii} είναι ο τετραγωνικός συντελεστής για τους κύριους παράγοντες και β_{ij} είναι ο συντελεστής αλληλεπίδρασης δεύτερης τάξης.

3.3.1.2 Πειραματικός σχεδιασμός για την παραλαβή νανοσφαιριδίων και νανοϊνών από διαλύματα ζεΐνης-2^ο σετ πειραμάτων



Εικόνα 11. Διάταξη ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας (αριστερά) και πείραμα σε λειτουργία (δεξιά).

Μετά την αρχική διερεύνηση για την επιλογή του κατάλληλου πολυμερούς και των βέλτιστων χαρακτηριστικών των διαλυμάτων αυτού, για την επιθυμητή χρήση ως μήτρα ενθυλάκωσης, ακολούθησε η μελέτη των λειτουργικών παραμέτρων του οργάνου για τη βελτιστοποίηση της διεργασίας.

Η ζεΐνη είναι μια αδιάλυτη στο νερό πρωτεΐνη, αλλά διαλυτή σε δυαδικά διαλύματα αλκοόλης-νερού λόγω των αμφίφιλων χαρακτηριστικών της που οφείλονται στην αλληλουχία αμινοξέων, περισσότερο από το 50% των οποίων είναι υδρόφοβα (αλανίνη, λευκίνη, προλίνη) (Chen, Ye et al. 2013). Λόγω αυτών των αμφιφιλικών χαρακτηριστικών, η ζεΐνη τείνει να σχηματίζει δομές που προσομοιάζουν με μικκύλιο και εξαρτώνται από τη συγκέντρωση αιθανόλης (Rodríguez-Félix, Del-Toro-Sánchez et al. 2019). Στη δομή του μικκυλίου ζεΐνης, το υδρόφιλο τμήμα είναι ευθυγραμμισμένο προς τα έξω στις περιπτώσεις που η συγκέντρωση αιθανόλης είναι χαμηλότερη από 90% (v/v), ενώ η υδρόφοβη περιοχή εκτίθεται στην επιφάνεια των συσσωματωμάτων για συγκεντρώσεις αιθανόλης μεγαλύτερες από 90% (v/v) (Ni, Wang et al. 2018). Επίσης, οι Bisharat et al. (2018) μελέτησαν την επίδραση της συγκέντρωσης αιθανόλης (70%-90% v/v) στη συσσωμάτωση διαλύματος ζεΐνης 5% w/v (Bisharat, Berardi et al. 2018). Οι ερευνητές παρατήρησαν ότι, σε συγκεντρώσεις 70% και 80% αιθανόλης, οι τιμές της διαπερατότητας μειώνονται, ενώ στο 90% οι τιμές της διαπερατότητας ήταν υψηλές. Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε μελέτη της επίδρασης των διαφορετικών διαλυμάτων αιθανόλης-νερού στις ιδιότητες της μήτρας. Δοκιμάστηκαν διαλύματα ζεΐνης σε περιεκτικότητες 5, 10, 15, 20, 25 και 30% w/v σε μίγματα αιθανόλης-νερού (60-90% αιθανόλη).

Εν συνεχεία, για την παραγωγή δομών από διαλύματα ζεΐνης μέσω της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας έγινε διερεύνηση των παραμέτρων λειτουργίας συμπεριλαμβανομένων: της συγκέντρωσης της ζεΐνης, της ροής του διαλύματος, της εφαρμοζόμενης τάσης και της απόστασης του συλλέκτη από την άκρη του τριχοειδούς σωλήνα. Η διερεύνηση αυτή πραγματοποιήθηκε στην καθαρή μήτρα χωρίς προσθήκη συστατικού ώστε να εκτιμηθούν τα όρια μεταξύ της παραλαβής

σωματιδίων και ινών για τις διαφορετικές παραμέτρους αλλά και ο βαθμός επίδρασης κάθε παραμέτρου στη μορφολογία των δομών αυτών. Από τη μελέτη αυτή προέκυψαν πολύ σημαντικές πληροφορίες για τη συμπεριφορά της ζεΐνης, ώστε να επιλεγεί η βέλτιστη συγκέντρωσή της για την κάθε εκδοχή της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας (ηλεκτροψεκασμός και ηλεκτροστατική ινοποίηση). Όπως έχει ήδη αναφερθεί στην παρούσα διατριβή, υπάρχει μία κρίσιμη συγκέντρωση στην οποία ξεκινά η επικάλυψη και περιπλοκή των αλυσίδων του πολυμερούς με βάση την οποία πρέπει να επιλεγεί συγκέντρωση μικρότερη ή μεγαλύτερη για το σχηματισμό σωματιδίων ή ινών αντίστοιχα (Ali, Mehta et al. 2020).

Για την παραγωγή των δομών ζεΐνης μέσω της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας χρησιμοποιήθηκε ο πειραματικός σχεδιασμός κεντρικού σημείου (Central Composite Design (CCD)) (Πίνακας 10 και Πίνακας 12) και πραγματοποιήθηκαν δύο επαναλήψεις για κάθε ανεξάρτητο πείραμα. Οι τιμές των παραμέτρων που μελετήθηκαν, παρουσιάζονται στη συνέχεια και είναι τιμές για τις οποίες επετεύχθη η παραλαβή προϊόντος. Κάθε ανεξάρτητη μεταβλητή μεταβλήθηκε σε τρία επίπεδα, τα οποία κωδικοποιούνται με τρεις αριθμούς: -1, 0 και 1.

➤ **Ηλεκτροστατικός ψεκασμός (Electrospraying)**

Προκειμένου να επιτευχθεί η διάσπαση του πίδακα της διεργασίας σε σωματίδια και η παραλαβή σκόνης και όχι μεμβράνης στο συλλέκτη, παρασκευάστηκαν διαλύματα μικρών συγκεντρώσεων ζεΐνης και απαιτήθηκαν μικρές αντίστοιχα ροές για τη πραγματοποίηση του πειράματος.

Πίνακας 9 Συνθήκες ηλεκτροστατικού ψεκασμού για την παραγωγή σωματιδίων από ζεΐνη.

Παράμετρος	Τιμές κωδικοποίησης		
	-1	0	+1
Συγκέντρωση ζεΐνης (% w/v)	5	10	15
Ροή διαλύματος (mL/h)	0,2	0,3	0,4
Εφαρμοζόμενη τάση (kV)	23	25	27
Απόσταση συλλέκτη (cm)	9	12	15

Πίνακας 10 Πειραματικός σχεδιασμός για την παραλαβή σωματιδίων από ζεΐνη.

Κωδικός	Συγκέντρωση ζεΐνης (% w/v)	Ροή διαλύματος (mL/h)	Εφαρμοζόμενη τάση (kV)	Απόσταση συλλέκτη (cm)
-1111	5	0,4	27	15
-11-11	5	0,4	23	15
-1-1-11	5	0,2	23	15
0	10	0,3	25	12
11-11	15	0,4	23	15
00-10	10	0,3	23	12
-1-11-1	5	0,2	27	9
111-1	15	0,4	27	9
-1-1-1-1	5	0,2	23	9
10	10	0,3	27	12

0	10	0,3	25	12
-111-1	5	0,4	27	9
11-1-1	15	0,4	23	9
1111	15	0,4	27	15
1	10	0,3	25	15
1-111	15	0,2	27	15
100	10	0,4	25	12
000-1	10	0,3	25	9
0-100	10	0,2	25	12
-11-1-1	5	0,4	23	9
1000	15	0,3	25	12
-1-111	5	0,2	27	15
1-1-11	15	0,2	23	15
1-1-1-1	15	0,2	23	9
1-11-1	15	0,2	27	9
-1000	5	0,3	25	12

➤ **Ηλεκτροστατική ινοποίηση (Electrospinning)**

Για την επιτυχή παραλαβή φιλμ στο συλλέκτη της διεργασίας και όχι σκόνης, χρειάστηκαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ζεΐνης και αντίστοιχα μεγαλύτερες ροές διαλύματος για την πραγματοποίηση της διεργασίας.

Πίνακας 11 Συνθήκες ηλεκτροστατικής ινοποίησης για την παραγωγή ινών από ζεΐνη.

Παράμετρος	Τιμές κωδικοποίησης		
	-1	0	+1
Συγκέντρωση ζεΐνης (% w/v)	20	25	30
Ροή διαλύματος (mL/h)	0,6	0,8	1,0
Εφαρμοζόμενη τάση (kV)	23	25	27
Απόσταση συλλέκτη (cm)	9	12	15

Πίνακας 12 Πειραματικός σχεδιασμός για την παραλαβή σωματιδίων από ζεΐνη.

Κωδικός	Συγκέντρωση ζεΐνης (% w/v)	Ροή διαλύματος (mL/h)	Εφαρμοζόμενη τάση (kV)	Απόσταση συλλέκτη (cm)
-1111	20	1	27	15
-11-11	20	1	23	15
-1-1-11	20	0,6	23	15
0000	25	0,8	25	12
11-11	30	1	23	15
00-10	25	0,8	23	12
-1-11-1	20	0,6	27	9
111-1	30	1	27	9
-1-1-1-1	20	0,6	23	9
0010	25	0,8	27	12
0000	25	0,8	25	12

-111-1	20	1	27	9
11-1-1	30	1	23	9
1111	30	1	27	15
0001	25	0,8	25	15
1-111	30	0,6	27	15
0100	25	1	25	12
000-1	25	0,8	25	9
0-100	25	0,6	25	12
-11-1-1	20	1	23	9
1000	30	0,8	25	12
-1-111	20	0,6	27	15
1-1-11	30	0,6	23	15
1-1-1-1	30	0,6	23	9
1-11-1	30	0,6	27	9
-1000	20	0,8	25	12

3.3.2 Ενθυλάκωση βιοδραστικών ενώσεων μέσω της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας

Με βάση τα αποτελέσματα της πρωταρχικής μελέτης για τη ζεΐνη, επιλέχθηκε η βέλτιστη συγκέντρωση και πειραματικές συνθήκες για την παραλαβή σωματιδίων. Ωστόσο, με την προσθήκη του βιοδραστικού συστατικού απαιτήθηκε περαιτέρω διερεύνηση και βελτιστοποίηση της πειραματικής διαδικασίας ώστε να επιτευχθεί η μέγιστη δυνατή απόδοση εγκλεισμού. Για το σκοπό αυτό δοκιμάστηκαν διαφορετικές περιεκτικότητες συστατικού συνδυαστικά με αλλαγές στη ροή και την εφαρμοζόμενη τάση.

3.3.2.1 Πειραματικός σχεδιασμός για την αριστοποίηση της απόδοσης εγκλεισμού του δεοξυχολικού οξέος με εφαρμογή του ηλεκτροστατικού ψεκασμού

Στην περίπτωση αυτή ο παράγοντας απόσταση δεν αξιολογήθηκε καθώς κρίθηκε ως μη σημαντική παράμετρος για τη διεργασία του ηλεκτροστατικού ψεκασμού όσον αφορά στην επίδρασή του στο διάλυμα τροφοδοσίας και διατηρήθηκε σταθερή στα 15 cm. Για την πραγματοποίηση των πειραμάτων, το δεοξυχολικό οξύ, διαλυτοποιήθηκε αρχικά σε κατάλληλη αναλογία αιθανόλης/νερού (90:10 v/v) που επιλέχθηκε από τις προκαταρκτικές μετρήσεις για τη μήτρα, με χρήση μαγνητικού αναδευτήρα (M 6.1, Ingenieurbüro CAT, M. Zipperer GmbH, Ballrechten-Dottingen, Germany) για 20 min. Στη συνέχεια προζυγισμένη ποσότητα ξηρής ζεΐνης προστέθηκε στο αναδευόμενο διάλυμα του οξέος για την επίτευξη επιθυμητής συγκέντρωσής της για ηλεκτροστατικό ψεκασμό με βάση τα προκαταρκτικά πειράματα (10% w/v). Η ανάδευση συνεχίστηκε για 1 ώρα σε μαγνητικό αναδευτήρα πριν από την εφαρμογή της μεθόδου. Συνεπώς στην περίπτωση αυτή μελετήθηκε η εκδοχή του μονοαξονικού ηλεκτροστατικού ψεκασμού.

Πίνακας 13 Συνθήκες ηλεκτροστατικού ψεκασμού για την ενθυλάκωση δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνη.

Παράγοντες	Τιμές Κωδικοποίησης		
	-1	0	1
Ροή διαλύματος (μL/h)	200	300	400
Συγκέντρωση συστατικού (% w/v)	0,5	1	1,5
Εφαρμοζόμενη τάση (kV)	23	25	27

Όπως φαίνεται στον ακόλουθο πίνακα, πραγματοποιήθηκε πειραματικός σχεδιασμός κεντρικού σημείου για την εύρεση των βέλτιστων συνθηκών για την επίτευξη της μέγιστης δυνατής απόδοσης εγκλεισμού, με την πραγματοποίηση 16 πειραμάτων.

Πίνακας 14 Πειραματικός σχεδιασμός για την ενθυλάκωση δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνη μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού.

Κωδικός	Ροή διαλύματος (μL/h)	Συγκέντρωση συστατικού (% w/v)	Εφαρμοζόμενη τάση (kV)
0-10	300	0,5	25
1-1-1	400	0,5	23
000	300	1	25
001	300	1	27
100	400	1	25
11-1	400	1,5	23
00-1	300	0,5	23
010	300	1,5	25
-11-1	200	1,5	23
1-11	400	0,5	27
-1-11	200	1	27
111	400	1,5	27
-100	200	1	25
-1-1-1	200	0,5	23
000	300	1	25
-111	200	1,5	27

3.3.2.2 Πειραματικός σχεδιασμός για την αριστοποίηση της απόδοσης εγκλεισμού εκχυλίσματος φύλλων τομάτας με εφαρμογή της ηλεκτροστατικής ινοποίησης

Στην περίπτωση της ενθυλάκωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας που επιλέχθηκε ως το ιδανικότερο μέρος του φυτού λόγω του αυξημένου βιοδραστικού περιεχομένου του (βλ. Κεφάλαιο 2), αξιοποιήθηκε η διαμόρφωση της μονοαξονικής ηλεκτροστατικής ινοποίησης με δημιουργία κοινού διαλύματος μήτρας- εκχυλίσματος. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε αρχικά απομάκρυνση του διαλύτη του εκχυλίσματος (αιθανόλη/οξικό οξύ-95:5, v/v) σε περιστροφικό εξατμιστήρα (BÜCHI R-200 rotary evaporator, Flawil, Switzerland), και επαναδιάλυση της απαιτούμενης ποσότητάς του σε

αιθανόλη υπό μαγνητική ανάδευση για 20 min. Ακολούθησε προσθήκη ξηρής ζεΐνης στο εκχύλισμα μέχρι την επίτευξη επιθυμητής συγκέντρωσης (25% w/v) με τη συνακόλουθη συμπλήρωση νερού για την πλήρη διαλυτοποίηση και την επίτευξη επιθυμητής αναλογίας μίγματος αιθανόλης/νερού για τη μήτρα (80:20, v/v). Το διάλυμα παρέμεινε υπό ήπια ανάδευση για 1 ώρα πριν την εφαρμογή της ηλεκτροστατικής ισοποίησης. Η βέλτιστη συγκέντρωση της μήτρας και η αναλογία αιθανόλης/νερού του διαλύτη για την παραλαβή ινών, επιλέχθηκαν με βάση τις προκαταρτικές μετρήσεις για τη ζεΐνη. Επίσης, σε αντίθεση με τον ηλεκτροστατικό ψεκασμό, η παράμετρος της απόστασης ακροφυσίου-συλλέκτη λήφθηκε υπόψη και στον πειραματικό σχεδιασμό για την απόδοση εγκλεισμού καθώς έδειξε μεγαλύτερη επίδραση στη διεργασία σε σχέση με τον ηλεκτροστατικό ψεκασμό.

Όπως φαίνεται στον ακόλουθο πίνακα, πραγματοποιήθηκε πειραματικός σχεδιασμός κεντρικού σημείου για την εύρεση των βέλτιστων συνθηκών για την επίτευξη της μέγιστης απόδοσης εγκλεισμού, με την πραγματοποίηση 26 πειραμάτων.

Πίνακας 15 Συνθήκες ηλεκτροστατικής ισοποίησης για την ενθυλάκωση εκχυλίσματος φύλλων τομάτας σε ζεΐνη.

Παράγοντες	Τιμές Κωδικοποίησης		
	-1	0	1
Ροή διαλύματος (μL/h)	600	800	1000
Συγκέντρωση εκχυλίσματος (% w/v)	1	2,5	4
Εφαρμοζόμενη τάση (kV)	23	25	27
Απόσταση ακροφυσίου-συλλέκτη (cm)	9	12	15

Πίνακας 16 Πειραματικός σχεδιασμός της ενθυλάκωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας σε ζεΐνη μέσω της ηλεκτροστατικής ισοποίησης.

Κωδικός	Ροή διαλύματος (μL/h)	Συγκέντρωση εκχυλίσματος (% w/v)	Εφαρμοζόμενη τάση (kV)	Απόσταση συλλέκτη (cm)
-1111	600	4	27	15
-11-11	600	4	23	15
-1-1-11	600	1	23	15
0000	800	2,5	25	12
11-11	1000	4	23	15
00-10	800	2,5	23	12
-1-11-1	600	1	27	9
111-1	1000	4	27	9
-1-1-1-1	600	1	23	9
0010	800	2,5	27	12
0000	800	2,5	25	12
-111-1	600	4	27	9
11-1-1	1000	4	23	9
1111	1000	4	27	15

0001	800	2,5	25	15
1-111	1000	1	27	15
0100	800	4	25	12
000-1	800	2,5	25	9
0-100	800	1	25	12
-11-1-1	600	4	23	9
1000	1000	2,5	25	12
-1-111	600	1	27	15
1-1-11	1000	1	23	15
1-1-1-1	1000	1	23	9
1-11-1	1000	1	27	9
-1000	600	2,5	25	12

3.3.3 Ενθυλάκωση βιοδραστικών ενώσεων μέσω της συμβατικής μεθόδου της ξήρανσης με ψεκάσμο για λόγους σύγκρισης

Η ξήρανση με ψεκάσμο εφαρμόστηκε ως μία κλασσική διεργασία ενθυλάκωσης που χρησιμοποιείται ευρέως πολλές δεκαετίες, σαν ένα μέτρο σύγκρισης της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας. Για το σκοπό αυτό, η ζεΐνη αποτέλεσε και σε αυτή τη διεργασία τη μήτρα ενθυλάκωσης σε συγκεντρώσεις 10 και 25% w/v για την ενθυλάκωση του δεοξυχολικού οξέος και του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας, αντίστοιχα όπως και στην ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία. Ίδιες διατηρήθηκαν και οι αναλογίες μήτρας συστατικού που μελετήθηκαν. Ωστόσο υπήρξαν ορισμένες διαφοροποιήσεις τόσο στον τρόπο παρασκευής των διαλυμάτων των υλικών όσο και στις μελετούμενες λειτουργικές παραμέτρους. Αρχικά, λόγω της υψηλής θερμοκρασίας λειτουργίας της μεθόδου ($\geq 160^\circ\text{C}$) η χρήση της αιθανόλης ως κύριου διαλύτη της μήτρας εγκλεισμού αλλά και των συστατικών δεν ήταν δυνατή. Συνεπώς, όσον αφορά στη ζεΐνη, πραγματοποιήθηκε διαλυτοποίησή της σε νερό. Το ισοηλεκτρικό σημείο της ζεΐνης είναι 6,8 και εμφανίζει αστάθειες σε εύρος pH 5-7 (Pan and Zhong 2016, Yuan, Ma et al. 2022) πάνω από το οποίο η πρωτεΐνη εντοπίζεται κατά κύριο λόγο σε διαμόρφωση α -έλικας με αρνητικό φορτίο (Cabra, Arreguin et al. 2006). Συνεπώς για τη διαλυτοποίησή της σε διαλύτη νερό δοκιμάστηκαν τιμές pH>7 με χρήση καυστικού νατρίου. Οι δοκιμές αυτές έδειξαν ότι το πιο ομοιόμορφο διάλυμα όπου επήλθε πλήρης διάλυση της πρωτεΐνης χωρίς παρουσία στερεών ήταν στο 11-11,5.

Στη συνέχεια παρατίθενται οι συνθήκες της διεργασίας που μελετήθηκαν καθώς και ο πειραματικός σχεδιασμός κεντρικού σημείου που εφαρμόστηκε κατ' αντιστοιχία με τη ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία.

3.3.3.1 Πειραματικός σχεδιασμός για την αριστοποίηση της απόδοσης εγκλεισμού του δεοξυχολικού οξέος με εφαρμογή της ξήρανσης με ψεκασμό

Η άνοδος του pH που πραγματοποιήθηκε για τη διαλυτοποίηση της μήτρας στο νερό διευκόλυνε και τη διαλυτοποίηση, στη συνέχεια, του δεοξυχολικού οξέος στο διάλυμα της ζεΐνης. Το pKa του δεοξυχολικού οξέος είναι 6,58, τιμή που το καθιστά στα ασθενή οξέα και συνεπώς η αύξηση του pH σε τιμές μεγαλύτερες του pKa ενισχύει τον ιονισμό του και συνεπώς αυξάνει το βαθμό διαλυτοποίησής του στο νερό (Lee, Lee et al. 2022).

Πίνακας 17 Συνθήκες της ξήρανσης με ψεκασμό για την ενθυλάκωση δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνη.

Παράγοντες	Τιμές Κωδικοποίησης		
	-1	0	1
Ροή διαλύματος (mL/h)	200	500	800
Συγκέντρωση συστατικού (% w/v)	0,5	1	1,5
Θερμοκρασία εισόδου αέρα (°C)	160	170	180

Πίνακας 18 Πειραματικός σχεδιασμός για την ενθυλάκωση δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνη μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό.

Κωδικός	Ροή διαλύματος (mL/h)	Συγκέντρωση συστατικού (% w/v)	Θερμοκρασία εισόδου αέρα (°C)
0-10	500	0,5	170
1-1-1	800	0,5	160
000	500	1	170
001	500	1	180
100	800	1	170
11-1	800	1,5	160
00-1	500	1	160
010	500	1,5	170
-11-1	200	1,5	160
1-11	800	0,5	180
-1-11	200	0,5	180
111	800	1,5	180
-100	200	1	170
-1-1-1	200	0,5	160
000	500	1	170
-111	200	1,5	180

3.3.3.2 Πειραματικός σχεδιασμός για την αριστοποίηση της απόδοσης εγκλεισμού εκχυλίσματος φύλλων τομάτας με εφαρμογή της ξήρανσης με ψεκασμό

Όσον αφορά στο εκχύλισμα φύλλων τομάτας το οποίο παραλήφθηκε με διαλύτη αιθανόλη/οξικό οξύ (95:5 v/v), αυτό τοποθετήθηκε σε περιστροφικό εξατμιστήρα (BÜCHI R-200 rotary evaporator, Flawil, Switzerland) για την απομάκρυνση του διαλύτη, και πραγματοποιήθηκε επαναδιάλυση σε ηλιέλαιο

(αναλογία ξηρού εκχυλίσματος: ελαίου 1/4). Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε προσθήκη του, στάγδην στο υδατικό διάλυμα της μήτρας με χρήση ομογενοποιητή (IKA, T18 digital ULTRA-TURRAX®, Germany), για 5 min στις 10500 στροφές. Για την καλύτερη ενσωμάτωση της ελαιώδους φάσης στην υδατική χρησιμοποιήθηκε Tween 20 ως επιφανειοδραστικός παράγοντας σε αναλογία 1:25 σε σχέση με το εκχύλισμα.

Πίνακας 19 Συνθήκες της ξήρασης με ψεκάσμο για την ενθυλάκωση εκχυλίσματος φύλλων τομάτας σε ζεϊνη.

Παράγοντες	Τιμές Κωδικοποίησης		
	-1	0	1
Ροή γαλακτώματος (mL/h)	600	800	1000
Συγκέντρωση εκχυλίσματος (% w/v)	1	2,5	4
Θερμοκρασία εισόδου αέρα (°C)	160	170	180

Πίνακας 20 Πειραματικός σχεδιασμός για την ενθυλάκωση εκχυλίσματος φύλλων τομάτας σε ζεϊνη μέσω της ξήρασης με ψεκάσμο.

Κωδικός	Ροή γαλακτώματος (mL/h)	Συγκέντρωση ελαίου παρουσία εκχυλίσματος (% w/v)	Θερμοκρασία εισόδου αέρα (°C)
0-10	800	1	170
1-1-1	1000	1	160
000	800	2,5	170
001	800	2,5	180
100	1000	2,5	170
11-1	1000	4	160
00-1	800	2,5	160
010	800	4	170
-11-1	600	4	160
1-11	1000	1	170
-1-11	600	1	180
111	1000	4	180
-100	600	2,5	170
-1-1-1	600	1	160
000	800	2,5	170
-111	600	4	180

3.4 Χαρακτηρισμός προϊόντων εγκλεισμού

Από την διεξαγωγή των πειραμάτων της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας και της ξήρασης με ψεκάσμο προέκυψαν νανοσωματίδια, νανοϊνες και μικροσωματίδια των ενθυλακωμένων βιοδραστικών συστατικών για τους διαφορετικούς συνδυασμούς παραμέτρων που εφαρμόστηκαν. Οι δομές αυτές αξιολογήθηκαν ως προς την απόδοση ενθυλάκωσης με σκοπό την κατανόηση της

επίδρασης των παραμέτρων αυτών στην ικανότητα εγκλωβισμού των συστατικών από τη μήτρα. Στη συνέχεια, οι δομές κάθε διεργασίας με τη βέλτιστη απόδοση εγκλεισμού μελετήθηκαν περαιτέρω ως προς τη μορφολογία και το μέγεθος τους, το χαρακτηρισμό της μοριακής δομής τους, την επίδραση της υγρασίας, τη θερμική σταθερότητα και την απελευθέρωση των βιοδραστικών συστατικών.

3.4.1 Μέτρηση της απόδοσης εγκλεισμού με εφαρμογή αναλυτικών μεθόδων

3.4.1.1 Υγρή Χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (LC-MS)

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση της απόδοσης εγκλεισμού το δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνη για τα προϊόντα ενθυλάκωσης μέσω τόσο του ηλεκτροστατικού ψεκασμού όσο και της ξήρανσης με ψεκασμό. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε διάταξη υγροχρωματογραφίας συζευγμένη με φασματόμετρο μάζας (Varian 500-MS LC ion trap instrument) με εφαρμογή αρνητικού ιονισμού στο MS (mass range: 50-1000 m/z). Αρχικά, σε 1g προϊόντος των διεργασιών ενθυλάκωσης πραγματοποιήθηκε έκπλυση του μη εγκλεισμένου δεοξυχολικού οξέος με αιθανόλη, ακολούθησε φυγοκέντρηση στα 3500 rpm για 5 min και το υπερκείμενο οδηγήθηκε για LC-MS μετά από φιλτράρισμα με φίλτρο σύριγγας 0,45 μm. Το πρόγραμμα που εφαρμόστηκε ήταν: διαλύτης A: H₂O (0,2% Φορμικό οξύ), διαλύτης B: Ακετονιτρίλιο (0,2% Φορμικό οξύ), όγκος έγχυσης: 10 μL και στήλη Polaris 5 C-18, S50x2.0. Η ποσοτικοποίηση του μη ενθυλακωμένου οξέος έγινε με χρήση καμπύλης αναφοράς που κατασκευάστηκε από διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων του δεοξυχολικού οξέος (10-100 ppm) με εφαρμογή της ίδιας μεθόδου και συντελεστή προσαρμογής R²=0,994.

Για τον υπολογισμό της απόδοσης εγκλεισμού (AE), αξιολογήθηκε το μη εγκλεισμένο συστατικό (επιφανειακό-μη δεσμευμένο) με χρήση της ακόλουθης σχέσης:

$$AE\% = \frac{C_{ολικό} - C_{μη\ εγκλεισμένο}}{C_{ολικό}} \times 100 \quad (7)$$

3.4.1.2 Φασματοφωτομετρία Υπεριώδους-ορατού (UV-Vis spectroscopy)

➤ Εκχύλισμα φύλλων τομάτας

Η φασματοφωτομετρία χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση του επιφανειακού (μη ενθυλακωμένου) εκχυλίσματος φύλλων τομάτας. Πιο συγκεκριμένα η ποσοτικοποίηση του εκχυλίσματος έγινε με τη μέτρηση του ολικού φαινολικού φορτίου (TPC). Αρχικά πραγματοποιήθηκε έκπλυση των δειγμάτων (νανοΐνες-μικροσωματίδια) με αιθανόλη και στη συνέχεια φυγοκέντρηση (5 min, 3500 rpm) για την παραλαβή του υπερκείμενου υγρού. Ακολούθησε ανάμιξη 100 μL του υγρού με 7,9 mL H₂O και 500 μL από το αντιδραστήριο Folin. Τα μείγματα αναδεύτηκαν σε vortex για λίγα δευτερόλεπτα και αφέθηκαν σε ηρεμία για 30 λεπτά σε σκοτεινό μέρος. Μετά το πέρας του χρόνου αυτού, στα μείγματα προστέθηκε 1,5 mL διαλύματος Na₂CO₃ 7,3% w/v, και μετά από ανάδευση στο vortex, τα μείγματα τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο στους 40 °C για ακόμη 30 min. Τέλος πραγματοποιήθηκε

φωτομέτρηση των δειγμάτων στα 765 nm. Τα αποτελέσματα ποσοτικοποιήθηκαν με χρήση καμπύλης γαλλικού οξέος που είχε κατασκευαστεί με την ίδια μεθοδολογία ($R^2=0,995$).

Η απόδοση εγκλεισμού υπολογίστηκε με βάση την παρακάτω σχέση:

$$AE (\%) = 1 - \frac{\text{μη εγκλεισμένο φαινολικό περιεχόμενο (mg)}}{\text{αρχικό φαινολικό περιεχόμενο (mg)}} 100\% \quad (8)$$

➤ Δεοξυχολικό οξύ

Στην περίπτωση του δεοξυχολικού οξέος, η φασματοφωτομετρία χρησιμοποιήθηκε συγκριτικά με το LC-MS για τη μέτρηση της απόδοσης εγκλεισμού όσο και για μεγαλύτερη ευκολία στην μελέτη της απελευθέρωσης όπως θα αναφερθεί στη συνέχεια. Συγκεκριμένα, αξιοποιήθηκε η αντίδραση των στεροειδών με πυκνό θειικό οξύ 96% w/w. Κατά την αντίδραση αυτή πραγματοποιείται μεταβολή χρώματος στο μείγμα, η ένταση του οποίου είναι ανάλογη της ποσότητας του στεροειδούς. Τα δείγματα αρχικά εκπλύθηκαν με αιθανόλη και ακολούθησε φυγοκέντρηση για 5 min (3500 rpm). Στη συνέχεια, το υπερκείμενο υγρό αναμίχθηκε σε αναλογία 2/1 (v/v) με το θειικό οξύ και το μίγμα λόγω αύξησης της θερμοκρασίας περίπου στους 60 °C, παρέμεινε σε ηρεμία για περίπου 15 λεπτά πριν την μέτρηση του στο φωτόμετρο (Panagiotoroulou, Papadaki et al. 2022). Η απορρόφηση μετρήθηκε στα 390 nm ενώ η ποσοτικοποίηση του μη εγκλεισμένου οξέος υπολογίστηκε μέσω καμπύλης αναφοράς που κατασκευάστηκε από διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων δεοξυχολικού οξέος σε αιθανόλη, τα οποία αναμίχθηκαν σε αναλογία 2/1 (v/v) με θειικό οξύ ($R^2=0,997$).

3.4.2 Χαρακτηρισμός της μορφολογίας των παραγόμενων δομών

Η μορφολογία των παραγόμενων μικρο- και νάνο-δομών προσδιορίστηκε με χρήση ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM). Τα δείγματα τοποθετήθηκαν επάνω σε ειδικές βάσεις με αυτοκόλλητο άνθρακα (carbon tubes) και εισήχθησαν στη συσκευή SC7620 Mini Sputter Coater (Quorum Technologies, West Sussex, UK), όπου επιμεταλλώθηκαν με χρυσό για 90 sec. Στη συνέχεια, τα δείγματα απεικονίστηκαν σε ποικίλες μεγεθύνσεις μέσω του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (Quanta 200 FEI (2004), OR, USA), χρησιμοποιώντας ανιχνευτή ευρέως πεδίου (large field detector, LFD) σε δυναμικό 12,5 kV. Η διάμετρος των δομών προσδιορίστηκε από τις απεικονίσεις των δομών σε επίπεδο μεγέθυνσης 5000× μέσω του λογισμικού Image J.

3.4.3 Χαρακτηρισμός των μοριακών αλληλεπιδράσεων των δομών

Τα συστήματα εγκλεισμού που παρασκευάστηκαν, οι φορείς και οι ελεύθερες ουσίες μελετήθηκαν δομικά με χρήση Φασματοσκοπίας Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier με Αποσβένουσα Ολική Ανάκλαση (Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared Spectroscopy, ATR-FTIR). Πρόκειται για μία τεχνική που χρησιμοποιείται ευρέως για τον χαρακτηρισμό των προϊόντων εγκλεισμού και βασίζεται στην αλληλεπίδραση των μορίων μίας ένωσης με την υπέρυθρη

ακτινοβολία, τα οποία διεγείρονται δημιουργώντας δονήσεις. Οι απορροφήσεις της ακτινοβολίας από τα μόρια του δείγματος καταγράφονται ως αποτέλεσμα αυτής της αλληλεπίδρασης. Τα φάσματα καταγράφηκαν με το όργανο JASCO FT-IR – 4200 (Japan Spectroscopic Company, Tokyo, Japan) σε εύρος 700–4000 cm^{-1} με 52 επαναλήψεις.

3.4.4 Επίδραση υγρασίας και προσδιορισμός θερμικών ιδιοτήτων των προϊόντων ενθυλάκωσης

Η επίδραση της υγρασίας μελετήθηκε για όλα τα προϊόντα εγκλεισμού. Για τον προσδιορισμό των ισόθερμων ρόφησης, ποσότητα δείγματος 0,5 g τοποθετούνταν σε γυάλινους ξηραντήρες συγκεκριμένης ενεργότητας ύδατος, σε θερμοκρασία 25 °C και 45 °C, μέχρι να επέλθει ισορροπία στη μάζα τους. Διάφορα κορεσμένα διαλύματα αλάτων χρησιμοποιήθηκαν για την επίτευξη διαφόρων ενεργοτήτων ύδατος (σχετικές υγρασίες) όπως: LiCl, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NaCl και KNO_3 τα οποία δίνουν ενεργότητες ύδατος με τιμές 0,11, 0,33, 0,53, 0,75 και 0,95, αντίστοιχα (Serris and Biliaderis 2001). Στις μεγάλες ενεργότητες ύδατος ($a_w > 0,53$) τοποθετήθηκε μία μικρή ποσότητα φαινόλης στους θαλάμους με σκοπό την επιβράδυνση της μικροβιακής ανάπτυξης. Τα δείγματα ζυγίζονταν ανά τακτά χρονικά διαστήματα, έως ότου ισορροπήσουν. Η ισορροπία θεωρήθηκε ότι επήλθε όταν τρεις διαδοχικές μετρήσεις βάρους δεν διέφεραν περισσότερο από 10^{-3} g. Ο χρόνος που απαιτήθηκε για την επίτευξη της ισορροπίας ήταν περίπου τρεις εβδομάδες για όλα τα δείγματα. Η περιεχόμενη υγρασία των δειγμάτων υπολογίστηκε μέσω ξήρανσης των δειγμάτων στους 130 °C για 1 h.

Η περιεχόμενη υγρασία υπολογίστηκε επί ξηρής βάσης (ξ.β.) σύμφωνα με τη σχέση:

$$X = \frac{m_f - m_d}{m_f} \quad (9)$$

όπου X (kg H_2O /kg ξηρού στερεού) είναι η υγρασία των δειγμάτων (ξ.β.), m_f είναι η μάζα των δειγμάτων μετά την επίτευξη της ισορροπίας και m_d είναι η μάζα των δειγμάτων μετά την ξήρανσή τους.

3.4.4.1 Ισόθερμες ρόφησης

Στα προϊόντα ενθυλάκωσης για τα οποία παρατηρήθηκε μεταβολή μάζας, λόγω προσρόφησης ύδατος, κατά την παραμονή τους στους θαλάμους εξισορρόπησης υγρασίας έγινε περαιτέρω μελέτη για να προσδιοριστεί η πιο ικανοποιητική προσέγγιση του μοντέλου που ακολουθεί η προσρόφηση υγρασίας από αυτά. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται πλήθος εξισώσεων για την περιγραφή των ισόθερμων ρόφησης από πρωτεΐνες αλλά και ειδικότερα για τη ζεΐνη, με κυριότερες τις Guggenheim, Anderson, de Boer (GAB), Brunauer-Emmett-Teller, Oswin και Halsey (Asbi and Baianu 1986, Gennadios and L. Weller 1994, Wang and Padua 2004).

➤ **Εξίσωση Brunauer-Emmett-Teller (BET)**

Η εξίσωση BET είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη εξίσωση που περιγράφει τις ισόθερμες ρόφησης για συστήματα τροφίμων και προτάθηκε από τους Brunauer, Emmett, και Teller το 1938 (Brunauer, Emmett et al. 1938). Η εξίσωση αυτή βασίζεται σε κάποιες υποθέσεις, όπως (α) η ολική θερμότητα προσρόφησης που αντιστοιχεί στη μονοστοιβάδα είναι ίση με το άθροισμα της θερμότητας εξάτμισης και μιας σταθεράς αλληλεπίδρασης-προσρόφησης, (β) η ολική θερμότητα προσρόφησης για την πολυστρωματική περιοχή είναι ίση με τη θερμότητα εξάτμισης, (γ) η προσρόφηση πραγματοποιείται μόνο σε ειδικά σημεία και δ) δεν υπάρχουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ των προσροφημένων μορίων (Lewicki 2008). Καθώς οι υποθέσεις αυτές δεν ισχύουν σε όλα τα τρόφιμα, η εξίσωση BET εφαρμόζεται ικανοποιητικά σε ενεργότητες νερού μεταξύ 0,05 έως 0,50 καθώς σε μεγαλύτερες τιμές ενεργότητας, μελέτες έχουν αποδείξει ότι δεν προσαρμόζεται καλά στις περιπτώσεις βιοπολυμερών (Guillard, Bourlieu et al. 2013). Οι ισόθερμες που περιγράφονται από την εξίσωση BET έχουν σιγμοειδή μορφή και το σημείο καμπής τους περιγράφει τη χωρητικότητα της μονοστοιβάδας. Μέσω της εξίσωσης αυτής υπολογίζεται η υγρασία του μονομοριακού στρώματος και η εξίσωση BET εκφράζεται ως:

$$\frac{a_w}{(1-a_w) \cdot m} = \frac{1}{m_m \cdot K} + \frac{a_w \cdot (C-1)}{m_m \cdot C} \quad (10)$$

όπου C είναι μια σταθερά και m_m είναι η περιεχόμενη υγρασία που αντιστοιχεί στο μονομοριακό στρώμα. Οι σταθερές K και m_m υπολογίζονται μέσω γραμμικής παλινδρόμησης των πειραματικών δεδομένων στο εξεταζόμενο εύρος των ενεργοτήτων ($\sim 0,05 - 0,60$).

Ωστόσο ενώ η φυσική ερμηνεία της επιφανειακής προσρόφησης σε άκαμπτα προσροφητικά υλικά σύμφωνα με την εξίσωση BET καλύπτεται πλήρως, η ερμηνεία της ρόφησης νερού από μήτρες βιοπολυμερών είναι λιγότερο προφανής, καθώς για αυτά τα συστήματα, η επιφανειακή προσρόφηση νερού είναι πολύ μικρότερη από την απορρόφηση νερού από τον κύριο όγκο του υλικού, ακόμη και σε χαμηλή περιεκτικότητα σε νερό. Επιπλέον, η εξίσωση BET αποτυγχάνει να λάβει υπόψη τη υαλώδη μετάβαση της μήτρας και τις μοριακές αλληλεπιδράσεις μακρομορίων και νερού στην ελαστική κατάσταση (Guillard, Bourlieu et al. 2013).

➤ **Εξίσωση Guggenheim, Anderson, de Boer (GAB)**

Λόγω της προαναφερθείσας αδυναμίας του μοντέλου BET, το μοντέλο GAB έρχεται να το συμπληρώσει καθώς η θεωρητική του βάση επιτρέπει τη περιγραφή συμπεριφορών ρόφησης σε ένα ευρύτερο φάσμα ενεργοτήτων νερού (0-0,9). Πρόκειται για μία εξίσωση με σημαντικά πλεονεκτήματα καθώς χάρη στην απλότητά της και τη φυσική σημασία των παραμέτρων της

προσαρμόζεται καλά στην πλειοψηφία των τροφίμων και άλλων βιοϋλικών (Lewicki 1997). Η εξίσωση GAB εκφράζεται ως:

$$m = \frac{C \cdot K' \cdot a_w \cdot m_m}{(1 - K' \cdot a_w)(1 - K' \cdot a_w + C \cdot K' \cdot a_w)} \quad (11)$$

όπου C και K είναι σταθερές, m_m είναι η περιεχόμενη υγρασία που αντιστοιχεί στο μονομοριακό στρώμα και m είναι η υγρασία ισορροπίας. Όταν η τιμή της σταθεράς K' ισούται με τη μονάδα, η εξίσωση GAB μετατρέπεται στην εξίσωση BET.

➤ **Εξίσωση Oswin**

Η εξίσωση αυτή είναι ένα εμπειρικό μοντέλο που αποτελείται από μια επέκταση σειράς για σιγμοειδείς καμπύλες και αναπτύχθηκε από τον Oswin το 1946 (Oswin 1946).

$$m = C_1 + \left(\frac{a_w}{1 - a_w} \right)^{C_2} \quad (12)$$

Όπου m η περιεχόμενη υγρασία στην ισορροπία και C_1 , C_2 σταθερές.

Η εξίσωση Oswin έχει χρησιμοποιηθεί για να συσχετίσει την περιεκτικότητα σε υγρασία του ξηρού γάλακτος χωρίς λιπαρά και του λυοφιλοποιημένου τσαγιού με ενεργότητες νερού 0,5 αλλά και για ποικίλα άλλα προϊόντα όπως πατάτα, αλεύρι, μήλα κ.α. (Andrade and Pérez 2011).

➤ **Εξίσωση Halsey**

Αυτό το μοντέλο παρέχει μια έκφραση για τη συμπύκνωση πολλαπλών στρωμάτων σε σχετικά μεγάλη απόσταση από την επιφάνεια. Αυτή η εξίσωση είναι μια καλή αναπαράσταση των δεδομένων προσρόφησης σχετικά με ισόθερμες τύπου I, II, ή III. Επιπλέον, αυτή η εξίσωση έχει περιγράψει ικανοποιητικά τη συμπεριφορά ρόφησης των τροφίμων που περιέχουν άμυλο (Andrade and Pérez 2011). Αυτό το μοντέλο περιγράφεται από την εξίσωση:

$$m = \left(-\frac{C_1}{\ln a_w} \right)^{1/C_2} \quad (13)$$

Όπου m η περιεχόμενη υγρασία στην ισορροπία και C_1 , C_2 σταθερές.

3.4.4.2 Προσδιορισμός της Θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης και εξάρτηση από την υγρασία

Η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (Tg) αποτελεί πολύ σημαντικό παράγοντα για τα υλικά που χρησιμοποιούνται ως μήτρες ενθυλάκωσης. Σε σχέση με τα φαινόμενα ρόφησης υγρασίας, η ανάλυση της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης (Tg) επιτρέπει την καλύτερη κατανόηση των ιδιοτήτων, της σταθερότητας και ασφάλειας των συστημάτων που βασίζονται στη σχέση μεταξύ της περιεκτικότητας σε νερό και της δομής της μήτρας (Velázquez-Gutiérrez, Figueira et al. 2015). Το Tg που αντιπροσωπεύει την μετάβαση από μία σκληρή και σχετικά εύθραυστη “υαλώδη” κατάσταση σε

μία πιο παχύρρευστη, ελαστική φάση, μπορεί να επιτευχθεί με αύξηση της θερμοκρασίας για σταθερή περιεχόμενη υγρασία ή με αύξηση της υγρασίας σε σταθερή θερμοκρασία (Roos 1993). Η αναγνώριση των κρίσιμων θερμοκρασιών και η περιεκτικότητα σε υγρασία στην οποία τα άμορφα στερεά υφίστανται εμφανείς ρεολογικές αλλαγές λόγω της λειτουργίας του νερού ως πλαστικοποιητή, συμβάλλουν στον σωστό ορισμό των καταλληλότερων συνθηκών αποθήκευσης όπου αντιδράσεις αλλοίωσης και δομικοί μετασχηματισμοί (κολλητικότητα, κατάρρευση, κρυστάλλωση και ούτω καθεξής) αποτρέπονται (Vasile, Judis et al. 2020).

Η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης για τις μελετώμενες δομές προσδιορίστηκε με χρήση συσκευής διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (Differential Scanning Calorimetry, DSC) (Pyris DSC-6 Perkin Elmer Ltd., Norwalk, USA), η οποία χρησιμοποιεί λογισμικό Pyris 6 (Software, Perkin Elmer). Δείγματα (5-10mg) τοποθετήθηκαν σε δειγματοφορείς (καψύλια) αλουμινίου και εισήχθησαν στους ξηραντήρες των προαναφερθέντων ενεργοτήτων ύδατος στους 25 °C και 45 °C. Έπειτα από παραμονή των δειγμάτων στους θαλάμους έως ότου ισορροπήσουν (περίπου 3-4 εβδομάδες), οι δειγματοφορείς αλουμινίου σφραγίστηκαν ερμητικά με ειδική πρέσα (Perkin Elmer Ltd., Norwalk, USA) και εισήχθησαν στη συσκευή DSC. Ένας κενός, σφραγισμένος δειγματοφορέας χρησιμοποιήθηκε ως δείγμα αναφοράς. Για τη δημιουργία αδρανούς ατμόσφαιρας χρησιμοποιήθηκε αέριο άζωτο, με παροχή 20 L/min. Τα δείγματα υποβλήθηκαν στο εξής θερμοκρασιακό πρόγραμμα: Παραμονή των δειγμάτων για 1 min στους 0 °C, θέρμανση με σταθερό ρυθμό 5 °C/min από τους 0 °C έως και 10-15 °C πάνω από τη θερμοκρασία εμφάνισης της ενδόθερμης μετάβασης (μέχρι 160°C), ψύξη με ρυθμό 10°C/min και θέρμανση με σταθερό ρυθμό 5 °C/min από τους 0 °C στους 200 °C. Η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης προσδιορίστηκε από το δεύτερο κύκλο θέρμανσης ώστε να έχει εξαιρεθεί οποιαδήποτε θερμική ιστορία είχε υποστεί το πολυμερές από τα προηγούμενα στάδια επεξεργασίας και να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα διαλύτη που θα μπορούσαν να λειτουργήσουν ως πλαστικοποιητές και να επηρεάσουν το σημείο υαλώδους μετάπτωσης (Schawe and Hess 2002, Mohamed and Bohnsack 2013). Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε τρεις επαναλήψεις.

Στις περιπτώσεις που παρατηρήθηκε μεταβολή μάζας των δειγμάτων και συνεπώς μεταβολή στο περιεχόμενο, σε αυτά, νερό, πραγματοποιήθηκε περαιτέρω διερεύνηση με εφαρμογή των ισοθερμικών ρόφησης που προαναφέρθηκαν ώστε να προσδιοριστεί η σχέση ισορροπίας μεταξύ δείγματος και αέριας φάσης ως προς το περιεχόμενο νερό. Όσον αφορά στη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης για τα δείγματα αυτά, υπάρχουν διάφορα μοντέλα που μπορούν να περιγράψουν μαθηματικά τη συσχέτισή της με την περιεχόμενη υγρασία, όπως η εξίσωση Gordon–Taylor ή η εξίσωση Couchman–Karasz (Schugmann and Foerst 2022). Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση Gordon–Taylor (Gordon and Taylor 1952, Yrjö 2006):

$$T_g = \frac{W_1 \cdot T_{g1} + k \cdot W_2 \cdot T_{g2}}{W_1 + k \cdot W_2} \quad (14)$$

όπου, T_g (°C) είναι η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης του υλικού, T_{g1} και T_{g2} (°C) είναι οι θερμοκρασίες υαλώδους μετάπτωσης των άνυδρων στερεών και του νερού αντίστοιχα, W_2 και W_1 είναι τα ποσοστά νερού και στερεών, αντίστοιχα και k είναι μία εμπειρική παράμετρος. Η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης του νερού είναι ίση με -137 °C.

3.4.5 Μελέτη απελευθέρωσης των ενθυλακωμένων βιοδραστικών συστατικών σε περιβάλλον διαλύτη

Ως απελευθέρωση ορίζεται η διαδικασία κατά την οποία μία ενθυλακωμένη ουσία μεταναστεύει από την αρχική θέση της εντός του πολυμερικού συστήματος προς την εξωτερική επιφάνεια του πολυμερούς και στη συνέχεια στο μέσο απελευθέρωσης. Αυτή η φαινομενικά απλή διαδικασία επηρεάζεται από πολλούς πολύπλοκους παράγοντες όπως οι φυσικοχημικές ιδιότητες της ίδιας της ουσίας, τα δομικά χαρακτηριστικά του υλικού της μήτρας, το περιβάλλον απελευθέρωσης και τις πιθανές αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών των παραγόντων.

Γενικά, η διάχυση των ουσιών, η διόγκωση και η αποδόμηση της μήτρας προτείνονται ως οι κύριοι μηχανισμοί για τη μεταφορά ουσιών από πολυμερείς μήτρες. Συγκεκριμένα, ο νόμος της διάχυσης του Fick αποτελεί τη βασική περιγραφή της μεταφοράς μάζας. Η διάχυση κατά Fick (Fickian diffusion) αναφέρεται στη διαδικασία μεταφοράς μιας διαλυμένης ουσίας κατά την οποία ο χρόνος χαλάρωσης του πολυμερούς (t_{relax}) είναι πολύ μεγαλύτερος από τον χαρακτηριστικό χρόνο διάχυσης διαλύτη (t_{dial}). Όταν $t_{relax} \approx t_{dial}$, η μακροσκοπική απελευθέρωση της ουσίας γίνεται ανώμαλη ή non-Fickian (Fu and Kao 2010).

Τα συστήματα ελεγχόμενης απελευθέρωσης αναπτύσσονται με εξάρτηση από τον δραστικό παράγοντα ενδιαφέροντος και στοχεύουν στον έλεγχο της έκθεσής του με την πάροδο του χρόνου, τον βοηθούν στο να διασχίζει φυσιολογικούς φραγμούς, το προστατεύουν από πρόωρη αποδέσμευση και το καθοδηγούν στην επιθυμητή θέση δράσης. Η διαδικασία αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική σε περιπτώσεις φαρμάκων που απαιτείται να δράσουν στοχευμένα ελαχιστοποιώντας την έκθεσή τους σε άλλα σημεία του οργανισμού (Siegel and Rathbone 2012).

Η διαλυτοποίηση μπορεί να οριστεί ως μια διαδικασία με την οποία μόρια μιας ουσίας διαλύονται σε φορέα-διαλύτη. Η διαδικασία διάλυσης ενός ενεργού παράγοντα περιλαμβάνει τη μεταφορά μορίων ή ιόντων του από τη στερεά του φάση στο περιβάλλον μέσο (γενικά νερό, ιστό ή, σε ορισμένες περιπτώσεις, πολυμερές). Το διάλυμα λέγεται ότι είναι κορεσμένο όταν περιέχει μια διαλυμένη ουσία στο όριο της διαλυτότητάς της, λαμβάνοντας υπόψη τις συνθήκες θερμοκρασίας και πίεσης. Ο ρυθμός με τον οποίο η ουσία διαλύεται μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την πρόβλεψη του ρυθμού

απελευθέρωσης της από το μέσο ενθυλάκωσης. Όσο μεγαλύτερη είναι η διαλυτότητα, τόσο ταχύτερη θα είναι η διάλυση όταν δεν εμπλέκεται στο σύστημα χημική αντίδραση (Florence and Attwood 2015). Βασικός παράγοντας για την απελευθέρωση, είναι η δομή και το είδος του πολυμερούς που χρησιμοποιείται ως μήτρα ενθυλάκωσης. Η δομή του περιβλήματος του βιοδραστικού συστατικού καθορίζεται εκτός από τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του ίδιου το πολυμερούς και σε μεγάλο βαθμό από την τεχνολογία ενθυλάκωσης αλλά και από περιβαλλοντικούς παράγοντες (φυσικοί και χημικοί όπως θερμοκρασία, πίεση, pH, υπέρηχοι κ.α.) (Sabaghi, Tavasoli et al. 2022). Μελέτες έχουν δείξει ότι το σχήμα του συστήματος ενθυλάκωσης επηρεάζει τη απελευθέρωση καθώς μεταβάλλει το λόγο του όγκου προς επιφάνεια και επομένως της αλληλεπίδραση με τον περιβάλλοντα χώρο (Moore, Cook et al. 2022). Η μελέτη της απελευθέρωσης πραγματοποιείται, συνήθως, με τη διασπορά του συστήματος ενδιαφέροντος σε υγρό μέσο και ελεγχόμενη ανάδευση. Εναλλακτική μέθοδος για τον ευκολότερο διαχωρισμό των σωματιδίων ενθυλάκωσης από το μέσο διασποράς χωρίς να απαιτείται χρήση φυγοκέντρησης είναι η διάλυση με χρήση ειδικής μεμβράνης (dialysis bag diffusion).

Το μέγεθος και η κατανομή μεγέθους των σωματιδίων αποτελεί καθοριστικό παράγοντα που επηρεάζει τη φαρμακοκινητική, τη βιολογική κατανομή και την τοξικότητα των συστημάτων μεταφοράς ουσιών in vivo.

Ο σκοπός της μαθηματικής μοντελοποίησης είναι να απλοποιήσει τη σύνθετη διαδικασία απελευθέρωσης και να διαμορφώσει μια εικόνα για τους μηχανισμούς απελευθέρωσης ενός συγκεκριμένου συστήματος. Έτσι, ένα μαθηματικό μοντέλο εστιάζει κυρίως σε μία ή δύο κυρίαρχες κινητήριες δυνάμεις της απελευθέρωσης (π.χ. υγρασία-θερμοκρασία, διαλύτης-μηχανική καταπόνηση).

Τα κυριότερα κινητικά μοντέλα απελευθέρωσης είναι :

➤ **Μοντέλο μηδενικής τάξης (Zero order)**

Για την κινητική μηδενικής τάξης η απελευθέρωση της δραστικής ουσίας είναι συνάρτηση του χρόνου και η διεργασία γίνεται με σταθερό ρυθμό ανεξαρτήτως της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας. Η εξίσωση για το κινητικό μοντέλο απελευθέρωσης μηδενικής τάξης είναι:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_0 \cdot t \quad (15)$$

Όπου: M_∞ η αρχική ποσότητα του δραστικής ουσίας στο διάλυμα M_t η ποσότητα της δραστικής ουσίας που διαλύεται στο χρόνο t , K_0 η σταθερά απελευθέρωσης μηδενικής τάξης και t ο χρόνος σε h.

Η κινητική μηδενικής τάξης μπορεί να περιγράψει και συστήματα απελευθέρωσης που γίνονται με ώσμωση όπου η δραστική ουσία περικλείεται από μια μεμβράνη η οποία είναι διαπερατή από το νερό αλλά όχι από τη δραστική ουσία.

➤ **Μοντέλο πρώτης τάξης (First order)**

Αυτό το μοντέλο έχει χρησιμοποιηθεί για να περιγράψει την απορρόφηση ή/και την απέκκριση διάφορων θεραπευτικών παραγόντων. Η κινητική πρώτης τάξης αφορά συστήματα στα οποία ο ρυθμός απελευθέρωσης εξαρτάται από τη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας.

$$\text{Log}\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = -\frac{K_1 t}{2,303} \quad (16)$$

Όπου: M_∞ η αρχική ποσότητα του δραστικής ουσίας στο διάλυμα M_t η ποσότητα της δραστικής ουσίας που διαλύεται στο χρόνο t , K_1 η σταθερά απελευθέρωσης πρώτης τάξης και t ο χρόνος σε h.

Η παραπάνω εξίσωση αντιστοιχεί σε γραμμική συνάρτηση και η γραφική παράσταση του λογαρίθμου της ποσότητας της απελευθερωμένης ουσίας θα είναι μία ευθεία με κλίση $K_1/2,303$. Διάφορα συστήματα περιγράφονται από την κινητική πρώτης τάξης. Για τις εγκλεισμένες δραστικές ουσίες που είναι διαλυτές στο μέσο απελευθέρωσης σε ικανοποιητικό βαθμό, η ποσότητα της δραστικής ουσίας που απελευθερώνεται είναι ανάλογη της ποσότητας που παραμένει στον φορέα. Οπότε, η ποσότητα που απελευθερώνεται τείνει να μειωθεί με την πάροδο του χρόνου.

➤ **Μοντέλο Higuchi**

Η παρακάτω εξίσωση είναι η απλοποιημένη εξίσωση Higuchi η οποία συσχετίζει τη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας με την τετραγωνική ρίζα του χρόνου. Η συσχέτιση είναι γραμμική και προσεγγίζει την απελευθέρωση της δραστικής ουσίας μία διεργασία διάχυσης βασιζόμενη στον 1ο νόμο του Fick.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_H \cdot t^{\frac{1}{2}} \quad (17)$$

Όπου Q η ποσότητα της δραστικής ουσίας που διαλύεται στο χρόνο t , K_H η σταθερά Higuchi και t ο χρόνος σε h.

➤ **Μοντέλο Korsmeyer-Peppas**

Το μοντέλο Korsmeyer – Peppas είναι ένα ημι-εμπειρικό μοντέλο που περιγράφει την απελευθέρωση της δραστικής ουσίας από πολυμερικά συστήματα. Το συγκεκριμένο μοντέλο περιγράφει την εκθετική σχέση της απελευθέρωσης και του χρόνου και αναπτύχθηκε συγκεκριμένα για την απελευθέρωση μιας δραστικής ουσίας από έναν πολυμερικό φορέα όπως η υδρογέλη. Η εξίσωση Korsmeyer-Peppas:

$$\text{Log}\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = n \text{Log}t + \text{Log}K_{kp} \quad (18)$$

Όπου M_t η ποσότητα της ουσίας που απελευθερώνεται την χρονική στιγμή t , M_∞ η συνολική ποσότητα της ουσίας στην εγκλεισμένη δομή ή στην ισορροπία, K_{kp} η κινητική σταθερά που ενσωματώνει δομικά και γεωμετρικά χαρακτηριστικά του συστήματος, t ο χρόνος σε h και n ο εκθέτης διάχυσης ή απελευθέρωσης.

Το συγκεκριμένο μοντέλο είναι χρήσιμο για τη μελέτη του πρώτου 60% της απελευθέρωσης δραστικής ουσίας από πολυμερικά συστήματα όταν δεν είναι γνωστός ο μηχανισμός απελευθέρωσης ή όταν αναπτύσσονται πολλαπλά φαινόμενα απελευθέρωσης. Είναι δυνατόν να γίνει χαρακτηρισμός του μηχανισμού απελευθέρωσης μέσω της τιμής του εκθέτη διάχυσης (n).

- Για $n \leq 0,5$ (Fickian model, Case I) κυριαρχούν τα φαινόμενα διάχυσης. Η διάχυση είναι πιο ισχυρή από την χαλάρωση των πολυμερικών αλυσίδων. Η κινητική τέτοιων συστημάτων χαρακτηρίζονται από τον ρυθμό διάχυσης.
- Για $0,5 < n < 1$ (Ανώμαλη μεταφορά, non-Fickian) παρατηρείται ισοδυναμία των φαινομένων διάχυσης και διόγκωσης.
- Για $n = 1$ (Case II) η απελευθέρωση ακολουθεί κινητική μηδενικής τάξης με κυρίαρχα φαινόμενα τη διόγκωση και χαλάρωση του πολυμερικού πλέγματος.
- Για $n > 1$ (Super Case II) συμβαίνει σπάσιμο πολυμερικών αλυσίδων (λόγω των τάσεων που αναπτύσσονται) κατά τη ρόφηση.

Για τον καθορισμό της τιμής του n συνίσταται να χρησιμοποιείται η καμπύλη απελευθέρωσης μέχρι το σημείο που ισχύει $M_t/M_\infty < 0,60$. Σε κάθε περίπτωση, γίνεται η παραδοχή ότι η απελευθέρωση πραγματοποιείται προς μία κατεύθυνση και ότι ο μέγιστος λόγος πλάτους προς πάχος του φορέα είναι 1:10.

➤ Μοντέλο Hixson-Crowell

Το μοντέλο Hixson-Crowell απεικονίζει τον ρυθμό απελευθέρωσης ως συνάρτηση του χρόνου για μείωση της επιφάνειας ενός στερεού, με την απελευθέρωση του συστήματος να παρατηρείται όταν το εμβαδόν της επιφάνειας και η διάμετρος των σωματιδίων ποικίλλουν.

$$M_\infty^{1/3} - M_t^{1/3} = K_{HC} \cdot t \quad (19)$$

Όπου M_t η ποσότητα της ουσίας που απελευθερώνεται την χρονική στιγμή t , M_∞ η συνολική ποσότητα της ουσίας στην εγκλεισμένη δομή ή στην ισορροπία, K_{HC} σταθερά και t ο χρόνος σε h.

3.4.5.1 Μελέτη απελευθέρωσης δεοξυχολικού οξέος

Δεδομένης της επιθυμητής ενσωμάτωσης του ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος σε καλλυντική κρέμα προσώπου (τύπου O/W), η μελέτη απελευθέρωσης από τη ζεΐνη πραγματοποιήθηκε σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων με pH 5,5 προσομοιάζοντας το pH του υγιούς δέρματος προσώπου. Συγκεκριμένα, 10 mg από το εγκλεισμένο δεοξυχολικό οξύ, διασπάρθηκαν σε 4,2 mL ρυθμιστικού διαλύματος και το διάλυμα αναδεύτηκε στους $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα, πραγματοποιούνταν φυγοκέντρηση στα 3500 rpm για 15 min, τα υπερκείμενα απομακρύνονταν και τα νανοσωματίδια επαναδιασπείρονταν σε 4,2 mL φρέσκου ρυθμιστικού διαλύματος και κατόπιν επανατοποθετούνταν στην μαγνητική ανάδευση. Η ποσότητα του δεοξυχολικού οξέος που απελευθερωνόταν στα υπερκείμενα υπολογίστηκε με φασματοσκοπία UV-Vis μέσω ανάμιξης με πυκνόθειικό οξύ, σύμφωνα με τη μεθοδολογία της υποενότητας 3.4.1.2.

3.4.5.2 Μελέτη απελευθέρωσης εκχυλίσματος φύλλων τομάτας

Δεδομένης της επιθυμητής χρήσης του ενθυλακωμένου εκχυλίσματος στη συσκευασία φρούτων-λαχανικών ως επικάλυψη της συμβατικής πλαστικής συσκευασίας που επομένως θα έρθει σε επαφή με το τρόφιμο, η μελέτη της απελευθέρωσης στηρίχθηκε στη χρήση food simulant. Έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία μελέτες όπου έγινε χρήση προσομοιωτών τροφίμων για να υπολογιστεί ο ρυθμός απελευθέρωσης βιοδραστικών (π.χ. κουρκουμίνη) από ζεΐνη κάνοντας μάλιστα αναφορά στην καλύτερη ικανότητα του πολυμερούς σε περιπτώσεις τροφίμων που περιέχουν αρκετή υγρασία (Alehosseini, Gómez-Mascaraque et al. 2019). Ειδικότερα νανοΐνες ή μικροσωματίδια του ενθυλακωμένου εκχυλίσματος (20-30 mg) αναμίχθηκαν με 1 mL διαλύματος οξικού οξέος 3% (v/v) στους 25°C σύμφωνα με την ευρωπαϊκή νομοθεσία για τα πλαστικά και υλικά που προορίζονται για να έρθουν σε επαφή με τρόφιμα (Simoneau 2009, Moreno, Orqueda et al. 2019). Στην περίπτωση των ινών, σε καθορισμένα χρονικά διαστήματα γινόταν φυγοκέντρηση και παραλαβή του υπερκείμενου υγρού, το οποίο αντικαθίσταντο από φρέσκο διάλυμα οξικού οξέος. Τα υπερκείμενα που συλλέχθηκαν στους διάφορους χρόνους μετρήθηκαν ως προς το περιεχόμενο φαινολικό φορτίο τους με εφαρμογή της μεθοδολογίας που αναφέρθηκε στην υποενότητα 3.4.1.2 σε σχέση με το ολικό φαινολικό φορτίο του αρχικού ενθυλακωμένου εκχυλίσματος που χρησιμοποιήθηκε αφού είχαν γίνει δοκιμές για την αποτελεσματική μέτρηση των φαινολικών του εκχυλίσματος στο μέσο αυτό. Στην περίπτωση του προϊόντος της ξήρανσης με ψεκασμό, πραγματοποιούνταν σε καθορισμένους χρόνους προσθήκη 2 mL εξανίου και έντονη ανακίνηση του μίγματος. Κατόπιν ακολουθούσε φυγοκέντρηση και παραλαβή του υπερκείμενου για μέτρηση του φαινολικού φορτίου.

3.4.6 Μελέτη απελευθέρωσης των ενθυλακωμένων βιοδραστικών συστατικών λόγω παραμονής σε θαλάμους διαφορετικής υγρασίας

Παράλληλα με την προαναφερθείσα μελέτη απελευθέρωσης, το σύνολο των προϊόντων ενθυλάκωσης τοποθετήθηκαν σε θαλάμους εξισορρόπησης υγρασίας στους 25°C και 45°C. Κατά την παραμονή τους στους θαλάμους αυτούς πέρα από την μεταβολή της μάζας τους αλλά και τη θερμική σταθερότητα τους που προσδιορίστηκε (Ενότητα 3.4.4), αξιολογήθηκε και η απελευθέρωση των βιοδραστικών συστατικών. Στόχος ήταν να διαπιστωθεί η επίδραση διαφορετικών περιβαλλόντων υγρασίας και θερμοκρασίας αποθήκευσης στην απελευθέρωση. Για το σκοπό λοιπόν αυτό, ανά τακτά χρονικά διαστήματα λαμβάνονταν δείγματα του 1g από τα προϊόντα ενθυλάκωσης και ακολουθούσε ποσοτικοποίηση του δεοξυχολικού οξέος και του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας, αντίστοιχα με τις μεθόδους που αναλύθηκαν για την μέτρηση της απόδοσης εγκλεισμού.

3.5 Αποτελέσματα

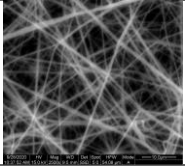
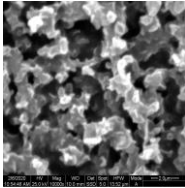
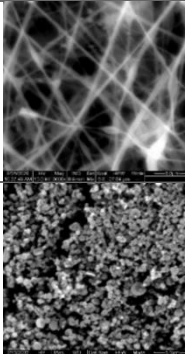
3.5.1 Ανάπτυξη καινοτόμων νανοδομών μέσω της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας

3.5.1.1 Επιλογή κατάλληλου φορέα ενθυλάκωσης (1^ο σετ πειραμάτων): Επίδραση των συνθηκών της διεργασίας και των ιδιοτήτων των διαλυμάτων στη μορφολογία των παραγόμενων δομών

Για την πραγματοποίηση των πειραμάτων ενθυλάκωσης με χρήση της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας και συγκεκριμένα για την μελέτη τόσο του ηλεκτροστατικού ψεκασμού όσο και της ηλεκτροστατικής ινοποίησης δοκιμάστηκαν διάφορα φυσικά πολυμερή. Στόχος ήταν τόσο, σε πρώτη φάση, να εξεταστούν οι λειτουργικές παράμετροι του οργάνου όσο και να προσδιοριστούν οι επιθυμητές ιδιότητες του υλικού που θα αποτελέσει τη μήτρα ενθυλάκωσης για τα βιοδραστικά συστατικά ενδιαφέροντος της παρούσας μελέτης.

Στον ακόλουθο πίνακα παρατίθενται τα χαρακτηριστικά των διαλυμάτων των διαφόρων πολυμερών που μελετήθηκαν καθώς και ενδεικτικές απεικονίσεις των δομών που παραλήφθηκαν με τη χρήση της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας.

Πίνακας 21 Χαρακτηριστικά διαλυμάτων διαφορετικών φυσικών πολυμερών και συνθήκες λειτουργίας της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας για την παραλαβή προϊόντος από αυτά.

Πολυμερές	Συγκέντρωση	Ιξώδες (cP)	Επιφανειακή τάση (mN/m)	Αγωγιμότητα (μS/cm)	Παρατηρήσεις	Απεικονίσεις SEM
HP-β-CD	Υδατικό διάλυμα 60-70% w/v	70-100	65	300	Ικανότητα παραλαβής αποκλειστικά ινών και όχι σωματιδίων-παραλαβή μεμβράνης	
PLA	0,5-10% w/v σε ακετόνη-νερό (90:10)	5-200	23-29	1,5-3,9	Αδυναμία παραλαβής σωματιδίων ακόμα και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις (μίγμα ινών-σωματιδίων) και μικρές αποδόσεις εγκλεισμού	
CTZ	2-10% σε Οξικό οξύ: Νερό (20:80)	300-3000	31-64	1730-2160	Πολύ μεγάλο ιξώδες και αγωγιμότητα-Ανάγκη για συνδυασμό με άλλο πολυμερές ή χρήση άλλου διαλύτη όπως DMSO που ωστόσο δεν είναι GRAS	-
ZN	5- 30% w/v σε Αιθανόλη: Νερό (90:10)	11-783	23,7	330-403	Δυνατότητα εφαρμογής ηλεκτροστατικού ψεκασμού και ινοποίησης-Χρήση φιλικών προς το περιβάλλον διαλυτών	

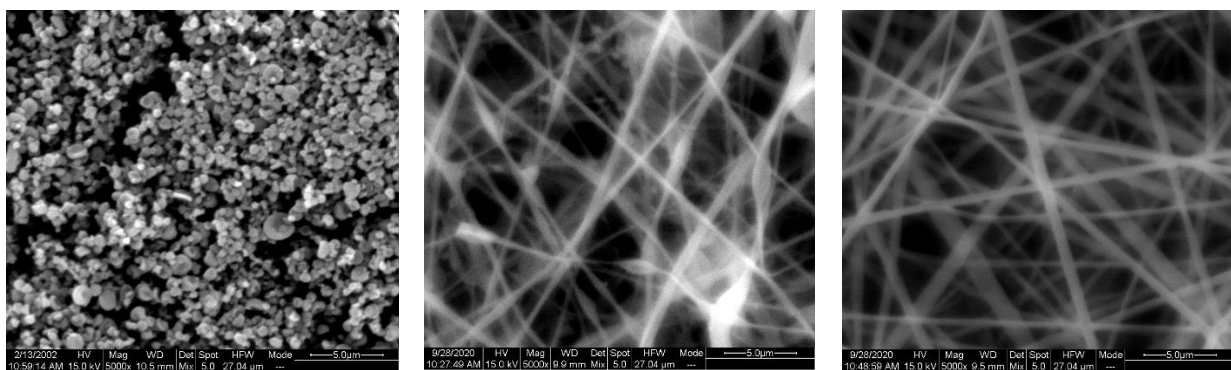
Από τα πολυμερή που μελετήθηκαν, η χιτοζάνη είναι αυτή που απορρίφθηκε πρώτη, καθώς δημιουργούσε διαλύματα με πολύ μεγάλο ιξώδες. Λόγω αυτού, επιχειρήθηκε να μειωθεί η συγκέντρωση του διαλύματος ωστόσο και η πολύ μεγάλη αγωγιμότητα της δεν επέτρεπε την ομαλή δημιουργία του κώνου Taylor με αποτέλεσμα τη εκτόξευση σταγονιδίων στο συλλέκτη. Αναφέρεται ότι το άνω όριο αγωγιμότητας που αναφέρεται στη βιβλιογραφία για την ομαλή διεξαγωγή της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας είναι τα 1000 μS/cm (Zhang, Campagne et al. 2019).

Όσον αφορά στην κυκλοδεξτρίνη, μελετήθηκε το υδατικό της διάλυμα σε συγκεντρώσεις 60-70% w/v, το οποίο λειτούργησε ικανοποιητικά στο όργανο και παραλήφθηκε μεμβράνη. Με μείωση της συγκέντρωσης του διαλύματος εξακολούθησε η παραλαβή ινών.

Το PLA εξετάστηκε και αυτό σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και είχε ικανοποιητική απόκριση στη λειτουργία του οργάνου. Σε περιεκτικότητες 7-10% w/v το προϊόν στο συλλέκτη είχε τη μορφή ομοιόμορφων νανοϊνών ενώ με μείωση της περιεκτικότητας γινόταν παραλαβή μίγματος ινών-

σωματιδίων που οπτικά είχαν τη μορφή κόνεως. Λόγω αυτού, το υλικό αυτό χρησιμοποιήθηκε συνδυαστικά με το δεοξυχολικό οξύ για να μελετηθεί η ικανότητα ενθυλάκωσης. Η μέτρηση της απόδοσης εγκλεισμού έγινε έμμεσα με υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας, μέθοδος που αναλύεται στην ενότητα 3.4.1.1. Ωστόσο τα ποσοστά ενθυλάκωσης ήταν της τάξης του 35-40% συνεπώς και το υλικό αυτό απορρίφθηκε.

Τέλος όσον αφορά στη ζεΐνη, σε πρώτη φάση παρατηρήθηκε ικανότητα παραγωγής σφαιριδίων και ινών με μεταβολή της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης για τις ίδιες λειτουργικές παραμέτρους. Σύγχρονες μελέτες αναφέρονται εκτενώς τις εφαρμογές της ζεΐνης στη διατροφή (Kasaai 2018), τη μεταφορά φυτοχημικών συστατικών (Hassan, Hathout et al. 2022), στη μηχανική ιστών (Paliwal and Palakurthi 2014), στη χορήγηση φαρμάκων από το στόμα (Irache and González-Navarro 2017) και άλλες βιοϊατρικές εφαρμογές (Demir, Ramos-Rivera et al. 2017). Στον τομέα της φαρμακευτικής η ζεΐνη έχει διερευνηθεί ως εξαιρετικό φυσικό δομικό στοιχείο για την παραγωγή νανοσωματιδίων μεταφορά βιοδραστικών συστατικών (Liu, An et al. 2023). Επιπλέον, χάρη στο μοριακό βάρος της, το βαθμό πολυμερισμού και τη χημική δομή της, η ζεΐνη εμφανίζει καλές ιδιότητες σχηματισμού φιλμ. Ο σχηματισμός του φιλμ ζεΐνης συμβαίνει μέσω ενός τρισδιάστατου δικτύου που σταθεροποιείται από αλληλεπιδράσεις υδρογόνου, υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις και δισουλφιδικούς δεσμούς μεταξύ των αλυσίδων της πρωτεΐνης (Corradini, Curti et al. 2014). Με βάση τα βιβλιογραφικά δεδομένα και τα θετικά αποτελέσματα των πρωταρχικών πειραμάτων με την πρωτεΐνη αυτή, έγινε επιλογή της για διεξοδικότερη μελέτη ως προς τη χρήση σαν μήτρα ενθυλάκωσης με την ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία.



α)

β)

γ)

Εικόνα 12 Δομές ζεΐνης με χρήση διαλύτη 90/10 Αιθανόλη-Νερό σε συγκεντρώσεις α) 10% (w/v), β) 20% (w/v) και γ) 30% (w/v) στις ίδιες λειτουργικές παραμέτρους: 0,3 mL/h, 27 kV και 15 cm. Κλίμακα 5 μm.

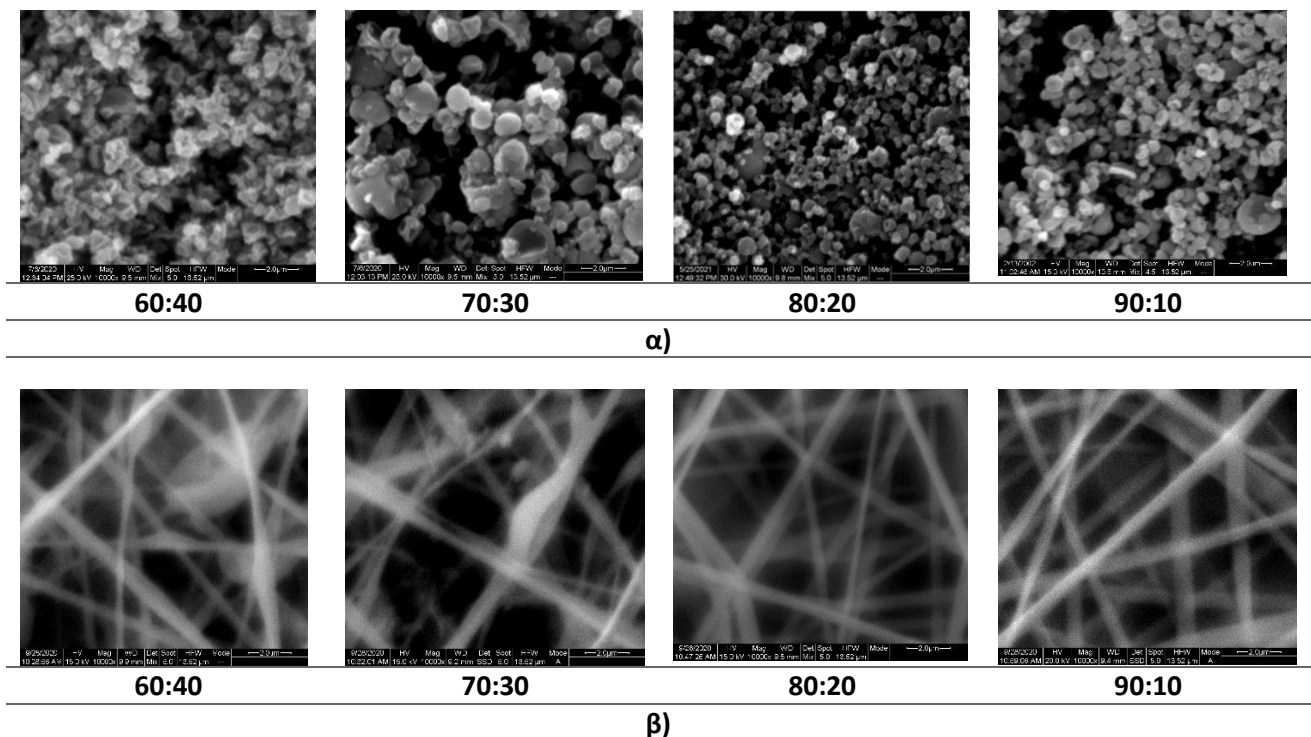
Προκαταρκτικά πειράματα για τη μελέτη των ιδιοτήτων διαλύματος ζεΐνης

Για όλες τις συγκεντρώσεις της ζεΐνης που δοκιμάστηκαν, παρατηρήθηκε σχετικά ομοιόμορφος κώνος Taylor. Σε μικρές συγκεντρώσεις (5-10%) το υλικό αυτό έδωσε ως προϊόν, πολύ λεπτόκοκκη σκόνη ενώ με αύξηση της συγκέντρωσης προς το 25-30% γινόταν παραλαβή λείας μεμβράνης. Η μελέτη των

δομών στο SEM επιβεβαίωσε την παραλαβή ομοιόμορφων τόσο νανοσφαιριδίων, όσο και νανοϊνών ανάλογα με τη συγκέντρωση και τις συνθήκες λειτουργίας. Το γεγονός αυτό έκανε τη ζεΐνη αρκετά δελεαστική καθώς στόχος θα ήταν η ενθυλάκωση βιοδραστικών συστατικών 1) για ενσωμάτωση σε καλλυντικό σκεύασμα -όπου ένα προϊόν σε μορφή λεπτόκοκκης σκόνης θα ενσωματωνόταν καλύτερα- και 2) για δημιουργία φιλμ εδαφοκάλυψης- όπου η παραλαβή φιλμ είναι σαφώς προτιμότερη (Shan, Liu et al. 2015). Με τον τρόπο αυτό πραγματοποιείται αξιοποίηση μίας μόνο αρχικής πρώτης ύλης για ποικίλες εφαρμογές, γεγονός που αφενός συμβάλει στην εξοικονόμηση χρημάτων και υλικών.

➤ **Επίδραση διαλύτη**

Παραγόμενα σωματίδια με διαφορετική συγκέντρωση σε αιθανόλη για λειτουργικές παραμέτρους του οργάνου: 0,3 mL/h, 25 kV και 15 cm και μέση συγκέντρωση ζεΐνης 10% (w/v) και 1mL/h, 27 kV, 15cm και συγκέντρωση ζεΐνης 30% (w/v) για ηλεκτροστατικό ψεκασμό και ινοποίηση αντίστοιχα.

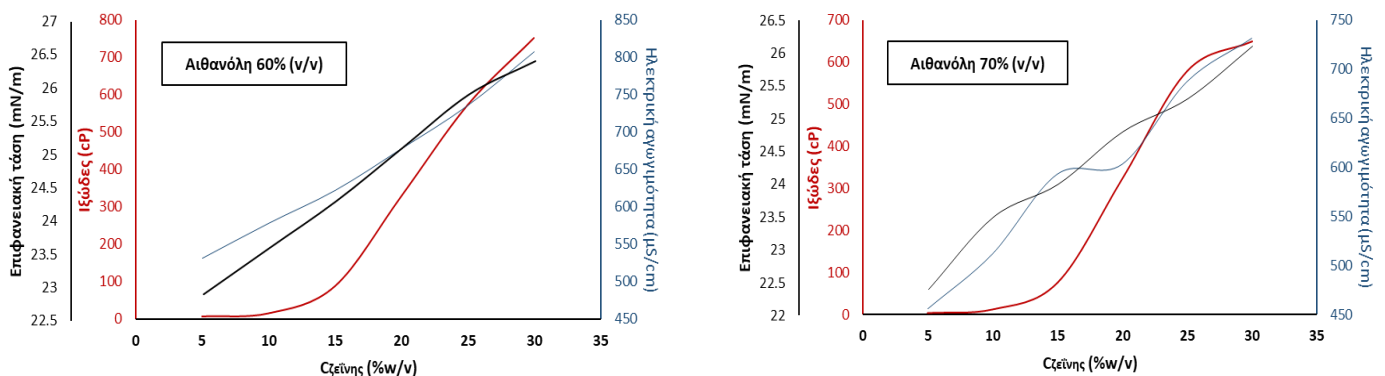


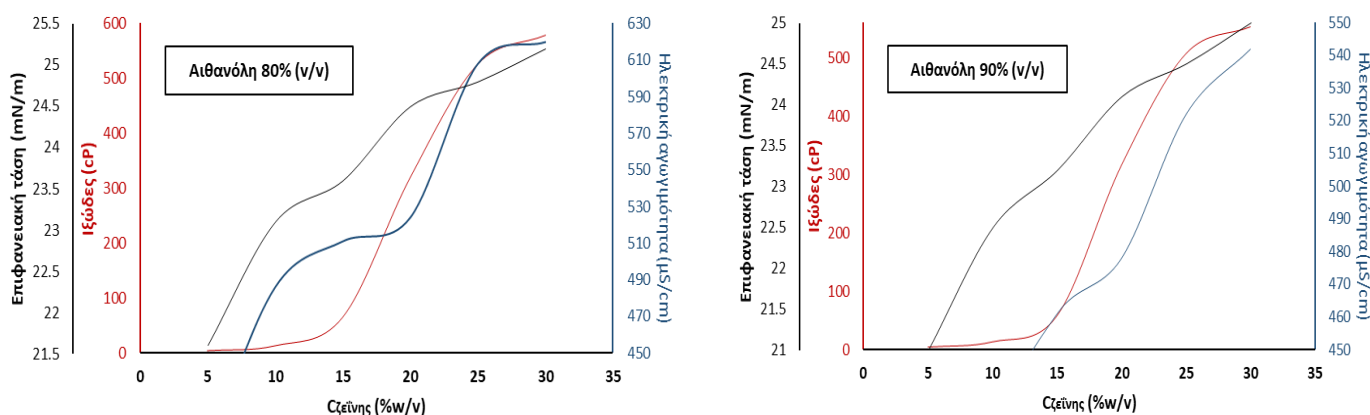
Εικόνα 13 Απεικόνιση SEM των δομών ζεΐνης μέσω της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας για α) ροή: 0,3 mL/h, εφαρμοζόμενη τάση: 25 kV, απόσταση: 15 cm και συγκέντρωση πρωτεΐνης 10% w/v και β) ροή: 1 mL/h, εφαρμοζόμενη τάση: 27 kV, απόσταση: 15 cm και συγκέντρωση πρωτεΐνης 30% w/v με χρήση διαφορετικών αναλογιών αιθανόλης νερού ως μίγμα διαλυτών (60:40, 70:30, 80:20 και 90:10 (v/v)).

Η παραπάνω εικόνα απεικονίζει τη μορφή των νανοσωματιδίων και νανοϊνών ζεΐνης που παρασκευάστηκαν μέσω της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας σε διαφορετικές συγκεντρώσεις υδατικής αιθανόλης και 10% και 30% ζεΐνη (w/v). Και για τις δύο εκδοχές της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας, παρατηρήθηκαν ορισμένες διαφοροποιήσεις στη μορφή των σωματιδίων και των ινών με

την μεταβολή της αναλογίας Αιθανόλης-νερού του διαλύτη. Συγκεκριμένα οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις αιθανόλης οδήγησαν σε δομές με πιο ακανόνιστο, πεπλατυσμένο σχήμα και μεγαλύτερες διαμέτρους. Σημαντικό ρόλο σε αυτό διαδραματίζει η επιφανειακή τάση. Γενικά, διαλύματα με χαμηλότερη επιφανειακή τάση και ιξώδες τείνουν να σχηματίζουν πιο σφαιρικά σωματίδια μικρότερης διαμέτρου (Rodríguez-Félix, Del-Toro-Sánchez et al. 2019). Αυτό, σε συνδυασμό με τον χαμηλό ρυθμό ροής και την υψηλή εφαρμοζόμενη τάση, οδήγησε στην παραγωγή σωματιδίων μικρότερων κατά 120-130 nm με το διαλύτη 80-90% αιθανόλη σε σχέση με τα αντίστοιχα με διαλύτη 60-70% σε αλκοόλη στην περίπτωση του ψεκασμού. Αντίστοιχα για την ινοποίηση, οι δομές διαμορφώθηκαν πιο καθαρές και ομοιόμορφες με αύξηση της περιεκτικότητας του διαλύτη σε αιθανόλη. Οι Zhong and Jin (2009) μελετώντας διαλύματα ζεΐνης με συγκεντρώσεις αιθανόλης 55 έως 90% παρατήρησαν τις δομές με τη μικρότερη διάμετρο στην υψηλότερη συγκέντρωση αιθανόλης, χρησιμοποιώντας ωστόσο διαφορετική μέθοδο παραγωγή σωματιδίων (διασπορά υγρού/υγρού) (Zhong and Jin 2009) ενώ και μεταγενέστερες μελέτες όπου έγινε χρήση ηλεκτροστατικού ψεκασμού υπέδειξαν την παραλαβή σφαιρικών σωματιδίων για αιθανόλη 80% σε διαλύματα ζεΐνης 5% (w/v) (Gomez-Estaca, Balaguer et al. 2012, Wang, Su et al. 2013, Xue, Zhang et al. 2018). Δεδομένου ότι οι παράμετροι του οργάνου και η συγκέντρωση της πρωτεΐνης ήταν σταθερή σε κάθε περίπτωση, αποδεικνύεται η καθοριστική σημασία του διαλύτη για την επιτυχή πραγματοποίηση της διεργασίας (Avossa, Herwig et al. 2022). Οι Rodriguez-Felix et al. παρατήρησαν την σημαντική επίδραση της συγκέντρωσης της αιθανόλης στη ρεολογία των διαλυμάτων ζεΐνης, τονίζοντας ωστόσο την επίσης σημαντική επίδραση των άλλων παραμέτρων του διαλύματος (συγκέντρωση, επιφανειακή τάση, ιξώδες, ηλεκτρική αγωγιμότητα) στην τελική διαμόρφωση των δομών (Rodríguez-Félix, Del-Toro-Sánchez et al. 2019).

Στη συνέχεια παρατίθενται οι μετρήσεις του ιξώδους, της αγωγιμότητας και της επιφανειακής τάσης για το σύνολο των διαφορετικών συγκεντρώσεων ζεΐνης που δοκιμάστηκαν στην παρούσα μελέτη και για συγκεντρώσεις αιθανόλης 60-90% (v/v).





Σχήμα 4 Ιδιότητες διαλυμάτων ζεΐνης για διαφορετικές αναλογίες αιθανόλης: νερού ως μίγμα διαλυτών.

Είναι φανερό από τις μετρήσεις που περιλαμβάνονται στα διαγράμματα ότι η αύξηση της περιεκτικότητας του διαλύτη σε αιθανόλη οδηγεί σε μείωση και των τριών μετρούμενων παραμέτρων του διαλύματος για σταθερή συγκέντρωση ζεΐνης, ενώ η αύξηση της συγκέντρωσης της ζεΐνης οδηγεί σε αύξηση των παραμέτρων για σταθερή αναλογία διαλυτών.

➤ **Επίδραση του ιξώδους**

Όσον αφορά στο ιξώδες, όλα τα διαλύματα έδειξαν διαφορές με τις τιμές να μειώνονται με την αύξηση της συγκέντρωσης της αιθανόλης. Το ιξώδες είναι μια παράμετρος που εξαρτάται από τη συγκέντρωση και το μοριακό βάρος του πολυμερούς, καθώς και από τον χρησιμοποιούμενο διαλύτη. Για το σχηματισμό νανοσωματιδίων, είναι απαραίτητο ένα επαρκές ιξώδες του διαλύματος πρωτεΐνης για να ληφθούν περισσότερα σφαιρικά, μικρότερα και μονοδιασπαρμένα σωματίδια, ωστόσο η περαιτέρω αύξησή του από ένα σημείο και μετά οδηγεί σε σχηματισμό συμπλέγματος ινών-σωματιδίων και τελικά ινών (Rodríguez-Félix, Del-Toro-Sánchez et al. 2019). Σε αυτή τη μελέτη, το διάλυμα με το υψηλότερο ιξώδες ήταν για 60% αιθανόλη (v/v) και ζεΐνη 30% (w/v).

Όσον αφορά στις μικρότερες συγκεντρώσεις ζεΐνης που οδηγούν σε ηλεκτροστατικό ψεκασμό, τα διαλύματα ζεΐνης σε αιθανόλη 90% έδειξαν το χαμηλότερο ιξώδες αντιπροσωπεύοντας το βέλτιστο για το σχηματισμό σφαιρικών σωματιδίων με λίγα πολυδιασπαρμένα σωματίδια. Αυτό επιβεβαιώθηκε με τις εικόνες από το SEM. Το διάλυμα αιθανόλης 80% (v/v) έδειξε επίσης αρκετά χαμηλή τιμή ιξώδους που ωστόσο δεν ήταν επαρκής για το σχηματισμό διακριτών νανοσωματιδίων.

Όσον αφορά στις υψηλότερες συγκεντρώσεις ζεΐνης που οδηγούν προς το σχηματισμό νανοϊνών, τα διαλύματα σε 90% που είχαν το χαμηλότερο ιξώδες παρατηρήθηκε ότι έδωσαν σχετικά ομοιόμορφες ίνες, ωστόσο ο διαλύτης 80% ήταν αυτός που έδωσε τις πιο διακριτές και λεπτές νανοΐνες. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην ομαλότερη διεξαγωγή του πειράματος λόγω της ευκολότερης διέλευσης του

διαλύματος διαμέσου του συστήματος τροφοδοσίας και εξώθησης από το ακροφύσιο, καθώς το ακόμα μεγαλύτερο ιξώδες των άλλων διαλυμάτων καθιστούσε τη διεργασία αρκετά δυσκολότερη.

Αυτή η επίδραση του ιξώδους σε σχέση με τη συγκέντρωση της αιθανόλης οφείλεται κυρίως στο φαινομενικό μοριακό βάρος, το οποίο μειώνεται σε υψηλότερες περιεκτικότητες σε αιθανόλη (Kim and Xu 2008). Ο Taria-Hernández et al. υπέδειξε ότι το ιξώδες είναι μια παράμετρος που πρέπει να ληφθεί υπόψη στον σχηματισμό του κώνου Taylor, ιδιαίτερα στην περίπτωση του ηλεκτροστατικού ψεκασμού όπου ένα υψηλό ιξώδες οδηγεί σε αποσταθεροποίησή του, ενώ ένα χαμηλό ιξώδες σχετίζεται με τη λειτουργία σταθερού κώνου-πίδακα ψεκασμού και σχηματισμό σωματιδίων μικρότερων διαμέτρων (Taria-Hernández, Del-Toro-Sánchez et al. 2019). Ο Gómez-Estaca et al. επίσης ανέφερε ότι το ιξώδες παίζει σημαντικό ρόλο κατά τη διάσπαση και τον ψεκασμό του πίδακα υγρού, και επομένως επηρεάζει το μέγεθος των σταγονιδίων. Ειδικότερα, αναφέρει ότι σε ιξώδη κοντά στα 5 mPa·s προκύπτει μικρότερο μέγεθος σωματιδίων ζεΐνης (Gomez-Estaca, Balaguer et al. 2012). Ομοίως και άλλες σχετικές μελέτες κατέληξαν σε τιμές ιξώδους μεταξύ 4,3-4,9 mPa·s ως τις ιδανικότερες για ηλεκτροστατικό ψεκασμό ζεΐνης 5% (w/v) (Neo, Ray et al. 2012, Rodríguez-Félix, Del-Toro-Sánchez et al. 2019).

➤ **Επίδραση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας**

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα είναι μια παράμετρος που αποτυπώνει την ικανότητα ενός πολυμερούς να επιτρέπει την διέλευση του ηλεκτρικού ρεύματος. Στον εξοπλισμό της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας, αυτή η παράμετρος είναι σημαντική καθώς σχετίζεται με το ηλεκτρικό δυναμικό που εφαρμόζεται στο διάλυμα πολυμερούς μεταξύ του ακροφυσίου εξόδου του διαλύματος και του συλλέκτη του προϊόντος. Δηλαδή, εάν τα πολυμερή που χρησιμοποιούνται με την συγκεκριμένη μεθοδολογία έχουν υψηλή ηλεκτρική αγωγιμότητα, είναι απαραίτητο ένα χαμηλό ηλεκτρικό δυναμικό, αλλά εάν το πολυμερές έχει χαμηλή ηλεκτρική αγωγιμότητα, απαιτείται υψηλό ηλεκτρικό δυναμικό. Σε διαλύματα ζεΐνης με διαφορετικές αναλογίες διαλυτών (Αιθανόλη-νερό), καταδείχθηκαν σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$). Η ηλεκτρική αγωγιμότητα παρουσίασε μείωση με την αύξηση της συγκέντρωσης της αιθανόλης. Ενδεικτικά, η διαφορά μεταξύ των διαλυμάτων 60% έως 70% (v/v) αιθανόλη ήταν 75 $\mu\text{s}/\text{cm}$ και 66 $\mu\text{s}/\text{cm}$ για συγκεντρώσεις ζεΐνης 5 και 10%.

Για το σχηματισμό ομοιόμορφων νανοσωματιδίων, απαιτείται σχετικά υψηλή ηλεκτρική αγωγιμότητα του διαλύματος πολυμερούς καθώς συμβάλει στο σχηματισμό σταθερού συστήματος κώνου-πίδακα (Smeets, Clasen et al. 2017). Όσον αφορά στο σχηματισμό νανοϊνών, έχει επίσης παρατηρηθεί ότι η αγωγιμότητα εμφανίζει μια αντίστροφη σχέση με τη διάμετρο. Δηλαδή διαλύματα με μικρότερη αγωγιμότητα οδήγησαν στο σχηματισμό ινών μεγαλύτερων διαμέτρων λόγω μικρότερης ελαστικότητας (Cetinkaya, Wijaya et al. 2022). Συνολικά για την δυνατότητα εφαρμογής της ηλεκτρο-

υδροδυναμικής διεργασίας έχει βρεθεί ερευνητικά ότι η ηλεκτρική αγωγιμότητα πρέπει να κυμαίνεται από 10^{-7} έως 10^3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Zhang, Campagne et al. 2019).

➤ **Επίδραση της επιφανειακής τάσης**

Αυτή η παράμετρος αντιστοιχεί στη δύναμη που απαιτείται για να διασπαστεί μια σταγόνα σε μικρότερα σταγονίδια. Στα διαλύματα ζεΐνης που παρασκευάστηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις αιθανόλης, η επιφανειακή τάση μειώθηκε με την αύξηση της αιθανόλης. Η επιφανειακή τάση κυμαινόταν από $21,8 \pm 0,7$ mN/cm έως $26,4 \pm 0,1$ mN/cm για το σύνολο των διαλυμάτων. Το μέγεθος αυτό διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο μαζί με το ιζώδες για να σχηματίσουν δομές με τη μορφολογία των σφαιριδίων ή των ινών. Με βάση την απεικόνιση SEM και τις τιμές του πίνακα φαίνεται ότι οι βέλτιστες δομές παραλήφθηκαν στις μικρότερες επιφανειακές τάσεις. Αυτό είναι σε συμφωνία και με τη βιβλιογραφία όπου η χαμηλότερη επιφανειακή τάση τείνει να σχηματίζει σφαιρικά σωματίδια μικρότερης διαμέτρου (Neo, Ray et al. 2012). Επιπλέον σύμφωνα με τους Cloupeau και Smith, η τιμή της επιφανειακής τάσης διαλύματος δεν μπορεί να υπερβαίνει τα 50 mN/m για την επίτευξη ηλεκτροστατικού ψεκασμού (Smith 1986, Cloupeau 1994). Από την άλλη πλευρά, δεν αναφέρεται σαφής συσχέτιση της επιφανειακής τάσης με τη μορφολογία των δομών στην περίπτωση της ηλεκτροστατικής ινοποίησης (Vlachou, Siamidi et al. 2019).

Σχολιασμός 1^{ου} σετ πειραμάτων

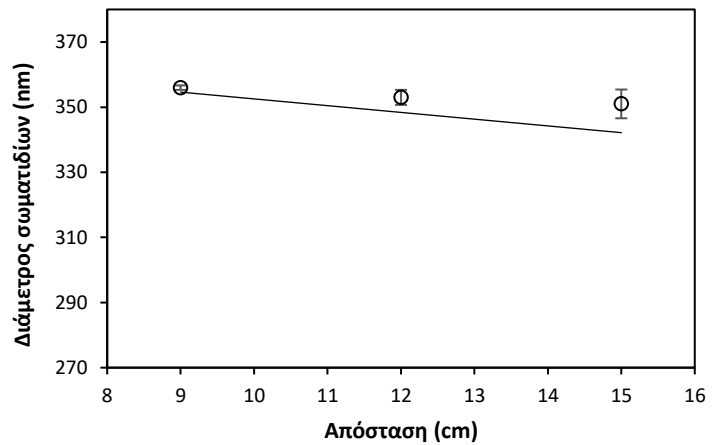
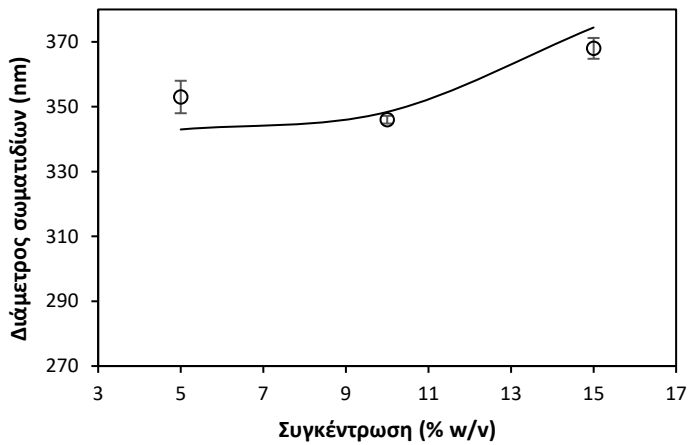
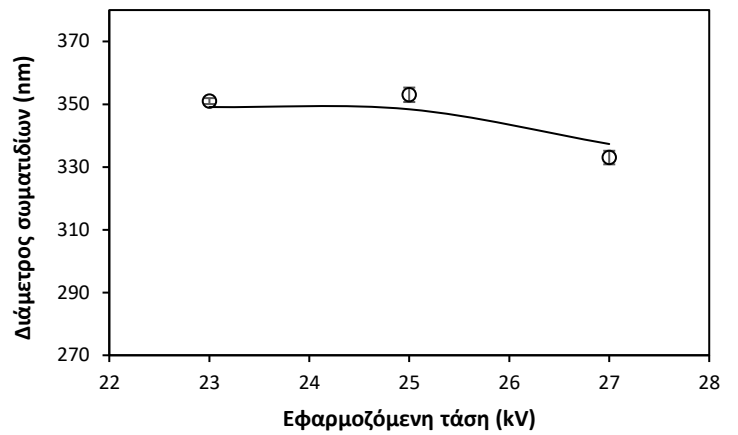
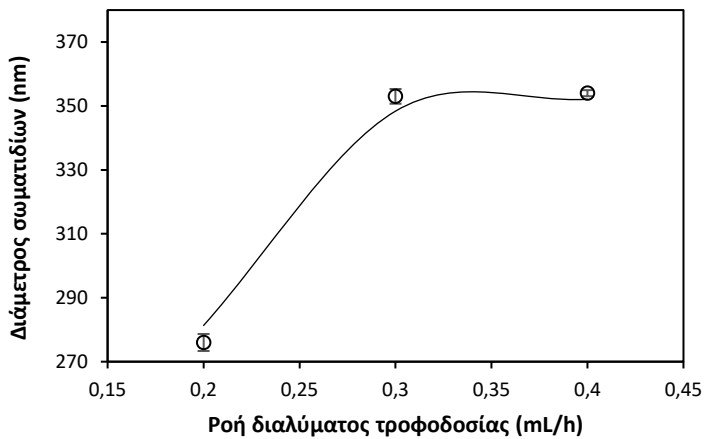
Συμπερασματικά, τα διαλύματα 80-90% αιθανόλης, έδωσαν το πιο ομοιόμορφο αποτέλεσμα ως προς τη λειτουργία του πειράματος και την απεικόνιση των δομών στο SEM. Όσον αφορά στην ηλεκτροστατική ινοποίηση, η ανάγκη για μεγάλη αγωγιμότητα και σχετικά μικρή επιφανειακή τάση οδήγησε στην επιλογή της αιθανόλης 80% και όχι 90% για το επόμενο στάδιο των πειραμάτων δεδομένων των υψηλών συγκεντρώσεων του πολυμερούς που επίσης συμβάλει σε αύξηση του ιζώδους και της επιφανειακής τάσης. Όσον αφορά στις μικρότερες συγκεντρώσεις ζεΐνης, η αιθανόλη 90% είναι αυτή που επιλέχθηκε λόγω της εμφάνισης πιο διακριτών σωματιδίων στο SEM και της μικρότερης δυνατής επιφανειακής τάσης.

3.5.1.2 Πειραματικός σχεδιασμός για την παραλαβή νανοδομών ζεΐνης (2^ο σετ πειραμάτων)

Με βάση την προηγούμενη μελέτη, επιλέχθηκαν οι αναλογίες αιθανόλης-νερού 90:10 και 80:20 (v/v) για την παρασκευή των διαλυμάτων ζεΐνης για τον πειραματικό σχεδιασμό στην περίπτωση του ηλεκτροστατικού ψεκασμού και της ηλεκτροστατικής ινοποίησης, αντίστοιχα.

➤ **Ηλεκτροστατικός ψεκασμός**

Στα ακόλουθα ενδεικτικά διαγράμματα απεικονίζεται η μεμονωμένη επίδραση των διαφορετικών παραγόντων στη διάμετρο των σωματιδίων. Με σημεία απεικονίζονται οι πειραματικές τιμές ενώ με συνεχή γραμμή η προσαρμογή αυτών στο μοντέλο με την εφαρμογή αποκριτικών επιφανειών.



Σχήμα 5 Επίδραση της ροής του διαλύματος, της εφαρμοζόμενης τάσης, της συγκέντρωσης της ζεΐνης και της απόστασης του ακροφυσίου από το συλλέκτη, στη διάμετρο των παραγόμενων ιών μέσω της ηλεκτροστατικής ιονοποίησης.

Η συσχέτιση της διαμέτρου των σωματιδίων με τις λειτουργικές παραμέτρους της διεργασίας και τη συγκέντρωση της ζεΐνης περιγράφηκε από την ακόλουθη πολυωνυμική εξίσωση:

$$d = -850,98 + 5,59 \cdot C_z + 2470,93 \cdot F_R + 63,49 \cdot V - 2,07 \cdot D + 0,41 \cdot C_z^2 - 3167,99 \cdot F_R^2 - 1,29 \cdot V^2 - 21,62 \cdot C_z \cdot F_R - 0,17 \cdot C_z \cdot V$$

όπου d η διάμετρος των σωματιδίων σε nm, C_z η συγκέντρωση της ζεΐνης % (w/v), F_R η ροή του διαλύματος τροφοδοσίας σε mL/h και V η εφαρμοζόμενη τάση σε kV.

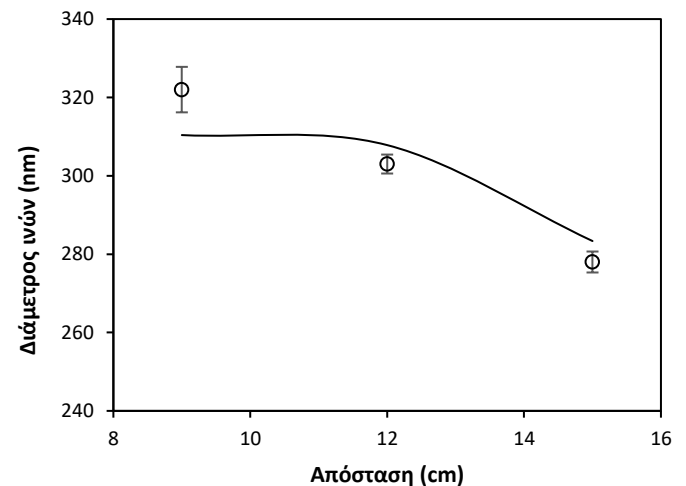
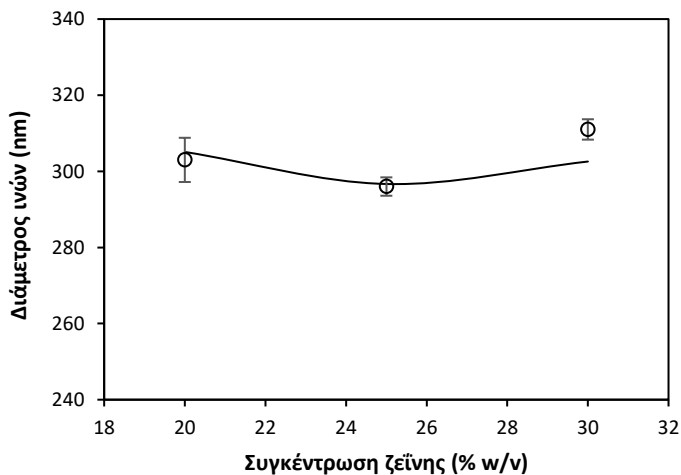
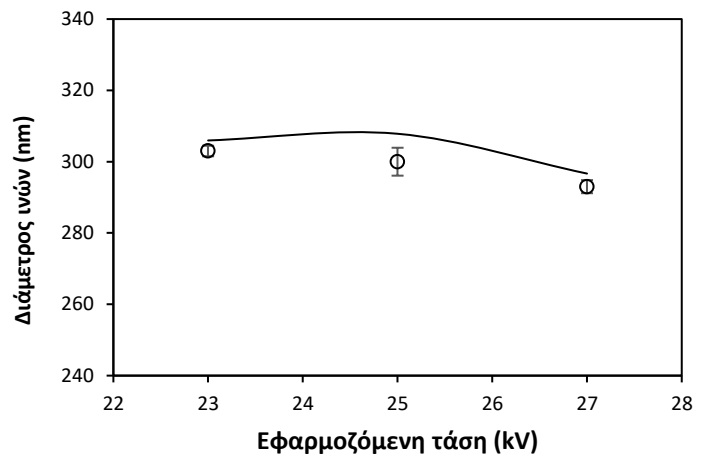
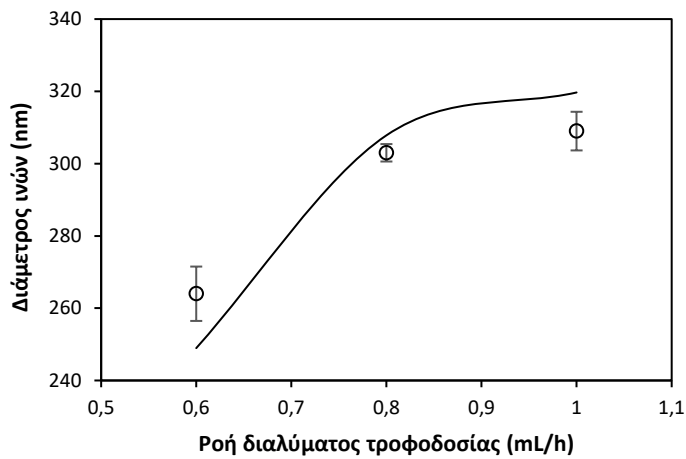
Οι συντελεστές του πολυωνύμου υπολογίστηκαν με στατιστική επεξεργασία των πειραματικών τιμών και εφαρμογή μη γραμμικής παλινδρόμησης με συντελεστή πολλαπλής προσαρμογής $R^2=0,981$.

Από την ανάλυση προέκυψε ότι η απόσταση και η εφαρμοζόμενη τάση είχαν την μικρότερη επίδραση στη διάμετρο των δομών ενώ τη μεγαλύτερη τιμή F (F -value=6157, $p<0,0001$) είχε η ροή του διαλύματος τροφοδοσίας ακολουθούμενη από τη συγκέντρωση της ζεΐνης. Η σημαντική επίδραση της ροής στη διάμετρο των νανοσωματιδίων φαίνεται και από σχετικό γράφημα Ροής-Διαμέτρου το οποίο εμφανίζει και την πιο απότομη κλίση.

Με βάση τα παραπάνω διαγράμματα, παρατηρήθηκε συνολικά αύξηση της διαμέτρου των παραγόμενων σωματιδίων με αύξηση της ροής του διαλύματος και της συγκέντρωσης της ζεΐνης για σταθερή εφαρμοζόμενη τάση. Όσον αφορά στην εφαρμοζόμενη τάση, ενώ θεωρητικά αναμενόμενο θα ήταν η αύξηση της να οδηγεί σε μείωση της διαμέτρου, ωστόσο παρατηρήθηκαν αυξομειώσεις μεγέθους για την ίδια συγκέντρωση ζεΐνης και ροής τροφοδοσίας. Συνολικά από τη μελέτη αυτή η μικρότερη διάμετρος μετρήθηκε για ροή 0,2 mL/h, συγκέντρωση ζεΐνης 10% (w/v), εφαρμοζόμενη τάση 27kV και απόσταση 15 cm.

➤ Ηλεκτροστατική ινοποίηση

Όπως και στην περίπτωση του ηλεκτροστατικού ψεκασμού, πραγματοποιήθηκε απεικόνιση της εξάρτησης της διαμέτρου των παραγόμενων ινών από τις παραμέτρους της διεργασίας που μελετήθηκαν.



Σχήμα 6 Επίδραση της ροής του διαλύματος, της εφαρμοζόμενης τάσης, της συγκέντρωσης της ζεΐνης και της απόστασης του ακροφυσίου από το συλλέκτη, στη διάμετρο των παραγόμενων ινών μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης.

Η συσχέτιση της διαμέτρου των σωματιδίων με τις λειτουργικές παραμέτρους της διεργασίας και τη συγκέντρωση της ζεΐνης περιγράφηκε από την ακόλουθη πολυωνυμική εξίσωση:

$$d = -1022,77 - 6,45 \cdot C_z + 824,42 \cdot F_R + 80,317 \cdot V + 9,46 \cdot D - 0,16 \cdot C_z^2 - 587,68 \cdot F_R^2 - 1,63 \cdot V^2 + 8,09 \cdot C_z \cdot F_R + 0,31 \cdot C_z \cdot V + 7,6 \cdot F_R \cdot D - 0,74 \cdot V \cdot D$$

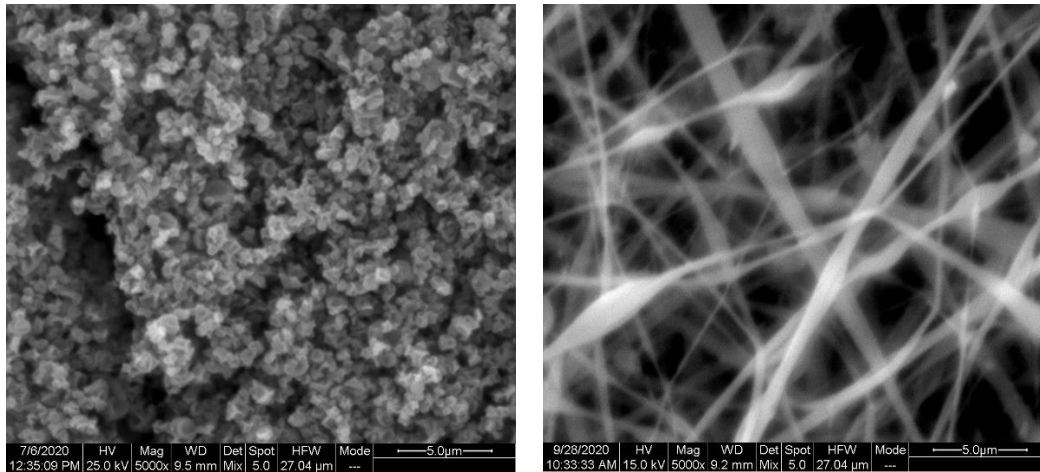
όπου d η διάμετρος των σωματιδίων σε nm, C_z η συγκέντρωση της ζεΐνης % (w/v), F_R η ροή του διαλύματος τροφοδοσίας σε mL/h, V η εφαρμοζόμενη τάση σε kV και D η απόσταση ακροφυσίου-συλλέκτη σε cm.

Οι συντελεστές του πολυωνύμου υπολογίστηκαν με στατιστική επεξεργασία των πειραματικών τιμών και εφαρμογή μη γραμμικής παλινδρόμησης με συντελεστή πολλαπλής προσαρμογής R²=0,94.

Τη μεγαλύτερη τιμή F (F-value=8303, p<0,0001) έδωσε ο παράγοντας ροή και σε αυτή την περίπτωση, με τιμή υψηλότερη αυτής του ηλεκτροστατικού ψεκασμού, ενώ τη μικρότερη επίδραση φάνηκε να έχει η συγκέντρωση της ζεΐνης στην περίπτωση αυτή. Συνολικά οι βέλτιστες ναοΐνες διαμορφώθηκαν για συγκέντρωση ζεΐνης 25% w/v και συνθήκες 0,6 mL/h, 27 kV και 15 cm.

Σχολιασμός 2^{ου} σετ πειραμάτων

Με βάση τη βιβλιογραφία και τη θεωρία γύρω από την αρχή λειτουργίας του οργάνου, η μικρότερη συγκέντρωση ζεΐνης θα ήταν αναμενόμενο να οδηγεί σε μικρότερες διαμέτρους. Ωστόσο, στα πειράματά μας για την ηλεκτροστατική ινοποίηση παρατηρήθηκε ότι η περιοχή των συγκεντρώσεων 15% < C ≤ 20% (w/v) για τα διαλύματα της ζεΐνης οδήγησε σε πιο ακανόνιστες δομές με τον σχηματισμό μίγματος σωματιδίων-ινών για τις διαφορετικές παραμέτρους του οργάνου. Συνεπώς, για το συγκεκριμένο εύρος συγκεντρώσεων του πολυμερούς διαπιστώθηκε μία μεταβατική κατάσταση μεταξύ ηλεκτροστατικού ψεκασμού και ινοποίησης, γι' αυτό και στη συνέχεια για τη μελέτη της ινοποίησης επιλέχθηκε μεγαλύτερη συγκέντρωση. Αντίστοιχα για τον ηλεκτροστατικό ψεκασμό παρατηρήθηκε ότι για συγκέντρωση 5% η μέση διάμετρος των σωματιδίων ήταν μεγαλύτερη από αυτή για συγκέντρωση 10% η οποία έδωσε και την ελάχιστη τιμή. Στην περίπτωση αυτή η συγκέντρωση του 5% κρίθηκε μη επαρκής για το σχηματισμό δομών, οδηγώντας σε συσσωματώματα και ακανόνιστα σχήματα ενώ ο κώνος Taylor που διαμορφώθηκε ήταν περισσότερο ασταθής για το διάλυμα ζεΐνης με την μικρότερη συγκέντρωση.



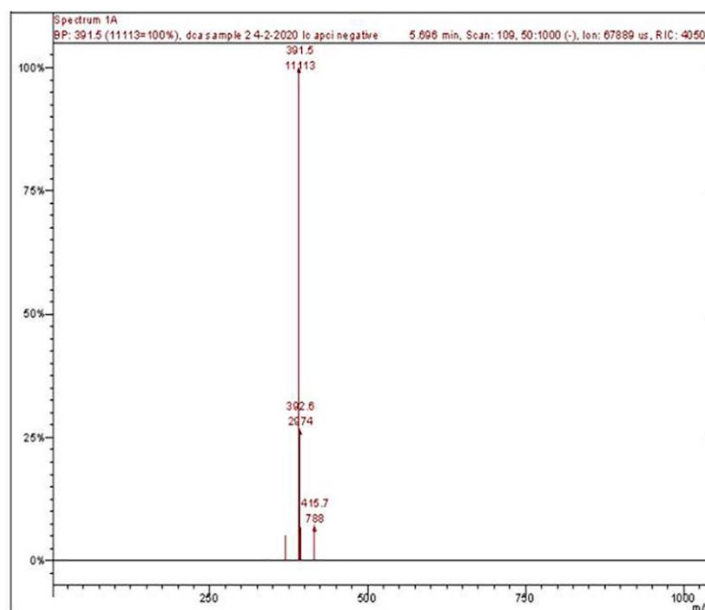
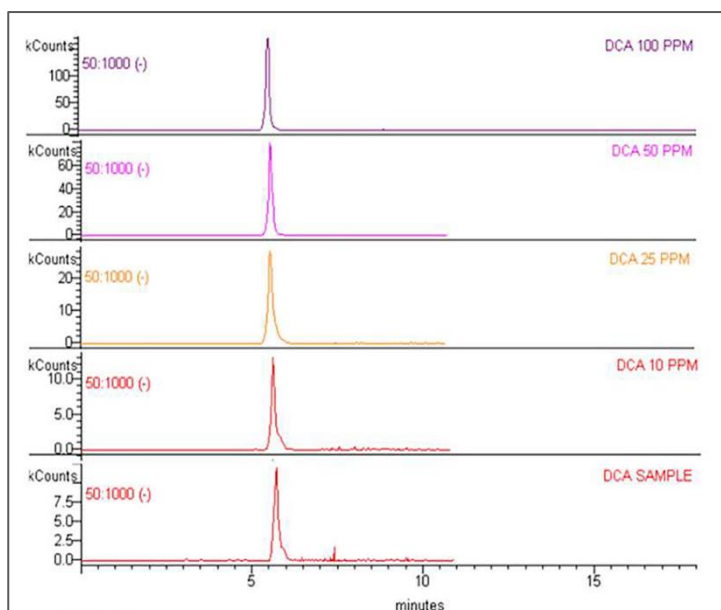
Εικόνα 14 Απεικόνιση SEM των δομών προερχόμενων από την ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία διαλυμάτων ζεΐνης α) 5% (w/v) και β) 20% (w/v) και παραμέτρους του οργάνου: ροή: α) 0,3 mL/h, β) 0,8 mL/h και κοινές τιμές απόστασης-τάσης: 12cm-25 kV.

3.5.2 Ανάπτυξη καινοτόμων νανοσφαιριδίων δεοξυχολικού οξέος μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού και μικροδομών μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό-Συγκριτική ανάλυση

Το δεοξυχολικό οξύ ενθυλακώθηκε σε μία προσπάθεια να αξιοποιηθεί η λιποδιαλυτική του δράση για καλλυντική εφαρμογή. Για το σκοπό αυτό, εφαρμόστηκε η εκδοχή του ηλεκτροστατικού ψεκασμού προς την παραλαβή κόνεως, ενώ το προϊόν συγκρίθηκε με το ενθυλακωμένο μέσω της συμβατικής μεθόδου της ξήρανσης με ψεκασμό για να προσδιοριστεί η υπεροχή ή μη της καινοτόμου μεθόδου.

3.5.2.1 Μελέτη της απόδοσης εγκλεισμού

Η απόδοση εγκλεισμού προσδιορίστηκε με χρήση υγρής χρωματογραφίας συζευγμένης με φασματομετρία μάζας. Στο ακόλουθο γράφημα απεικονίζονται ενδεικτικά αποτελέσματα της μέτρησης στο LC-MS διαλυμάτων δεοξυχολικού οξέος γνωστών συγκεντρώσεων και δείγματος που προέκυψε ως υπερκείμενο από την έκπλυση του προϊόντος ενθυλάκωσης με ηλεκτροστατικό ψεκασμό.



Σχήμα 7 Απεικόνιση διαγραμμάτων LC-MS αιθανολικών διαλυμάτων δεοξυχολικού οξέος διαφορετικών συγκεντρώσεων (10-100 ppm) συγκριτικά με υπερκείμενο υγρό της έκπλυσης προϊόντος ενθυλάκωσης δεοξυχολικού οξέος μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού (SAMPLE).

Η ταυτοποίηση του μη ενθυλακωμένου (επιφανειακού) δεοξυχολικού οξέος με το MS έγινε μέσω ανίχνευσης του χαρακτηριστικού ιόντος (αρνητικός ιονισμός) στα 391,5 m/z. Ο συγκεκριμένος λόγος μάζας προς φορτίο (m/z) συσχετίζεται απευθείας με το μοριακό βάρος της ουσίας (392,57 g/mol) ενώ ο χρόνος έκλουσης του συστατικού ήταν τα 5,69 min.

3.5.2.2 Πειραματικός σχεδιασμός για την αριστοποίηση της ενθυλάκωσης μέσω της ηλεκτροστατικού ψεκασμού

Το δεοξυχολικό οξύ ενθυλακώθηκε σε μήτρα ζεΐνη μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού και οι αποδόσεις ενθυλάκωσης που μετρήθηκαν για τους διαφορετικούς συνδυασμούς των παραμέτρων της διεργασίας κυμάνθηκαν μεταξύ $71,2 \pm 0,89\%$ και $93,1 \pm 0,94\%$. Η μέγιστη απόδοση ενθυλάκωσης μετρήθηκε για τις εξής πειραματικές συνθήκες: ροή 300 mL/h, συγκέντρωση δεοξυχολικού οξέος 1% w/v και εφαρμοζόμενη τάση 27 kV για σταθερή συγκέντρωση ζεΐνης 10% w/v. Η απόσταση διατηρήθηκε στα 15 cm για το σύνολο των πειραμάτων. Όπως αποδεικνύεται από το εύρος τιμών των αποδόσεων εγκλεισμού, η ενθυλάκωση του δεοξυχολικού οξέος στην ζεΐνη μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού, ήταν επιτυχής.

Στον ακόλουθο πίνακα παρατίθενται τα αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης της επιφάνειας απόκρισης για την απόδοση εγκλεισμού του δεοξυχολικού οξέος. Η δεύτερη στήλη του πίνακα αφορά στις τιμές των συντελεστών που προέκυψαν από την πρωταρχική στατιστική επεξεργασία των δεδομένων της απόδοσης εγκλεισμού ενώ η τρίτη στήλη αφορά στις τιμές που προέκυψαν αφού αγνοήθηκαν οι παράμετροι που έδειξαν μη στατιστικά σημαντική επίδραση στην απόδοση ενθυλάκωσης και επαναλήφθηκε η μη γραμμική παλινδρόμηση για το μοντέλο.

Πίνακας 22 Ανάλυση διακύμανσης της επιφάνειας απόκρισης της απόδοσης εγκλεισμού του δεοξυχολικού οξέος μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού.

Απόκριση	Συντελεστές πολυωνύμου	Συντελεστές τροπ. Πολυωνύμου	Τυπικό σφάλμα	Άθροισμα τετραγώνων (SS)	Βαθμοί ελευθερίας (DF)	Μέσο τετραγώνων (MS)	Τιμή F	Τιμή p
Μοντέλο	676,578	657,755	0,768	2625,646	9	291,738	47,937	0,000019
V₁-Ροή διαλύματος	-0,472	-0,450	0,677	281,912	1	281,912	46,322	0,000000
V₁²	0,000	0,000	0,916	138,624	1	138,624	22,778	0,000027
V₂-Συγκέντρωση συστατικού	5,071	16,890	0,467	408,272	1	408,272	67,085	0,000000
V₂²	-8,866	-8,836	0,971	160,599	1	160,599	26,389	0,000009
V₃-Εφαρμοζόμενη τάση	-44,503	-43,781	0,598	353,705	1	353,705	58,119	0,000000
V₃²	0,739	0,737	0,849	73,779	1	73,779	12,123	0,001269
V₁V₂	0,005	-	0,624	2,025	1	2,025	0,333	0,567426
V₁V₃	0,031	0,031	0,802	362,796	1	362,796	59,613	0,000000
V₂V₃	0,422	-	0,523	8,916	1	8,916	1,465	0,233610
Σφάλμα				102,167	38	6,086		
Σύνολο				2727,813	47			

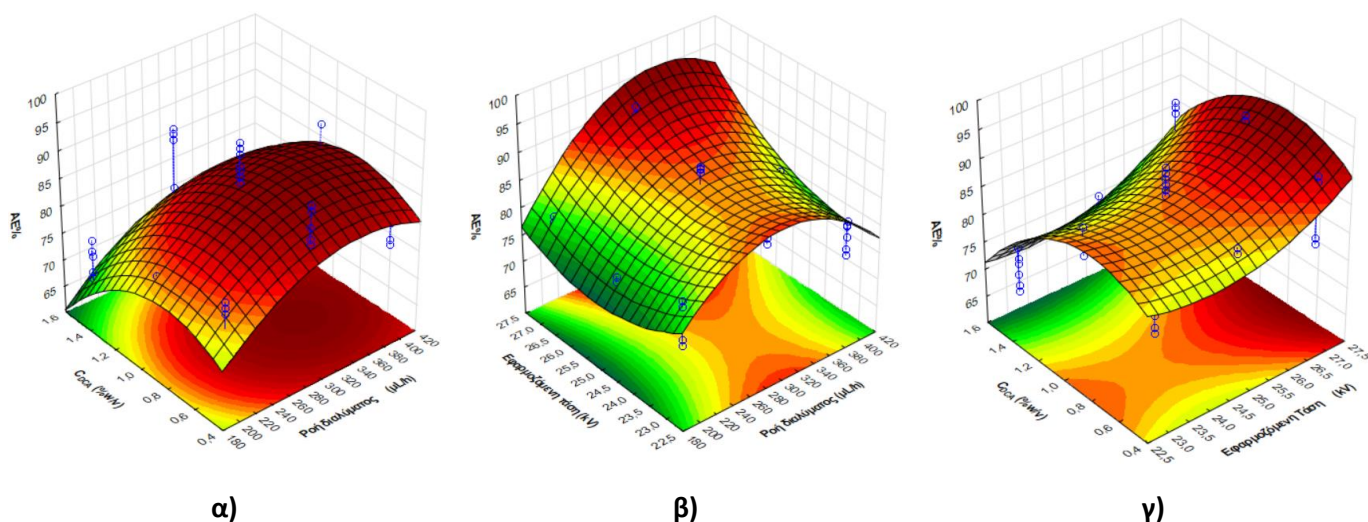
Το μοντέλο για την απόδοση εγκλεισμού βρέθηκε στατιστικά σημαντικό ($p < 0,001$). Η τιμή F του μοντέλου υπολογίστηκε ίση με 47,973 ενώ τη μεγαλύτερη επίδραση στην απόδοση εγκλεισμού αποδείχθηκε ότι είχαν οι γραμμικοί όροι της συγκέντρωσης του συστατικού (V_2) και της εφαρμοζόμενης τάσης (V_3) καθώς και το γινόμενο της ροής με την εφαρμοζόμενη τάση (V_1V_3). Οι τετραγωνικοί όροι των παραμέτρων, αντίθετα, φάνηκε να έχουν μικρότερη αλλά στατιστικά σημαντική επίδραση.

Συνολικά η εξίσωση που περιγράφει τη διεργασία μετά την εξαίρεση των παραμέτρων που βρέθηκαν στατιστικά μη σημαντικοί (V_1V_2 , V_2V_3) είναι η ακόλουθη:

$$\%AE_{DCA} = 657,8 - 0,45V_1 + 16,89V_2 - 43,78V_3 - 0,0004V_1^2 - 8,836V_2^2 + 0,737V_3^2 + 0,0305V_1V_3$$

Ενώ ο συντελεστής προσαρμογής R^2 του πολυωνύμου στα πειραματικά δεδομένα του μοντέλου υπολογίστηκε 0,912.

Στη συνέχεια παρατίθενται τα διαγράμματα αποκριτικών επιφανειών με βάση τα αποτελέσματα του πειραματικού σχεδιασμού ως προς την απόδοση εγκλεισμού.



Σχήμα 8 Γραφήματα αποκριτικών επιφανειών για την απόδοση εγκλεισμού του δεοξυχολικού οξέος (AE%) σε μήτρα ζεΐνη μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού: α) Ροή διαλύματος έναντι συγκέντρωσης συστατικού, β) Ροή διαλύματος έναντι εφαρμοζόμενης τάσης και γ) Εφαρμοζόμενη τάση έναντι συγκέντρωσης συστατικού.

Στα παραπάνω τρισδιάστατα γραφήματα απεικονίζεται η μεταβολή της απόδοσης εγκλεισμού του δεοξυχολικού οξέος από τη συνδυαστική επίδραση δύο κάθε φορά παραμέτρων της διεργασίας, κρατώντας την ή τις άλλες παραμέτρους σταθερές. Όπως φάνηκε από τα αποτελέσματα της στατιστική ανάλυσης των πειραμάτων και τη μορφή των αποκριτικών επιφανειών, για κάθε τιμή ροής του κοινού διαλύματος μήτρας-συστατικού, η αύξηση της συγκέντρωσης του δεοξυχολικού οξέος οδήγησε σε αύξηση και στη συνέχεια σε μείωση της απόδοσης εγκλεισμού καθώς πάνω από μία οριακή τιμή συγκέντρωσής του δεν επαρκεί το διαθέσιμο πολυμερές για την ενθυλάκωσή του (Σχήμα 8α). Όσον αφορά στη συσχέτιση της εφαρμοζόμενης τάσης με τη ροή του διαλύματος, παρατηρήθηκε για την μικρότερη ροή διαλύματος η αύξηση της τάσης οδήγησε σε μείωση και στη συνέχεια αύξηση της απόδοσης εγκλεισμού χωρίς ωστόσο μεγάλες διακυμάνσεις, ενώ για τη μέγιστη ροή διαλύματος παρατηρήθηκε συνεχή αύξηση της απόδοσης εγκλεισμού (Σχήμα 8β). Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι κατά την εφαρμογή μεγάλων ροών διαλύματος, η εφαρμογή μεγαλύτερων τάσεων οδηγεί σε ταχύτερη εξάτμιση του διαλύτη και επομένως εναπόθεση διαμορφωμένων ξηρών σωματιδίων στο συλλέκτη. Συνολικά για τη συσχέτιση των δύο αυτών παραμέτρων, παρατηρήθηκε ότι αύξηση της ροής του διαλύματος, απαιτεί και αύξηση της εφαρμοζόμενης τάσης για την επίτευξη μεγαλύτερης απόδοσης εγκλεισμού. Τέλος, όσον αφορά στη απόδοση εγκλεισμού ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του δεοξυχολικού οξέος και της εφαρμοζόμενης τάσης, παρατηρήθηκε ότι για κάθε τιμή τάσης, η αύξηση της συγκέντρωσης του δραστικού οδήγησε σε αύξηση μέχρι μία μέγιστη τιμή και στη συνέχεια σε μείωση της απόδοσης εγκλεισμού (Σχήμα 8γ). Συνδυαστικά, ωστόσο, παρατηρήθηκε ότι μια παράλληλη αύξηση των δύο παραμέτρων οδηγεί συνολικά σε αυξημένη απόδοση εγκλεισμού.

3.5.2.3 Πειραματικός σχεδιασμός για την αριστοποίηση της ενθυλάκωσης μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό

Για λόγους σύγκρισης, το δεοξυχολικό οξύ εγκλεισθηκε στην ίδια μήτρα ενθυλάκωσης αλλά με χρήση της ξήρανσης με ψεκασμό. Οι αποδόσεις εγκλεισμού που υπολογίστηκαν από τα πειράματα της μεθόδου κυμάνθηκαν μεταξύ $65,71 \pm 0,37\%$ και $85,12 \pm 0,11\%$. Η μέγιστη απόδοση ενθυλάκωσης μετρήθηκε για τις εξής πειραματικές συνθήκες: ροή= 800 mL/h, συγκέντρωση δεοξυχολικού οξέος= 1% w/v και Θερμοκρασία εισόδου=170 °C. Οι αποδόσεις ενθυλάκωσης στην περίπτωση βρέθηκαν συνολικά μικρότερες από αυτές του ηλεκτροστατικού ψεκασμού, ωστόσο υποδεικνύουν τον επιτυχή εγκλεισμό του συστατικού στη ζεΐνη και με αυτή τη μέθοδο.

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης της επιφάνειας απόκρισης της απόδοσης εγκλεισμού από τη μέθοδο αυτή παρατίθενται στον ακόλουθο πίνακα. Η δεύτερη στήλη του πίνακα αφορά στις τιμές των συντελεστών που προέκυψαν από την πρωταρχική στατιστική επεξεργασία των δεδομένων της απόδοσης εγκλεισμού ενώ η τρίτη στήλη αφορά στις τιμές που προέκυψαν αφού αγνοήθηκαν οι παράμετροι που έδειξαν μη στατιστικά σημαντική επίδραση στην απόδοση ενθυλάκωσης και επαναλήφθηκε η μη γραμμική παλινδρόμηση για το μοντέλο.

Πίνακας 23 Ανάλυση διακύμανσης της επιφάνειας απόκρισης της απόδοσης εγκλεισμού του δεοξυχολικού οξέος μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό.

Απόκριση	Συντελεστές πολυωνύμου	Συντελεστές τροπ. Πολυωνύμου	Τυπικό σφάλμα	Άθροισμα τετραγώνων (SS)	Βαθμοί ελευθερίας (DF)	Μέσο τετραγώνων (MS)	Τιμή F	Τιμή p
Μοντέλο	-349,527	69,154	0,565	591,107	9	65,679	19,907	0,000019
V₁-Ροή διαλύματος (mL/h)	-0,110	-0,107	0,099	111,775	1	111,775	33,879	0,000001
V₁²	0,000	0,000	0,675	27,151	1	27,151	8,229	0,006694
V₂- Συγκέντρωση συστατικού (% w/v)	35,683	44,421	0,344	67,901	1	67,901	20,581	0,000056
V₂²	-7,257	-8,366	0,715	107,585	1	107,585	32,609	0,000001
V₃- Θερμοκρασία εισόδου (°C)	4,994	-	0,441	8,308	1	8,308	2,518	0,120823
V₃²	-0,015	0,000	0,625	18,531	1	18,531	5,617	0,022970
V₁V₂	0,004	-	0,459	11,590	1	11,590	3,513	0,068595
V₁V₃	0,001	0,001	0,190	25,473	1	25,473	7,721	0,008436
V₂V₃	-0,127	-0,152	0,085	20,080	1	20,080	6,086	0,018245
Σφάλμα				125,372	38	3,299		
Σύνολο				716,479	47			

Το μοντέλο για την απόδοση εγκλεισμού βρέθηκε στατιστικά σημαντικό ($p < 0,001$) ενώ η τιμή F του μοντέλου υπολογίστηκε ίση με 19,907 δηλώνοντας την αξιοπιστία του. Επιπλέον η ανάλυση έδειξε ότι οι παράγοντες με τη μεγαλύτερη επίδραση στην απόδοση εγκλεισμού ήταν ο γραμμικός όρος της

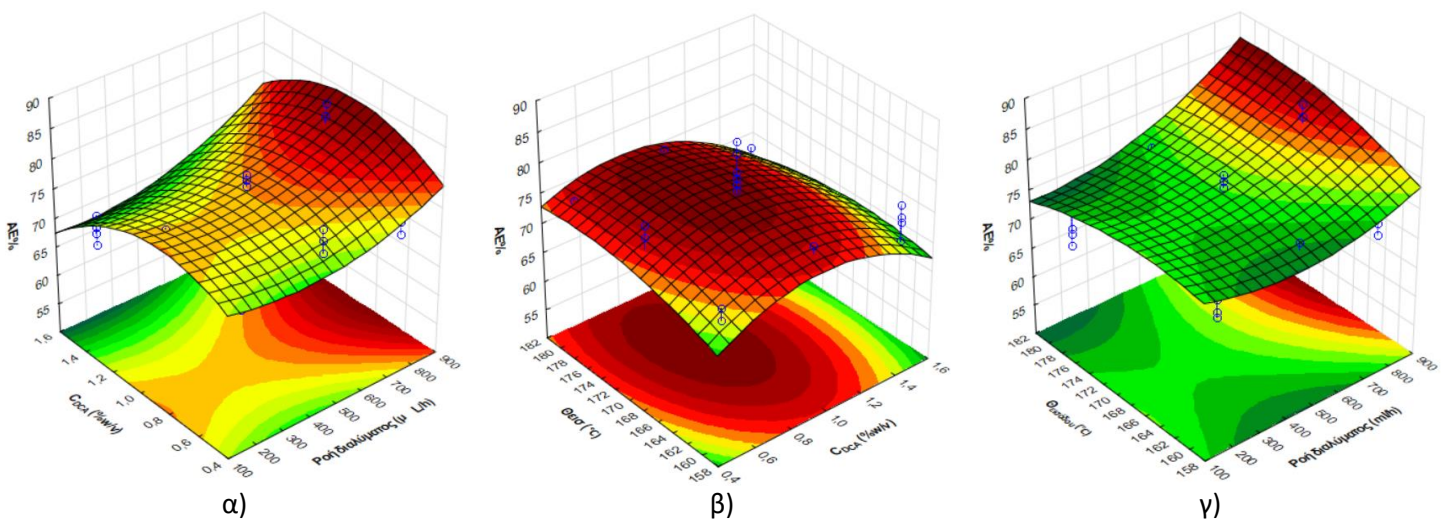
ροής (V_1) και ο γραμμικός και ο τετραγωνικός όρος της συγκέντρωσης του συστατικού (V_2, V_2^2) ενώ μικρότερη επίδραση φάνηκε να έχει η θερμοκρασία εισόδου (V_3).

Συνολικά η εξίσωση που περιγράφει τη διεργασία μετά την εξαίρεση των παραμέτρων που βρέθηκαν στατιστικά μη σημαντικοί (V_3, V_1V_2) είναι η ακόλουθη:

$$\%AE_{DCA} = 69,15 - 0,1073V_1 + 44,42V_2 - 8,366V_2^2 + 0,00058V_1V_3 - 0,1519V_2V_3$$

Ενώ ο συντελεστής προσαρμογής R^2 του μοντέλου υπολογίστηκε ίσος με 0,83.

Στη συνέχεια παρατίθενται τα διαγράμματα αποκριτικών επιφανειών με βάση τα αποτελέσματα του πειραματικού σχεδιασμού ως προς την απόδοση εγκλεισμού για τη συμβατική μέθοδο της ξήρανσης με ψεκασμό.



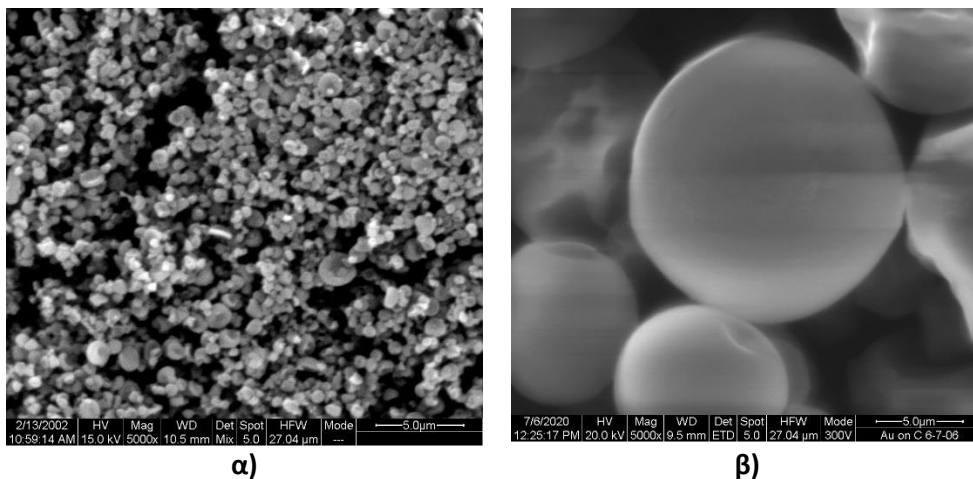
Σχήμα 9 Γραφήματα αποκριτικών επιφανειών για την απόδοση εγκλεισμού του δεοξυχολικού οξέος (AE%) σε μήτρα ζεΐνη μέσω της ξήρανσης με ψεκασμού: α) Ροή διαλύματος έναντι συγκέντρωσης συστατικού, β) Συγκέντρωση συστατικού έναντι θερμοκρασίας εισόδου και γ) Ροή διαλύματος έναντι θερμοκρασίας εισόδου.

Στο Σχήμα 9α, απεικονίζεται η απόδοση εγκλεισμού συναρτήσεως της συγκέντρωσης του συστατικού και της ροής του διαλύματος τροφοδοσίας. Όπως γίνεται αντιληπτό από τη μορφή του διαγράμματος, η αύξηση της συγκέντρωσης του δεοξυχολικού οξέος στο κοινό διάλυμα με τη μήτρα οδηγεί σε αύξηση και στη συνέχεια σε μείωση της απόδοσης εγκλεισμού, υποδεικνύοντας ότι υπάρχει ένα στενό εύρος συγκεντρώσεων της δραστικής ένωσης για το οποίο επιτυγχάνεται η μέγιστη δυνατή συγκράτηση από τη μήτρα, ενώ για μεγαλύτερες τιμές συγκέντρωσης, η απόδοση αρχίζει να μειώνεται καθώς δεν δύναται η ζεΐνη να δεσμεύσει περισσότερο συστατικό. Όσον αφορά στην επίδραση της απόδοσης εγκλεισμού από τη θερμοκρασία εισόδου και τη συγκέντρωση του δεοξυχολικού οξέος, διαπιστώθηκε ότι για κάθε τιμή συγκέντρωσης του συστατικού, οι μεταβολές της θερμοκρασίας εισόδου δεν προκαλούν πολύ μεγάλες μεταβολές στην απόδοση εγκλεισμού (Σχήμα 9β). Τέλος στο Σχήμα 9γ, όπου απεικονίζεται η απόδοση εγκλεισμού συναρτήσεως της ροής του

διαλύματος και της θερμοκρασίας εισόδου, παρατηρήθηκε ότι για τη μικρότερη ροή που εφαρμόστηκε, η θερμοκρασία εισόδου δεν επηρέασε την απόδοση εγκλεισμού, ωστόσο με την αύξηση των εφαρμοζόμενων ροών τροφοδοσίας φάνηκε ότι η απόδοση εγκλεισμού αυξήθηκε με την αύξηση της θερμοκρασίας εισόδου. Το αποτέλεσμα αυτό είναι λογικό καθώς, η επίτευξη μεγαλύτερης απόδοσης εγκλεισμού προϋποθέτει αποτελεσματικότερη ξήρανση προς σχηματισμό των ξηρών σωματιδίων, η οποία με τη σειρά της απαιτεί μεγαλύτερη παροχή θερμότητας όταν ταυτόχρονα αυξάνεται ο όγκος του υγρού που εισρέει στο σύστημα και φτάνει στον εκνεφωτή.

3.5.2.4 Παρατήρησης της μορφολογίας των προϊόντων ενθυλάκωσης μέσω της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (SEM)

Η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης χρησιμοποιήθηκε για την μελέτη της μορφολογίας των παραγόμενων δομών ενθυλάκωσης. Οι εικόνες SEM που παρατίθενται στη συνέχεια, απεικονίζουν το εγκλεισμένο δεοξυχολικό οξύ σε μήτρα ζεΐνη όπως αυτό παράχθηκε μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού και της ξήρανσης με ψεκασμό.

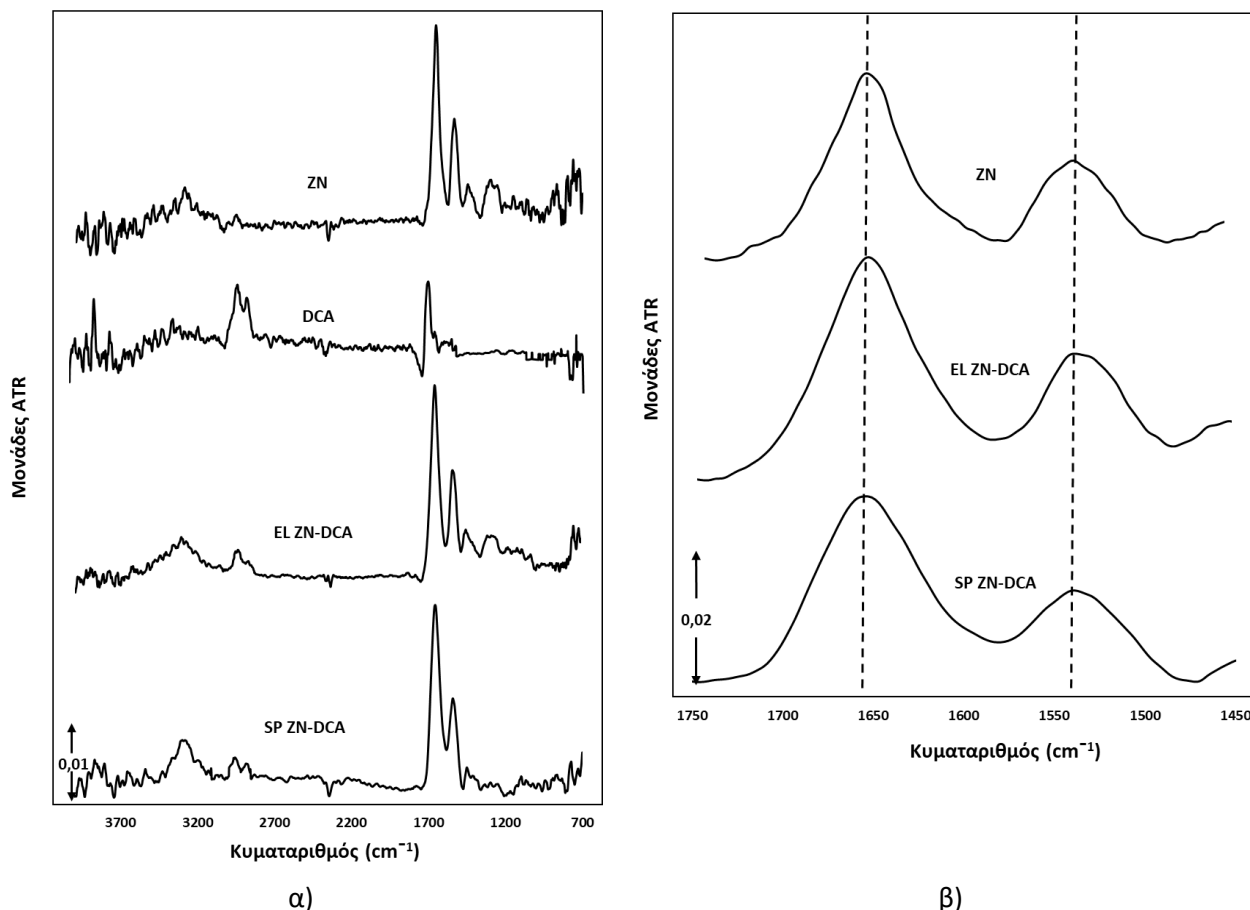


Εικόνα 15 Απεικόνιση SEM των δομών ενθυλάκωσης του δεοξυχολικού οξέος μέσω α) του ηλεκτροστατικού ψεκασμού και β) της ξήρανσης με ψεκασμό για τις οποίες μετρήθηκε η μέγιστη απόδοση εγκλεισμού.

Με χρήση του λογισμικού ImageJ μετρήθηκαν οι διάμετροι των σωματιδίων, οι μέσες τιμές των οποίων βρέθηκαν: $0,37 \pm 0,09 \mu\text{m}$ για τον ηλεκτροστατικό ψεκασμό και $8,32 \pm 2,06 \mu\text{m}$ για την ξήρανση με ψεκασμό. Τα αποτελέσματα αυτά ήταν αναμενόμενα δεδομένης της αδυναμίας του ξηραντήρα ψεκασμού και ειδικότερα των προδιαγραφών του οργάνου που χρησιμοποιήθηκε, να δώσει διαμέτρους μικρότερες των $5 \mu\text{m}$ και αντίθετα της ικανότητας του ηλεκτροστατικού ψεκασμού στο να δώσει σωματίδια κάτω του $1 \mu\text{m}$ και μέχρι 100 nm . Όσον αφορά στα νανοσωματίδια, αυτά παρουσίασαν αντίστοιχη μέση διάμετρο με αυτήν που υπολογίστηκε για τις δομές της ζεΐνης χωρίς συστατικό στα προκαταρκτικά πειράματα. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι αφενός η συγκέντρωση της ζεΐνης δεν μεταβλήθηκε ενώ και στις δύο περιπτώσεις η εφαρμοζόμενη τάση και η απόσταση είχαν την ίδια τιμή για βέλτιστη διάμετρο και απόδοση ενθυλάκωσης.

3.5.2.5 Εφαρμογή της τεχνικής της Φασματοσκοπίας Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier με Αποσβένουσα Ολική Ανάκλαση (ATR-FTIR)

Η φασματοσκοπία ATR-FTIR χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των λειτουργικών ομάδων κάθε υλικού και την εξέταση των αλληλεπιδράσεών τους στα σωματίδια που προέκυψαν από τις μεθόδους ενθυλάκωσης. Τα φάσματα που ελήφθησαν από τη μέτρηση παρατίθενται στη συνέχεια.



Σχήμα 10 Φάσματα ATR-FTIR α) για όλα το εύρος κυματαριθμών και β) στην περιοχή απορρόφησης του αμιδίου I και II, για τη ZN χωρίς συστατικό σε σχέση με τα προϊόντα ενθυλάκωσης μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού (EL ZN-DCA) και της ξήρανσης με ψεκασμό (SP ZN-DCA).

Όσον αφορά στην καθαρή ζεΐνη, δύο χαρακτηριστικές κορυφές στα 1652 και 1531 cm^{-1} υποδηλώνουν την παρουσία των Αμιδίων I και II αντίστοιχα. Το Αμίδιο I αποτελεί την πιο σημαντική και εντονότερη ζώνη απορρόφησης στον χαρακτηρισμό των πρωτεϊνών, ενώ συνδέεται ως επί το πλείστον με τη δόνηση τάσης των C = O ($\approx 80\%$) και C-N ($\approx 10\%$) του πεπτιδικού δεσμού και δίνει πληροφορίες για τη δευτεροταγή δομή της πρωτεΐνης (α-έλικα, β-πτυχωτό φύλλο) (Kong and Yu 2007). Πιο συγκεκριμένα το γεγονός ότι η κορυφή στα 1652 cm^{-1} είναι αρκετά συμμετρική δείχνει την υψηλότερη ποσότητα α-ελίκων στην δευτεροταγή δομή (Shaikh, Khatri et al. 2014). Το Αμίδιο II συνδέεται κυρίως με τη δόνηση κάμψης του δεσμού N-H ($\approx 60\%$) και τάσης των δεσμών C-N ($\approx 30\%$) και C-C ($\approx 10\%$) ενώ δεν δίνει πληροφορίες για τη διαμόρφωση της πρωτεΐνης (Kong and Yu 2007).

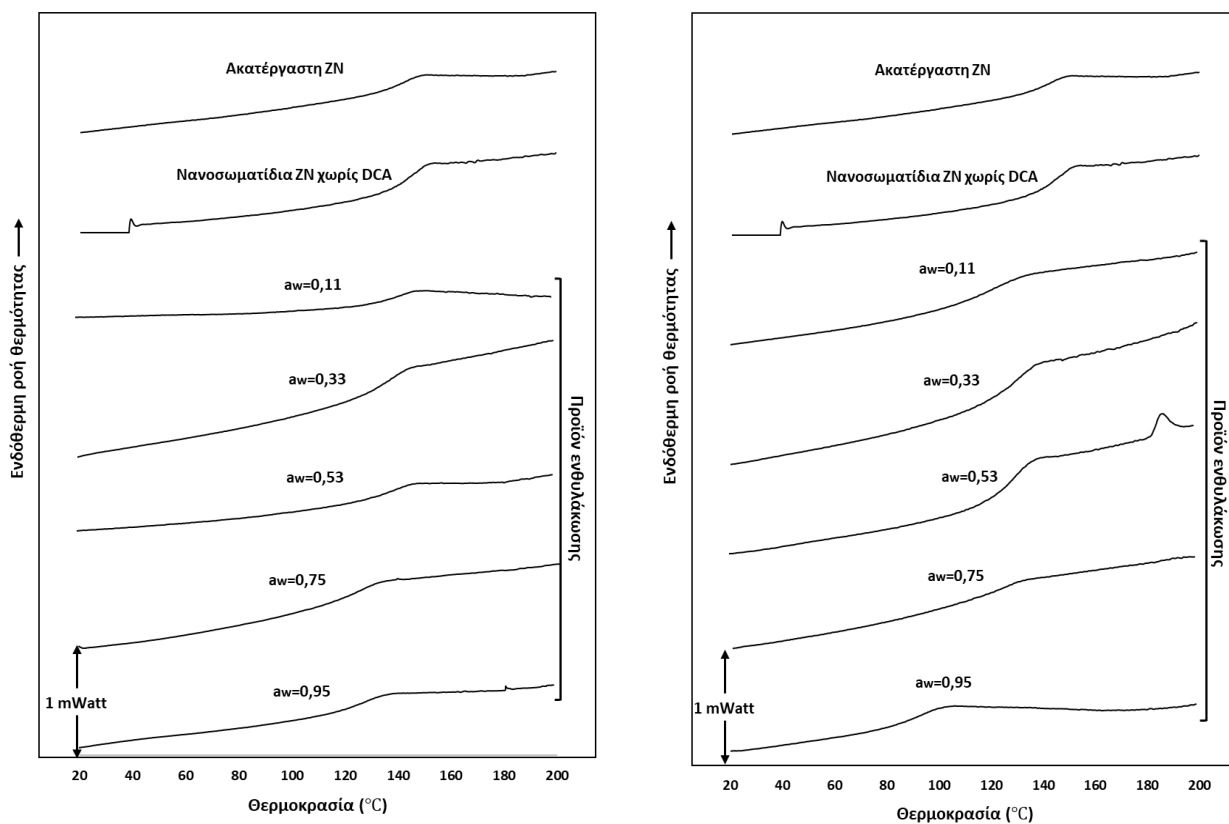
Όσον αφορά στο δεοξυχολικό οξύ, οι χαρακτηριστικές κορυφές στα 2926 – 2865 cm^{-1} συνδέονται με τη δόνηση τάσης του δεσμού C-H και στα 1696 cm^{-1} με το δεσμό C=O (Yang, Gao et al. 2014).

Στην περίπτωση των προϊόντων ενθυλάκωσης EL ZN-DCA και SP ZN-DCA, που παράχθηκαν μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού και της ξήρανσης με ψεκασμό, αντίστοιχα, μια μικρή κορυφή στα 2925 cm^{-1} που εμφανίζεται μόνο στο φάσμα του βιοδραστικού συστατικού και όχι σε αυτό της καθαρής μήτρας, δηλώνει την παρουσία του δεοξυχολικού οξέος στο προϊόν ενθυλάκωσης. Επιπλέον ο εντοπισμός των χαρακτηριστικών κορυφών των Αμιδίων I και II δείχνει ότι και οι δύο διεργασίες ενθυλάκωσης δεν επέφεραν εμφανείς αλλοιώσεις στη ραχοκοκαλιά της μήτρας ενώ και ο εγκλεισμός επετεύχθη φυσικά. Επιπλέον παρατηρήθηκε ενίσχυση της έντασης της κορυφής του Αμιδίου I για το δείγμα EL ZN-DCA σχέση με το φάσμα της καθαρής ζεΐνης που υποδεικνύει την επικάλυψη της κορυφής του DCA που στο φάσμα του καθαρού συστατικού εντοπίζεται στα 1696 cm^{-1} . Όσον αφορά στο φάσμα του SP ZN-DCA, παρατηρήθηκε μια διαπλάτυνση των κορυφών των αμιδίων σε σχέση με τη καθαρή μήτρα. Οι διαφοροποιήσεις αυτές οφείλονται στις υδροφοβικές αλληλεπίδραση του δεοξυχολικού οξέος με τη ζεΐνη, χωρίς ωστόσο να παρατηρείται δημιουργία νέων δεσμών. Με βάση το φάσμα στην περιοχή απορρόφησης των αμιδίων, δεν παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη μετατόπιση των κορυφών τους, επιβεβαιώνοντας τη χημική σταθερότητα της δομής της μήτρας πριν και μετά τις διεργασίες ενθυλάκωσης. Στο συμπέρασμα αυτό συντελεί και ο υπολογισμός του λόγου των απορροφήσεων των αμιδίων I,II που βρέθηκε ίσος με 1,63, 1,65 και 1,66 για τη ζεΐνη και τα δείγματα EL ZN-DCA και SP ZN-DCA, αντίστοιχα. Οι λόγοι αυτοί δεν βρέθηκαν σημαντικά διαφορετικοί μεταξύ των δειγμάτων, υποδεικνύοντας τη χημική σταθερότητα της πρωτεΐνης και το μη σχηματισμό χημικών δεσμών κατά την ενθυλάκωση.

3.5.2.6 Μελέτη επίδρασης υγρασίας και προσδιορισμός θερμικών ιδιοτήτων μέσω της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC)

➤ Ηλεκτροστατικός ψεκασμός

Η ζεΐνη είναι ένα πλήρως άμορφο πολυμερές, συνεπώς η κύρια μετάπτωση που πρέπει να ανιχνευτεί είναι η υαλώδης μετάπτωση, η οποία αντιπροσωπεύει τη σταδιακή μετάβαση του υλικού από μια «υαλώδη» φάση σε μια παχύρρευστη ή ελαστική κατάσταση με την αύξηση της θερμοκρασίας και σχετίζεται με τις φυσικές ιδιότητες και τις αλλαγές που έχουν λάβει χώρα στην πρωτεΐνη κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας της. Η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (T_g) γενικά μειώνεται με την αύξηση της περιεκτικότητας σε υγρασία (Drake, Lee et al. 2018). Το T_g των δειγμάτων ελήφθη από τον 2^ο θερμικό κύκλο (Σχήμα 11) έτσι ώστε να έχει εξαλειφθεί η θερμική ιστορία που ενδέχεται να φέρει το πολυμερές λόγω προηγούμενων κατεργασιών που έχει υποστεί αλλά και να έχουν απομακρυνθεί πλήρως τυχόν υπολείμματα διαλυτών (Mohomed and Bohnsack 2013). Για την αξιολόγηση της επίδρασης της υγρασίας, το T_g των δειγμάτων προσδιορίστηκε ύστερα από παραμονή τους σε θαλάμους με διαφορετικές σχετικές υγρασίες για 4 εβδομάδες και συγκρίθηκε με το γράφημα της ακατέργαστης ξηρής ZN καθώς και των νανοσωματιδίων αυτής χωρίς την ενθυλάκωση συστατικού.



α)

β)

Σχήμα 11 Απεικόνιση του σημείου υαλώδους μετάπτωσης μέσω της μεθόδου DSC για την ακατέργαστη ζεΐνη και τα νανοσωματίδια με το εγκλεισμένο δεοξυχολικό οξύ πριν και μετά την παραμονή σε θαλάμους εξισορρόπησης υγρασίας α) στους 25°C και β) στους 45°C.

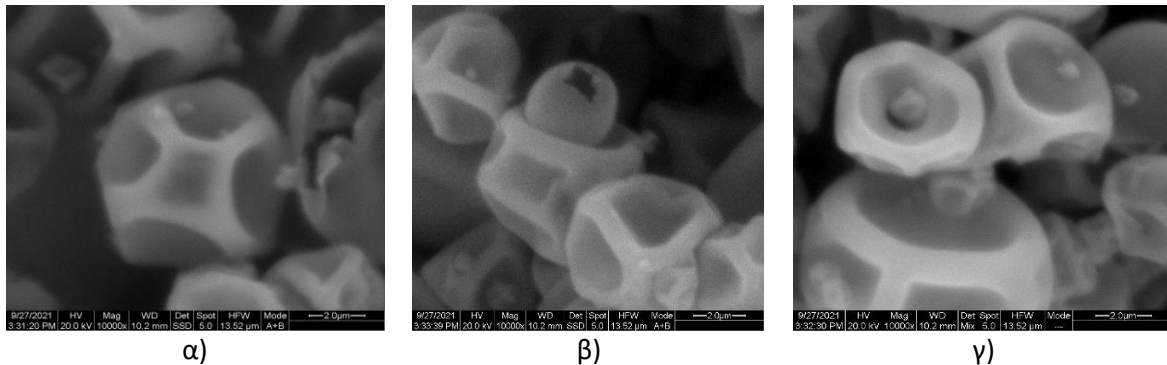
Η ακατέργαστη μήτρα και τα νανοσωματίδια αυτής που μετρήθηκαν απευθείας μετά τη συλλογή από τον ηλεκτροστατικό ψεκασμό, έδωσαν τιμές υαλώδους μετάπτωσης στους 145 και 143 °C, αντίστοιχα. Στη βιβλιογραφία καταγράφονται τιμές υαλώδους μετάπτωσης για τη καθαρή ζεΐνη στους 139-165 °C (Magoshi, Nakamura et al. 1992, Madeka and Kokini 1996, Sessa, Selling et al. 2012, Shaikh, Khatri et al. 2014, Wang, Nandgaonkar et al. 2014) συνεπώς οι υπολογιζόμενες τιμές εμφανίζονται εντός του συγκεκριμένου εύρους.

Όσον αφορά στα δείγματα του εγκλεισμένου DCA σε ZN, είχαν σχετικά κοντινή θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης μεταξύ τους αλλά και με τα δείγματα της ξηρής ακατέργαστης ζεΐνης και των νανοσωματιδίων της πριν την τοποθέτηση στους θαλάμους υγρασίας. Συγκεκριμένα το T_g των δειγμάτων κυμάνθηκε στους 129-141 °C. Συνεπώς υπήρξε απόκλιση 2-16°C συνολικά από το T_g της ακατέργαστης ζεΐνης και των άδειων νανοσωματιδίων. Η μετατόπιση αυτή προς ελαφρώς μικρότερες θερμοκρασίες οφείλεται στην ενσωμάτωση συστατικών χαμηλού μοριακού βάρους, όπως είναι το DCA, εντός του πολυμερούς υλικού (García-Cárdenas, Ciro-Velásquez et al. 2015) καθώς η υγρασία δεν φαίνεται να επηρέασε ιδιαίτερα τις μετρήσεις. Αυτό αποδεικνύεται από το γεγονός ότι όλα τα δείγματα είχαν πολύ κοντινά βάρη πριν και μετά την παραμονή τους στους διαφορετικούς θαλάμους ελέγχου υγρασίας. Συγκεκριμένα η μεταβολή της μάζας έφτασε κατά μέγιστο μόλις το 1,6 και 2,5% για τα δείγματα παραμονής σε a_w=0,95 στους 25 και 45°C, αντίστοιχα. Πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι εκτός από το T_g, δεν παρατηρήθηκε καμία άλλη κορυφή, όπως το σημείο τήξης του εγκλεισμένου συστατικού (T_m=178°C) που θα έδειχνε την παρουσία μιας μη ενθυλακωμένης ένωσης στα θερμογραφήματα καθώς κατά τη διάρκεια σχηματισμού των νανοσωματιδίων και ενθυλάκωσης της ένωσης, το πολυμερές εμποδίζει την ανακρυστάλλωση του συστατικού (Mello and Ricci-Júnior 2011, Budiman and Aulifa 2021). Τέλος, οι υψηλές τιμές T_g που μετρήθηκαν στο σύνολο των δειγμάτων εγγυώνται τη σταθερότητα του προϊόντος κατά την αποθήκευση ή άλλη περαιτέρω επεξεργασία. Οι Gomez-Estaca et al. μελέτησαν τα χαρακτηριστικά νανοσωματιδίων ζεΐνης με ενθυλακωμένη κουρκουμίνη ύστερα από αποθήκευση τους για τρεις μήνες στους 23°C και σχετική υγρασία 43%, τα οποία διαπίστωσαν ότι δεν παρουσίασαν αξιοσημείωτες αλλαγές στο σχήμα, το μέγεθος, το βάρος και το ποσοστό εγκλεισμού (Gomez-Estaca, Balaguer et al. 2012). Πρέπει να σημειωθεί ότι για τα δείγματα του ηλεκτροστατικού ψεκασμού λόγω των αμελητέων μεταβολών μάζας των δειγμάτων, δεν πραγματοποιήθηκε κατασκευή ισόθερμων ρόφησης.

➤ Ξήρανση με ψεκασμό

Σε ότι αφορά στα προϊόντα ενθυλάκωσης με χρήση της ξήρανσης με ψεκασμό, αυτά σε αντίθεση με τα νανοσωματίδια του ηλεκτροστατικού ψεκασμού επέδειξαν πολύ μεγαλύτερη επίδραση από την υγρασία, παρουσιάζοντας σημαντικές μεταβολές μάζας πριν και μετά την παραμονή τους στους θαλάμους διαφορετικών ενεργοτήτων νερού. Η επίδραση αυτή παρατηρήθηκε και με την απεικόνιση

των δομών στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης όπου εντοπίστηκαν συρρικνωμένες και με αλλαγές στο σχήμα (Εικόνα 16).

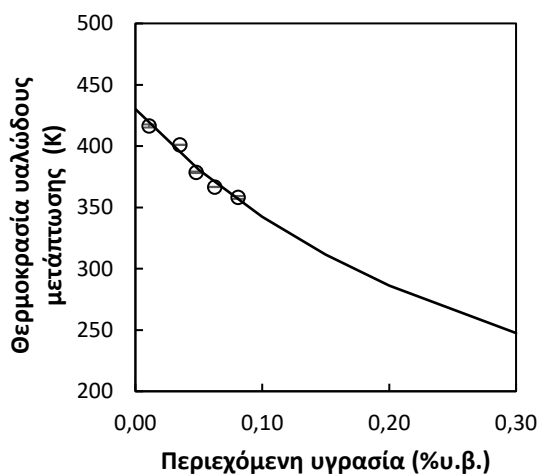


Εικόνα 16 Απεικόνιση SEM της παραμόρφωσης της δομής προϊόντων ενθυλάκωσης δεοξυχολικού οξέος σε μήτρα ζεΐνης από την ξήρανση με ψεκασμό, μετά από παραμονή 1 μήνα σε θαλάμους εξισορρόπησης υγρασίας με a_w : α) 0,53, β) 0,75 και γ) 0,95 στους 45°C.

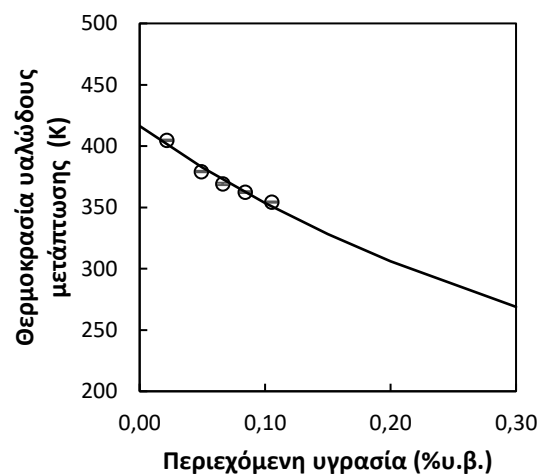
Για το λόγο αυτό μελετήθηκαν η μεταβολή της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης με την περιεχόμενη υγρασία και οι ισόθερμες ρόφησης για τα συγκεκριμένα δείγματα.

➤ Θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης-Εξίσωση Gordon Taylor

Η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης έχει ισχυρή εξάρτηση από την υγρασία και γενικά μειώνεται με αύξηση της περιεχόμενης υγρασίας σε ένα δείγμα (Drake, Lee et al. 2018). Το φαινόμενο αυτό αποδίδεται στην πλαστικοποιητική ικανότητα του νερού να αυξάνει τον ελεύθερο όγκο. Ο ελεύθερος όγκος του νερού είναι σημαντικά μεγαλύτερος από αυτόν των άμορφων στερεών, με αποτέλεσμα την αύξηση της κινητικότητας των πολυμερικών αλυσίδων. Στα ακόλουθα γραφήματα απεικονίζεται η μεταβολή του T_g με την αύξηση της περιεχόμενης υγρασίας στα δείγματα του ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος, μετά από αποθήκευσή τους σε διαφορετικές συνθήκες υγρασίας και θερμοκρασίας.



α)



β)

Σχήμα 12 Επίδραση της περιεχόμενης υγρασίας στη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης των σωματιδίων εγκλεισμένου δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνης μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες, 25 °C (α) και 45 °C (β). Οι συμπαγείς γραμμές απεικονίζουν τα γραφήματα Gordon-Taylor των πειραματικών δεδομένων.

Η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης προσδιορίστηκε από το δεύτερο κύκλο θέρμανσης των δειγμάτων με το εγκλεισμένο δεοξυχολικό οξύ. Αυτό πραγματοποιήθηκε με σκοπό την εξάλειψη της ενθαλπίας χαλάρωσης για τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν σε περιβάλλον ενεργότητας νερού μεγαλύτερο από 0,64. Οι παράμετροι της εξίσωσης Gordon-Taylor (T_{g1} , k), ελήφθησαν με μη γραμμική παλινδρόμηση των πειραματικών τιμών T_g σε διαφορετικές τιμές περιεχόμενης υγρασίας για τα δείγματα στις δύο θερμοκρασίες αποθήκευσης, με πολύ καλή προσαρμογή ($R^2 \geq 0,87$) για όλα τα δείγματα.

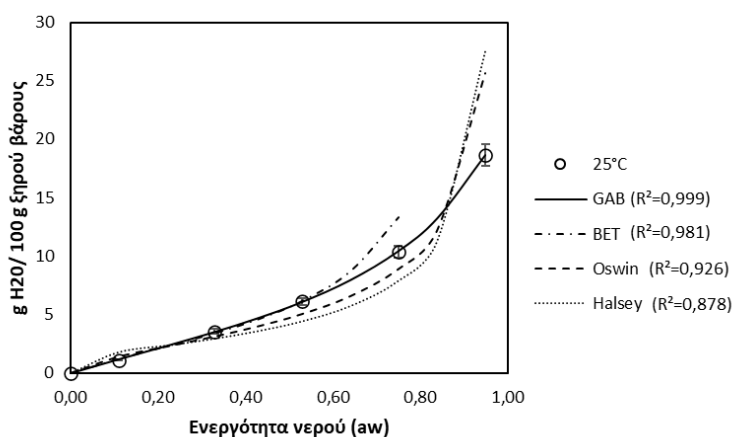
Πίνακας 24 Εκτιμώμενες τιμές των σταθερών της εξίσωσης Gordon-Taylor για τα σωματίδια εγκλεισμού δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνη μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό, σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες (25, 45°C) (καλύτερη προσαρμογή).

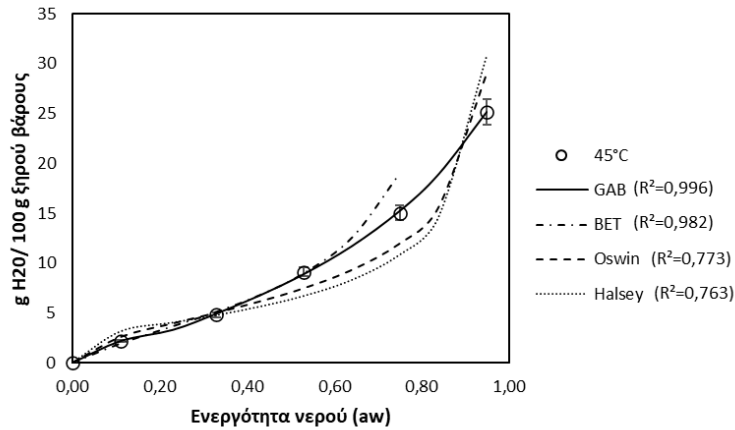
Θερμοκρασία	T_{g1} (K)	k	R^2
25 °C	428,16	3,86	0,87
45 °C	416,35	2,61	0,90

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα η προβαλλόμενη τιμή της T_g (T_{g1}) που υπολογίστηκε για την άνυδρη ζεΐνη ήταν μεγαλύτερη στους 25 °C σε σχέση με τους 45 °C, διαφορά που παρατηρείται με βάση τα διαγράμματα και για τα δείγματα με διαφορετικό περιεχόμενο υγρασίας. Η παράμετρος k ελέγχει τον βαθμό εξάρτησης του T_g από την περιεκτικότητα σε νερό και μπορεί να σχετίζεται με την ισχύ των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των στοιχείων του συστήματος.

➤ Ισόθερμες ρόφησης

Στη συνέχεια απεικονίζεται το γενικό γράφημα της περιεχόμενης υγρασίας ως συνάρτηση της ενεργότητας νερού των εγκλεισμένων δομών δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνη που προέκυψαν από την ξήρανση με ψεκασμό, αλλά και η αντίστοιχη προσαρμογή των κύριων εξισώσεων για την περιγραφή των ισόθερμων ρόφησης.



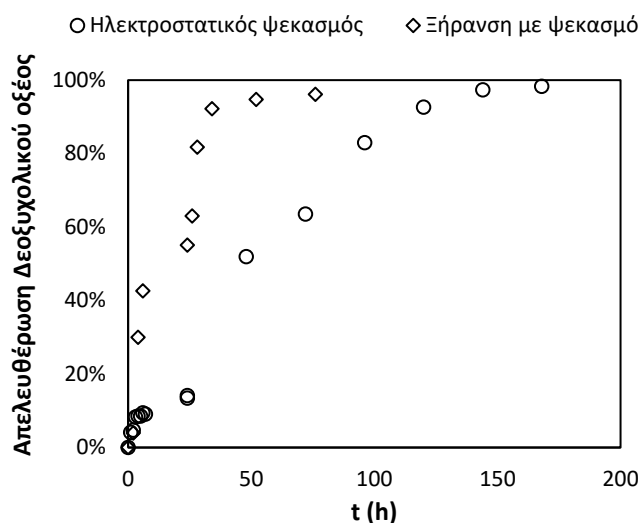


Σχήμα 13 Προσαρμογή των δεδομένων προσρόφησης υγρασίας των δειγμάτων στα κυριότερα μοντέλα ισόθερμων ρόφησης.

Όπως φαίνεται στα παραπάνω γραφήματα, στους θαλάμους με την αυξημένη ενεργότητα νερού παρατηρήθηκε και αυξημένη προσρόφηση νερού από τα δείγματα. Επίσης για κάθε ενεργότητα παρατηρήθηκε ότι η αύξηση της θερμοκρασίας έκανε τα δείγματα πιο επιρρεπή στην αύξηση του περιεχομένου τους σε υγρασία. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην χαλάρωση των δομών και την ευκολότερη έτσι διείσδυση των μορίων νερού στο εσωτερικό τους. Η διάχυση είναι ένα φαινόμενο που ενεργοποιείται θερμικά και επομένως επιδεικνύει μεγάλη ευαισθησία στον παράγοντα θερμοκρασία (Bao and Yee 2002). Παρόλα αυτά, οι διαφορές μεταξύ των δύο θερμοκρασιών δεν ξεπερνούν τα 2-5 g H₂O/100 g ξηρού βάρους. Όσον αφορά στην προσαρμογή των ισόθερμων ρόφησης, καλύτερη προσαρμογή φάνηκε να έχει στα πειραματικά δεδομένα η GAB καθώς εμφάνισε το μεγαλύτερο R². Η τιμή του μονομοριακού στρώματος m_m που υπολογίστηκε μέσω γραμμικής παλινδρόμησης για την GAB βρέθηκε ίση με 4,67 και 3,13 g H₂O/100 g ξηρού βάρους και για την BET 5,16 και 3,65 g H₂O/100 g ξηρού βάρους, για τους 25 και 45 °C, αντίστοιχα. Αν και σύμφωνα με τη βιβλιογραφία τα μοντέλα αυτά δεν μπορούν να εξάγουν μια πραγματική τιμή για την παράμετρο του μονομοριακού στρώματος, η ποσότητα νερού που αντιστοιχεί σε αυτή την «φαινόμενη» τιμή είναι ιδιαίτερης σημασίας καθώς υποδεικνύει την ποσότητα του νερού που είναι ισχυρά προσροφημένο σε ειδικές θέσεις. Η τιμή της υγρασίας του μονομοριακού στρώματος είναι πολύ σημαντική για την αξιολόγηση της σταθερότητας αποθήκευσης ενός υλικού.

3.5.2.7 Μελέτη απελευθέρωσης του δεοξυχολικού οξέος από τη ζεΐνη σε περιβάλλον διαλυτών

Τα παραγόμενα μικρο- και νάνο- σωματίδια μελετήθηκαν σχετικά με την απελευθέρωση του ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος κατά την διασπορά τους σε διάλυμα φωσφορικών αλάτων με pH=5,5 και τα αποτελέσματα παρατίθενται στο ακόλουθο γράφημα.



Σχήμα 14 Ρυθμός απελευθέρωσης των προϊόντων ενθυλάκωσης του δεοξυχολικού οξέος από μήτρα ζεΐνη λόγω διασποράς των σωματιδίων σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων με pH=5,5, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Η απελευθέρωση του δεοξυχολικού οξέος ήταν ταχύτερη στα μικροσωματίδια της ξήρανσης με ψεκάσμο σε σχέση με τα νανοσωματίδια καθώς στα δεύτερα απαιτήθηκε διπλάσιος χρόνος απελευθέρωσης της συνολικής ποσότητας του βιοδραστικού. Ωστόσο κατά την απελευθέρωση του πρώτου 10% του βιοδραστικού σε βάθος 5-7 ωρών, οι δύο δομές έδωσαν παρόμοιες τιμές. Ωστόσο, στη συνέχεια τα σωματίδια της ξήρανσης με ψεκάσμο επέδειξαν μεγαλύτερη αστάθεια στο σύστημα διασποράς και επήλθε γρήγορη απελευθέρωση του δεοξυχολικού οξέος. Το αποτέλεσμα αυτό υποδεικνύει την πιο ομοιόμορφη κατανομή του συστατικού στα νανοσωματίδια σε σχέση με τις μικροδομές αλλά και την μεγαλύτερη σταθερότητα της διαμόρφωσης της μήτρας μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκάσμου σε σχέση με την ξήρανση με ψεκάσμο. Σε αυτό συνέβαλε επίσης και η κατεργασία της ζεΐνης με σκοπό την διάλυσή της στο νερό, πριν την ξήρανση με ψεκάσμο, που όπως φαίνεται επηρέασε την αντοχή της στην προσρόφηση νερού, όπως φάνηκε και από την μελέτη που προηγήθηκε για την υαλώδη μετάπτωση και τις ισόθερμες ρόφησης.

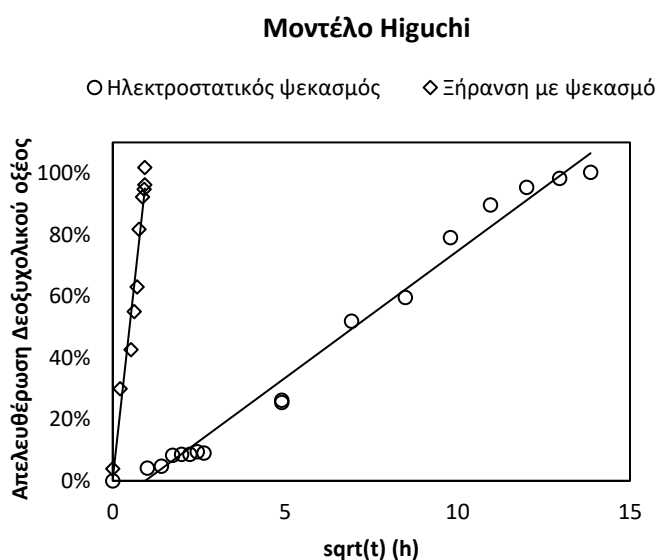
Για την κινητική της απελευθέρωσης εφαρμόστηκαν αρκετά μοντέλα (βλ. υποενότητα 3.4.5), η προσαρμογή των οποίων απεικονίζεται στον ακόλουθο πίνακα:

Πίνακας 25 Προσαρμογή των δεδομένων απελευθέρωσης του δεοξυχολικού οξέος σε κινητικά μοντέλα.

Μοντέλο απελευθέρωσης	Ηλεκτροστατικός ψεκάσμος		Ξήρανση με ψεκάσμο	
	r ²	κλίση	r ²	κλίση
Μηδενικής τάξης	0,737	0,00780	0,705	0,00970
Πρώτης τάξης	0,744	-0,00780	0,394	0,0127
Korsmeyer-Peppas	0,798	0,492	0,801	1,16
Higuchi	0,985	0,0831	0,953	1,01

Hixson-Crowell	0,947	-0,00520	0,921	-0,0152
-----------------------	-------	----------	-------	---------

Η κλίση της ευθείας προσαρμογής των δεδομένων του δεοξυχολικού οξέος στο ημι-εμπειρικό μοντέλο Korsmeyer-Perppas για το πρώτο 60% της απελευθέρωσης, αντιστοιχεί στον εκθέτη διάχυσης n ο οποίος δίνει πληροφορίες για τον μηχανισμό απελευθέρωσης του βιοδραστικού συστατικού. Στην περίπτωση των νανοσωματιδίων του ηλεκτροστατικού ψεκασμού ο εκθέτης υπολογίστηκε 0,492 ($<0,5$) δηλώνοντας ότι ο μηχανισμός μεταφοράς ήταν η διάχυση κατά Fick για την απελευθέρωση του συστατικού. Όσον αφορά στα μικροσωματίδια της ξήρανσης με ψεκασμό, ο εκθέτης βρέθηκε ίσος με 1,16, υποδεικνύοντας ανώμαλη μεταφορά της ουσίας (super case II) όπου πραγματοποιείται χαλάρωση και διάβρωση της δομής της μήτρας, οδηγώντας σε ταχεία απελευθέρωση. Εκτός, ωστόσο από τον συντελεστή διάχυσης και η παράμετρος K_{kp} του συγκεκριμένου μοντέλου δίνει πολύ σημαντικές πληροφορίες. Ειδικότερο όσο υψηλότερη είναι η σταθερό αυτή τόσο ταχύτερη είναι η απελευθέρωση. Αντίθετα, η χαμηλότερη τιμή του K υποδεικνύει χαμηλή κινητική μεταφοράς και επομένως μικρότερη απελευθέρωση ουσιών (Wu, Bala et al. 2019). Για τις δύο περιπτώσεις ενθυλάκωσης του δεοξυχολικού οξέος οι τιμές της σταθεράς αυτής προέκυψαν 2,21 για τον ηλεκτροστατικό ψεκασμό και 4,22 για την ξήρανση με ψεκασμό δείχνοντας την ταχύτερη απελευθέρωση που παρουσίασε η συμβατική μέθοδος σε σχέση με την καινοτόμα. Τέλος, μεταξύ των μοντέλων που εφαρμόστηκαν, την καλύτερη προσαρμογή στα πειραματικά δεδομένα είχε το μοντέλο Higuchi και για τις δύο μεθόδους ενθυλάκωσης.



Σχήμα 15 Προσαρμογή του ρυθμού απελευθέρωσης του δεοξυχολικού οξέος στο μοντέλο Higuchi.

Στη βιβλιογραφία αναφέρεται, ότι η ζεΐνη αποτελεί καταλληλότερη μήτρα για τη μεταφορά και ελεγχόμενη αποδέσμευση υδρόφοβων μορίων συγκριτικά με τα υδρόφιλα, λόγω της καλύτερης συγγένειας δέσμευσης και των μεγαλύτερων αλληλεπιδράσεων (υδρόφοβοι, ηλεκτροστατικοί,

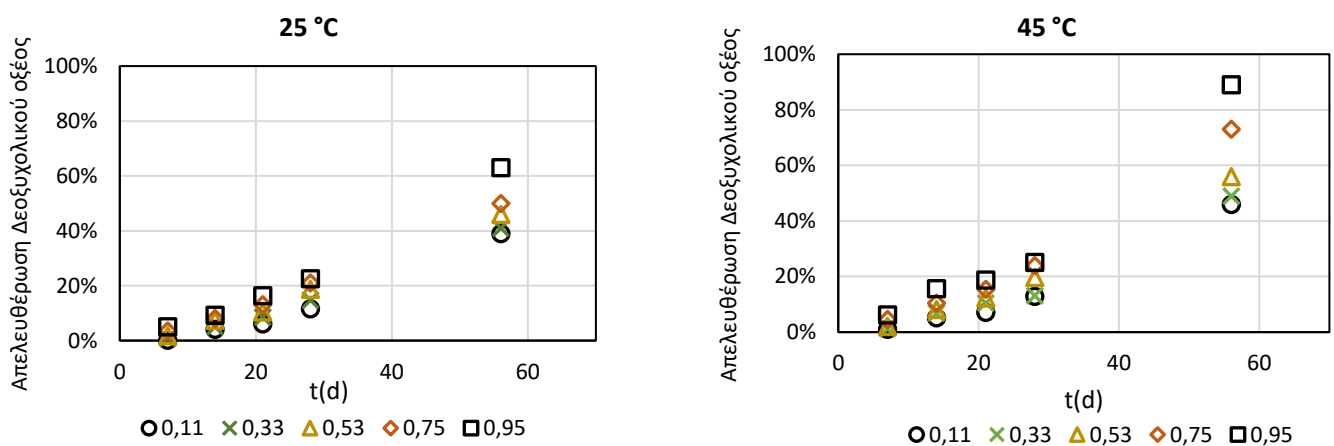
δεσμοί υδρογόνου) της ουσίας με την πρωτεΐνη (Karthikeyan, Vijayalakshmi et al. 2014, Tran, Duan et al. 2019). Η καταλληλότητα της μήτρας αυτής επιβεβαιώνεται στην προκειμένη περίπτωση για την ενθυλάκωση του υδρόφοβου δεοξυχολικού οξέος.

3.5.2.8 Μελέτη απελευθέρωσης του δεοξυχολικού οξέος κατά την αποθήκευση σε θαλάμους διαφορετικών ενεργοτήτων νερού

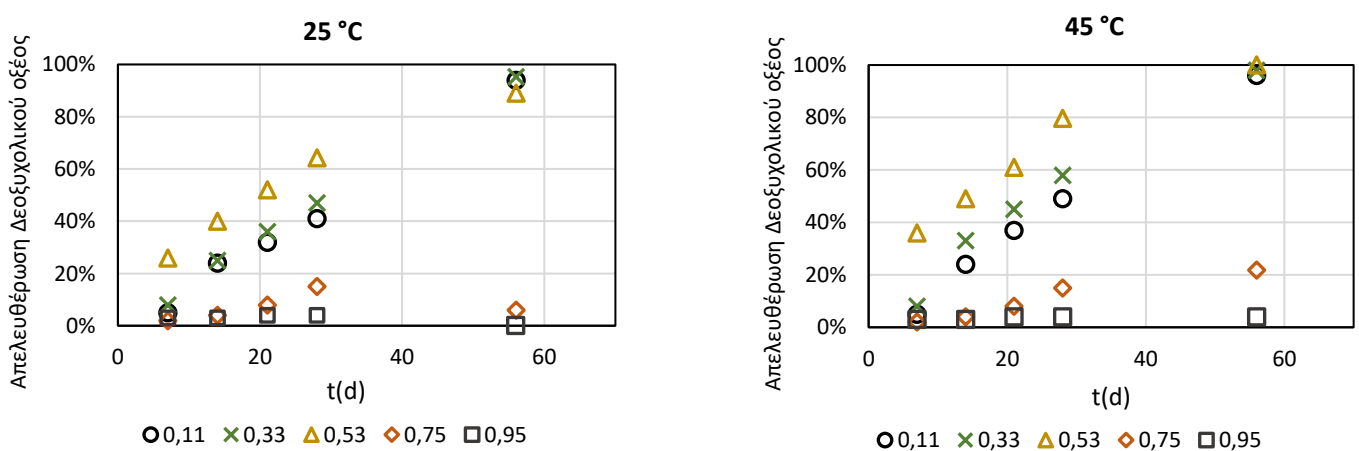
Τα προϊόντα ενθυλάκωσης του δεοξυχολικού οξέος τοποθετήθηκαν σε θαλάμους εξισορρόπησης υγρασίας ($a_w=0,11, 0,33, 0,53, 0,75$ και $0,95$) στους 25 και 45 °C για συνολικό διάστημα δύο μηνών. Λαμβάνονταν δείγματα μία φορά την εβδομάδα (κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα) και στο τέλος των δύο μηνών για να μετρηθεί το απελευθερωμένο βιοδραστικό συστατικό.

Στα ακόλουθα διαγράμματα απεικονίζεται η απελευθέρωση του δεοξυχολικού οξέος από τα νανοσωματίδια και μικροσωματίδια ζεΐνης κατά την παραμονή στους θαλάμους των διαφορετικών ενεργοτήτων.

Ηλεκτροστατικός ψεκασμός



Ξήρανση με ψεκασμό



Σχήμα 16 Διαγραμματική απεικόνιση της απελευθέρωσης του δεοξυχολικού οξέος από τις δομές του ηλεκτροστατικού ψεκασμού και της ξήρανσης με ψεκασμό λόγω παραμονής σε θαλάμους εξισορρόπησης υγρασίας με ενεργότητες $a_w=0,11, 0,33, 0,53, 0,75$ και $0,95$ και θερμοκρασία παραμονής 25 και 45 °C.

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων έδειξαν ταχύτερη απελευθέρωση του δεοξυχολικού οξέος από το προϊόν ενθυλάκωσης της ξήρανσης με ψεκασμό, σε σχέση με τα νανοσωματίδια του ηλεκτροστατικού ψεκασμού. Ενδεικτικά για τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν σε περιβάλλον με $a_w=0,53$, η απελευθέρωση μετά από ένα μήνα παραμονής έφτασε το 64 και 80% για τα μικροσωματίδια στους 25 και 45 °C, ενώ οι αντίστοιχες τιμές για τα νανοσωματίδια ήταν μόλις 19 και 20%. Επιπλέον η αύξηση της υγρασίας και της θερμοκρασίας φαίνεται ότι ενίσχυσαν τον ρυθμό απελευθέρωσης της ουσίας για όλα τα δείγματα στο εύρος ενεργοτήτων 0,11-0,53. Ωστόσο για τις ενεργότητες 0,75 και 0,95 παρατηρήθηκε σημαντική διαφοροποίηση καθώς ενώ στην περίπτωση των νανοσωματιδίων η απελευθέρωση βρέθηκε, όπως ήταν αναμενόμενο, αυξημένη σε αυτές τις συνθήκες δεν ήταν δυνατή η ανίχνευση απελευθερωμένου συστατικού στα μικροσωματίδια με την πάροδο του χρόνου. Πρέπει να αναφερθεί ότι τα δείγματα αυτά που παρέμειναν στους θαλάμους με την υψηλότερη σχετική υγρασία (75-95%) και εμφάνισαν τη μεγαλύτερη αύξηση μάζας, παρουσίασαν επίσης αλλαγή στο χρώμα, αυξημένη σκληρότητα και μείωση του όγκου του δείγματος. Το γεγονός αυτό αναφέρεται στη βιβλιογραφία ως συρρίκνωση και κατάρρευση της δομής για τα άμορφα πολυμερή κατά την παραμονή σε υψηλές υγρασίες. Η κατάσταση αυτή στην οποία επέρχονται τα δείγματα λόγω αυξημένης προσρόφησης υγρασίας οδηγεί συχνά σε κλείσιμο των πόρων και επομένως εγκλωβισμό του ενθυλακωμένου συστατικού, με αποτέλεσμα να εμποδίζεται η διάχυση και απελευθέρωσή του από τη μήτρα (Serris and Biliaderis 2001).

3.5.3 Ανάπτυξη καινοτόμων νανοϊνών εκχυλίσματος φύλλων τομάτας μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης και μικροδομών μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό- Συγκριτική ανάλυση

3.5.3.1 Πειραματικός σχεδιασμός για την αριστοποίηση της ενθυλάκωσης μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης

Το εκχύλισμα φύλλων τομάτας ενθυλακώθηκε μέσω της ομοαξονικής ηλεκτροστατικής ινοποίησης. Η απόδοση εγκλεισμού για το σύνολο των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν κυμάνθηκε μεταξύ του $73,45 \pm 0,07\%$ και του $92,50 \pm 0,63\%$. Η μέγιστη απόδοση εγκλεισμού υπολογίστηκε για τις εξής πειραματικές συνθήκες: ροή= 800 $\mu\text{L/h}$, συγκέντρωση εκχυλίσματος τομάτας= 2,5% w/v, εφαρμοζόμενη τάση=27kV και απόσταση 12 cm. Τα αποτελέσματα δηλώνουν τον επιτυχή εγκλεισμό του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας στη ζεΐνη μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης.

Στον ακόλουθο πίνακα παρατίθενται τα αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης της επιφάνειας απόκρισης για την απόδοση εγκλεισμού του σε ζεΐνη. Η δεύτερη στήλη του πίνακα αφορά στις τιμές των συντελεστών που προέκυψαν από την πρωταρχική στατιστική επεξεργασία των δεδομένων της απόδοσης εγκλεισμού ενώ η τρίτη στήλη αφορά στις τιμές που προέκυψαν αφού αγνοήθηκαν οι

παράμετροι που έδειξαν μη στατιστικά σημαντική επίδραση στην απόδοση ενθυλάκωσης και επαναλήφθηκε η μη γραμμική παλινδρόμηση για το μοντέλο.

Πίνακας 26 Ανάλυση διακύμανσης της επιφάνειας απόκρισης της απόδοσης εγκλεισμού του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας μέσω της ηλεκτροστατικής ισοποίησης.

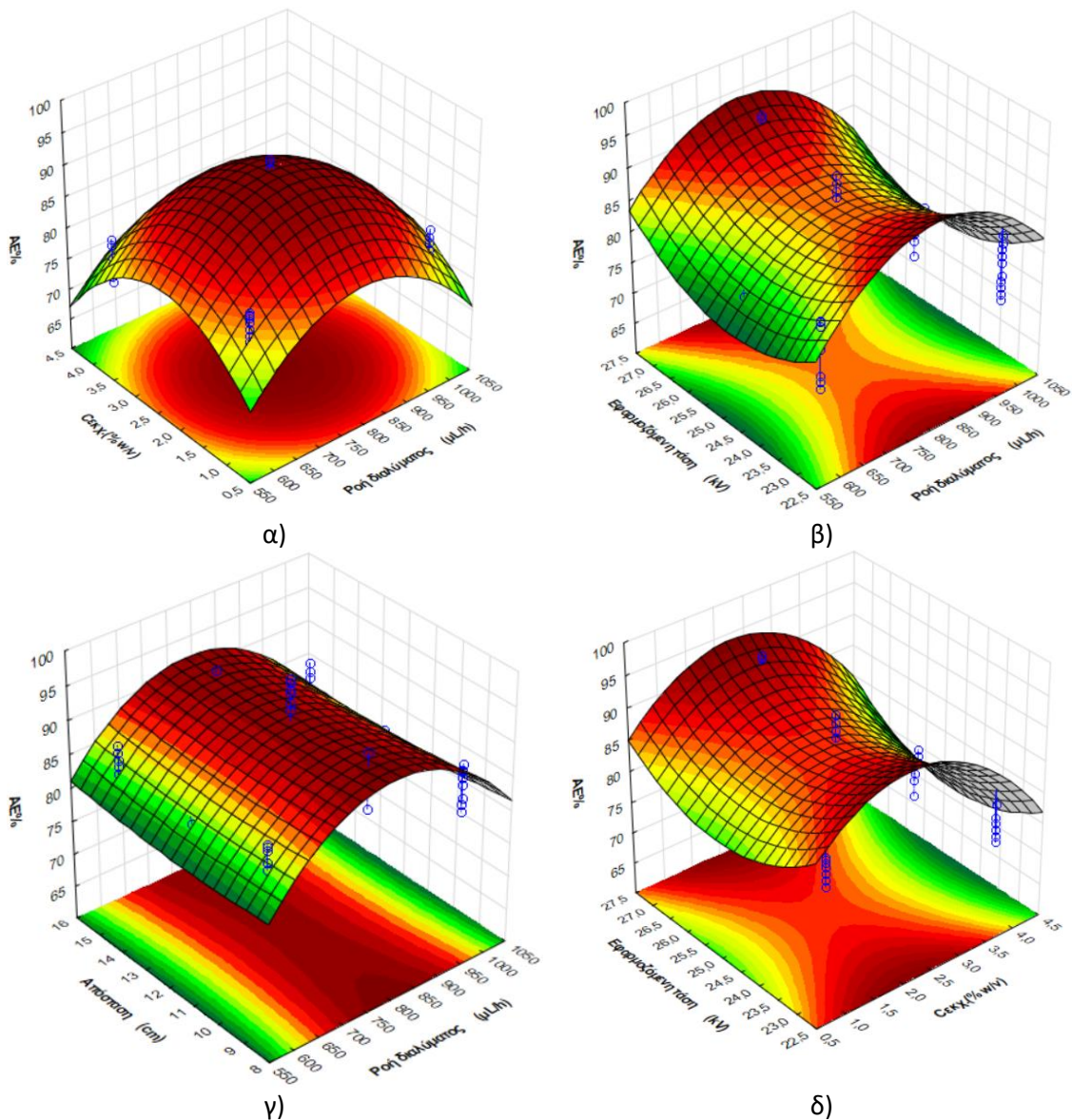
Απόκριση	Συντελεστές πολυωνύμου	Συντελεστές τροπ. Πολυωνύμου	Τυπικό σφάλμα	Άθροισμα τετραγώνων (SS)	Βαθμοί ελευθερίας (DF)	Μέσο τετραγώνων (MS)	Τιμή F	Τιμή p
Μοντέλο	629,692	72,540	0,532	1979,470	14	141,391	30,254	0,000019
V₁-Ροή διαλύματος (mL/h)	0,346	-	0,294	0,106	1	0,106	0,023	0,880579
V₁²	-0,0002	-0,00003	0,780	419,065	1	419,065	89,670	0,000000
V₂-Συγκέντρωση εκχυλίσματος (% w/v)	8,2532	14,47496	0,294	371,412	1	371,412	79,473	0,000000
V₂²	-2,8380	-3,2447	0,884	229,730	1	229,730	49,157	0,000000
V₃-Εφαρμοζόμενη τάση (kV)	-53,7119	-	0,294	12,987	1	12,987	2,779	0,100483
V₃²	1,079	-0,022	0,010	143,130	1	143,130	30,627	0,000001
V₄-Απόσταση ακροφυσίου/συλλέκτη (cm)	-2,6367	-	0,294	1,559	1	1,559	0,334	0,565615
V₄²	0,054	-	0,780	1,829	1	1,829	0,391	0,533878
V₁V₂	-0,0008	-	0,310	3,785	1	3,785	0,810	0,371588
V₁V₃	-0,002	0,00167	0,312	21,897	1	21,897	4,685	0,034216
V₁V₄	-0,0005	-	0,312	4,600	1	4,600	0,984	0,324915
V₂V₃	0,2039	-	0,310	13,953	1	13,953	2,986	0,088908
V₂V₄	-0,0194	-	0,310	0,246	1	0,246	0,053	0,819412
V₃V₄	0,0697	-	0,312	8,383	1	8,383	1,794	0,185269
Σφάλμα				291,424	63	4,673		
Σύνολο				2270,894	77			

Το μοντέλο για την απόδοση εγκλεισμού βρέθηκε στατιστικά σημαντικό ($p < 0,001$) ενώ η τιμή F του μοντέλου βρέθηκε ίση με 30,254. Οι μεταβλητές με τη μεγαλύτερη επίδραση στην απόδοση εγκλεισμού του εκχυλίσματος ήταν ο γραμμικός όρος της συγκέντρωσης του βιοδραστικού (V_2) και οι τετραγωνικοί όροι της ροής και της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος (V_1^2 και V_2^2) ($p < 0,05$). Αντίθετα, η ροή του διαλύματος (V_1) δεν συνέβαλε στην απόδοση εγκλεισμού στο εύρος των τιμών που μελετήθηκαν. Με βάση τις τιμές των συντελεστών που υπολογίστηκαν από τη στατιστική επεξεργασία, η συσχέτιση της απόδοσης εγκλεισμού με τους διαφορετικούς παράγοντες που μελετήθηκαν, περιγράφηκε με την ακόλουθη πολυωνυμική σχέση:

$$\begin{aligned} \%AE_{\text{ΕΚΧ. ΤΟΜΑΤΑΣ}} &= 72,54 + 14,475V_2 - 0,00003V_1^2 - 3,2447V_2^2 - 0,022V_3^2 \\ &+ 0,00167V_1V_3 \end{aligned}$$

Ενώ ο συντελεστής προσαρμογής R^2 των πειραματικών δεδομένων απόδοσης στο μοντέλο υπολογίστηκε 0,87.

Στη συνέχεια παρατίθενται τα διαγράμματα αποκριτικών επιφανειών με βάση τα αποτελέσματα του πειραματικού σχεδιασμού ως προς την απόδοση εγκλεισμού.



Σχήμα 17 Γραφήματα αποκριτικών επιφανειών για την απόδοση εγκλεισμού του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας (AE%) σε μήτρα ζείνη μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης: α) Ροή διαλύματος έναντι συγκέντρωσης συστατικού, β) Ροή διαλύματος έναντι εφαρμοζόμενης τάσης, γ) Ροή διαλύματος έναντι απόστασης ακροφυσίου-συλλέκτη και δ) Συγκέντρωση συστατικού έναντι εφαρμοζόμενης τάσης.

Με βάση τη συνδυαστική επίδραση των παραγόντων της διεργασίας όπως φαίνονται στα γραφήματα των αποκριτικών επιφανειών παρατηρήθηκε ότι μία αύξηση της ροής οδηγεί αρχικά σε αύξηση και στη συνέχεια σε μείωση της απόδοσης εγκλεισμού, ακολουθώντας αντίστοιχη πορεία με τη συγκέντρωση του εκχυλίσματος με το συνδυασμό των κεντρικών τιμών τους να δίνει και τη μεγαλύτερη απόδοση εγκλεισμού. Η περαιτέρω αύξηση, από την κεντρική τιμή τόσο της ροής όσο και της συγκέντρωσης οδηγεί σε μείωση της απόδοσης εγκλεισμού (Σχήμα 17α). Αντίθετα, με αύξηση της εφαρμοζόμενης τάσης, παρατηρήθηκε αρχικά μείωση και στη συνέχεια αύξηση της απόδοσης εγκλεισμού για δεδομένη συγκέντρωση συστατικού (Σχήμα 17β). Η υψηλότερη τιμή παρατηρήθηκε για την μεγαλύτερη εφαρμοζόμενη τάση και για μία μέση τιμή συστατικού. Τέλος η οι μεταβολές

στην απόσταση φάνηκε να μην επηρεάζουν ιδιαίτερα την απόδοση ενθυλάκωσης για δεδομένη συγκέντρωση του εκχυλίσματος.

3.5.3.2 Πειραματικός σχεδιασμός για την αριστοποίηση της ενθυλάκωσης μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό

Αντίστοιχα για την ξήρανση με ψεκασμό, πραγματοποιήθηκε η ίδια μελέτη για την επίδραση της απόδοσης ενθυλάκωσης από τις διαφορετικές παραμέτρους της διεργασίας και του διαλύματος τροφοδοσίας. Οι αποδόσεις εγκλεισμού που μετρήθηκαν από τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν κυμάνθηκαν μεταξύ $62,33 \pm 0,26\%$ και $79 \pm 0,04\%$. Η μέγιστη απόδοση εγκλεισμού υπολογίστηκε για τις πειραματικές συνθήκες: ροή= 800 mL/h, συγκέντρωση εκχυλίσματος= 2,5% w/v και θερμοκρασία εισόδου= 170 °C.

Οι τιμές αυτές ήταν συνολικά μικρότερες από τις αποδόσεις εγκλεισμού του εκχυλίσματος μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης, ωστόσο υποδεικνύουν την επιτυχία της διεργασίας.

Πίνακας 27 Ανάλυση διακύμανσης της επιφάνειας απόκρισης της απόδοσης εγκλεισμού του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό.

Απόκριση	Συντελεστές πολυωνύμου	Συντελεστές τροπ. Πολυωνύμου	Τυπικό σφάλμα	Άθροισμα τετραγώνων (SS)	Βαθμοί ελευθερίας (DF)	Μέσο τετραγώνων (MS)	Τιμή F	Τιμή p
Μοντέλο	-16,624	-124,655	0,434	582,755	9	64,751	23,760	0,000019
V₁-Ροή διαλύματος (mL/h)	0,344	0,353	0,383	163,049	1	163,049	59,830	0,000000
V₁²	0,000	0,000	0,518	126,319	1	126,319	46,352	0,000000
V₂- Συγκέντρωση συστατικού (% w/v)	3,609	7,116	0,264	177,069	1	177,069	64,975	0,000000
V₂²	-0,670	-0,641	0,549	74,294	1	74,294	27,262	0,000007
V₃- Θερμοκρασία εισόδου (°C)	-0,395	0,765	0,338	19,138	1	19,138	7,023	0,011665
V₃²	0,003	-	0,480	0,816	1	0,816	0,300	0,587392
V₁V₂	-0,004	-0,004	0,353	49,065	1	49,065	18,004	0,000136
V₁V₃	-0,001	-0,001	0,453	42,151	1	42,151	15,467	0,000344
V₂V₃	0,020	-	0,296	4,626	1	4,626	1,697	0,200464
Σφάλμα				103,558	38	2,725		
Σύνολο				686,312	47			

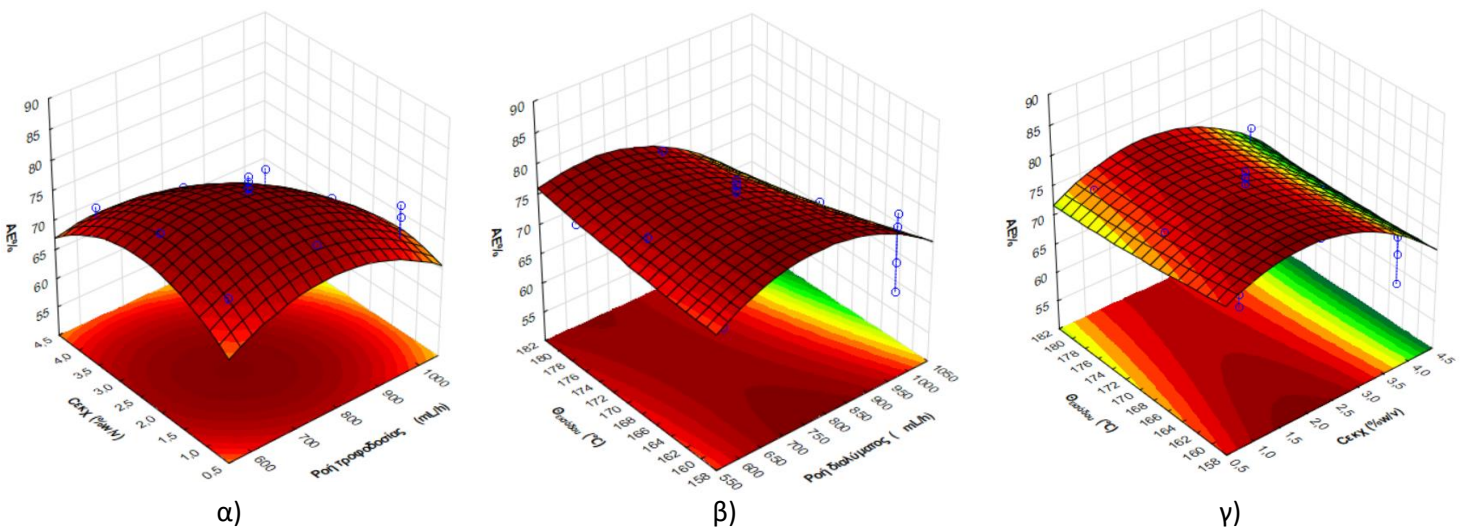
Με βάση την παραπάνω ανάλυση, το μοντέλο για την απόδοση εγκλεισμού αποδείχθηκε στατιστικά σημαντικό ($p < 0,001$) ενώ η τιμή F για το μοντέλο βρέθηκε ίση με 23,760. Η τιμή αυτή είναι αρκετά μεγάλη ώστε να συμπεράνουμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική επίδραση των παραμέτρων στο μοντέλο και τα αποτελέσματα δεν οφείλονται σε πειραματικό σφάλμα. Όσον αφορά στις διαφορετικές παραμέτρους, τη μεγαλύτερη επίδραση στην απόδοση ενθυλάκωσης αποδείχθηκε ότι

είχαν οι γραμμικοί όροι της συγκέντρωσης του συστατικού (V_2) και της ροής του διαλύματος (V_1). Αντίθετα ο τετραγωνικός όρος της θερμοκρασίας εισόδου (V_3^2) βρέθηκε μη σημαντικός, όπως και η συσχέτιση της συγκέντρωσης με τη θερμοκρασία εισόδου (V_2V_3).

Η πολυωνυμική σχέση που ερμηνεύει τη συνδυαστική επίδραση των διαφορετικών παραγόντων είναι η ακόλουθη:

$$\begin{aligned} \%AE_{\text{ΕΚΧ ΤΟΜΑΤΑΣ}} &= -124,655 + 0,353V_1 + 7,116V_2 + 0,765V_3 - 0,641V_2^2 - 0,004V_1V_2 \\ &- 0,001V_1V_3 \end{aligned}$$

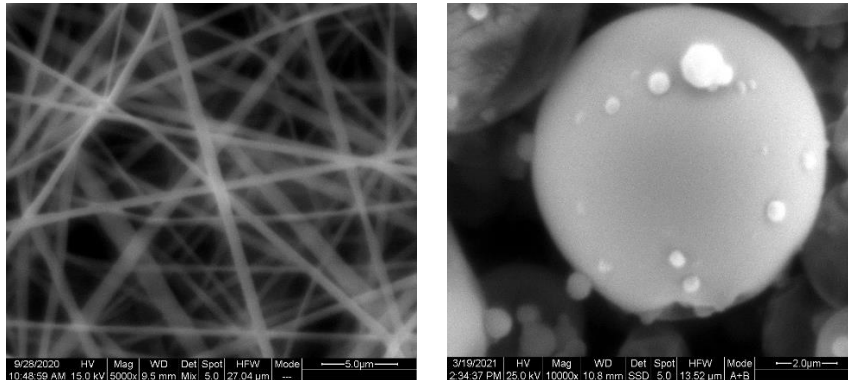
Ενώ ο συντελεστής προσαρμογής R^2 των πειραματικών δεδομένων στο μοντέλο βρέθηκε ίσος με 0,849.



Σχήμα 18 Γραφήματα αποκριτικών επιφανειών για την απόδοση εγκλεισμού του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας (AE%) σε μήτρα ζεϊνη μέσω της ξήρανης με ψεκάσμου: α) Ροή τροφοδοσίας έναντι συγκέντρωσης συστατικού, β) Ροή τροφοδοσίας έναντι θερμοκρασίας εισόδου και γ) Συγκέντρωση συστατικού έναντι θερμοκρασίας εισόδου.

Όπως παρατηρήθηκε από τα γραφήματα αποκριτικών επιφανειών για τις διαφορετικές ροές τροφοδοσίας παρατηρήθηκε αύξηση και στη συνέχεια μείωση της απόδοσης εγκλεισμού με αύξηση της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος, με την παράμετρο της θερμοκρασίας εισόδου σταθερή (Σχήμα 18α). Αντίστοιχα φαίνεται πως μια συνδυαστική αύξηση των δύο παραμέτρων φτάνει σε ένα μέγιστο στις μεσαίες τιμές τους και οδηγείται σε μείωση όταν αυτές ξεπεραστούν. Όσον αφορά στη θερμοκρασία εισόδου (Σχήματα 18β και γ) παρατηρήθηκε ότι για κάθε τιμή ροής τροφοδοσίας για σταθερή συγκέντρωση συστατικού ή αντίστοιχα, συγκέντρωσης για σταθερή ροή, η μεταβολή της θερμοκρασίας εισόδου δεν μεταβάλλει σημαντικά την απόδοση εγκλεισμού.

3.5.3.3 Παρατήρηση της μορφολογίας των παραγόμενων δομών μέσω της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (SEM)

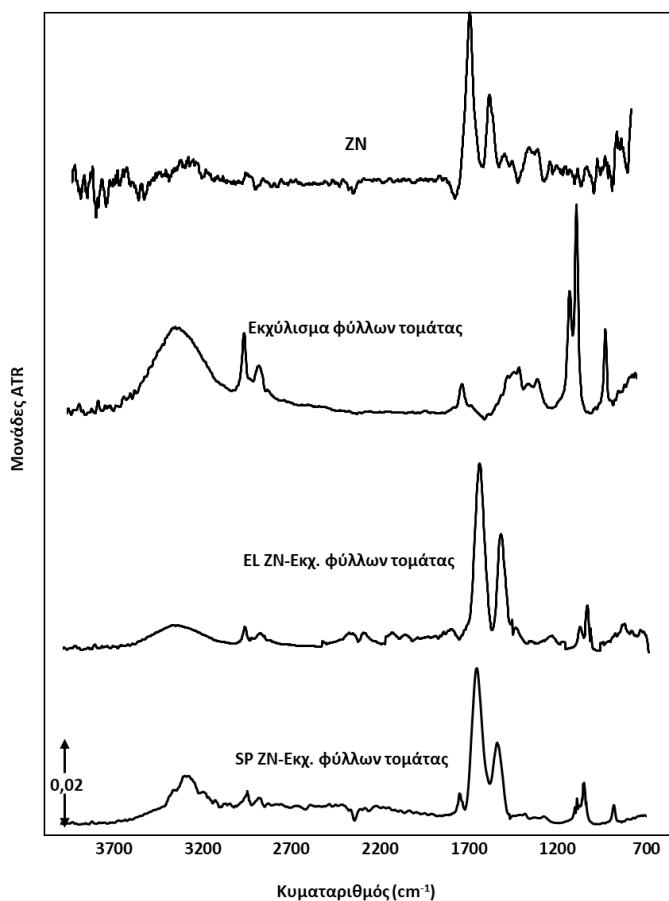


Εικόνα 17 Απεικόνιση SEM των δομών ενθυλάκωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας μέσω α) της ηλεκτροστατικής ινοποίησης και β) της ξήρανσης με ψεκασμό για τις οποίες μετρήθηκε η μέγιστη απόδοση εγκλεισμού.

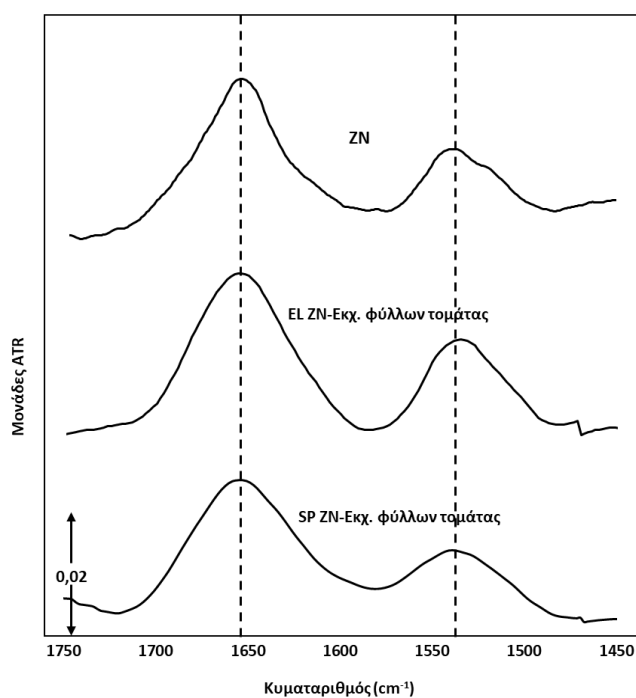
Η διάμετρος προσδιορίστηκε ως μέση τιμή των διαμέτρων των ινών/σωματιδίων που προσδιορίστηκαν με χρήση του λογισμικού imageJ Software και υπολογίστηκε στα $0,32 \pm 0,083 \mu\text{m}$ για τις ίνες και στα $7,67 \pm 1,01 \mu\text{m}$ για τα σωματίδια της ξήρανσης με ψεκασμό. Οι ίνες με το εγκλεισμένο συστατικό παρουσίασαν διαμέτρους μεγαλύτερες από αυτές που είχαν μετρηθεί στα προκαταρκτικά πειράματα με την καθαρή μήτρα, ίδιας συγκέντρωσης. Η διαφοροποίηση αυτή έγκειται στο γεγονός ότι ο βέλτιστος συνδυασμός συνθηκών λειτουργίας για την επίτευξη της μικρότερης δυνατής διαμέτρου των ινών (0,6 mL/h, 27 kV και 15 cm) χρειάστηκε να τροποποιηθεί ώστε να επιτευχθεί η μέγιστη δυνατή απόδοση ενθυλάκωσης (0,8 mL/h, 25 kV, 12 cm). Συνεπώς, η αύξηση της ροής με την ταυτόχρονη μείωση της εφαρμοζόμενης τάσης οδήγησε και σε αύξηση της διαμέτρου των ινών.

3.5.3.4 Εφαρμογή της τεχνικής της Φασματοσκοπίας Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier με Αποσβένουσα Ολική Ανάκλαση (ATR-FTIR)

Η τεχνική ATR-FTIR χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των λειτουργικών ομάδων κάθε υλικού και την εξέταση των αλληλεπιδράσεών τους στις ίνες και τα σωματίδια που προέκυψαν από τις μεθόδους ενθυλάκωσης. Με τη μέθοδο αυτή διαπιστώνεται η ύπαρξη ή μη ενθυλακωμένου συστατικού στο δείγμα.



α)



β)

Σχήμα 19 Φάσματα ATR-FTIR α) για όλα το εύρος κυματαριθμών και β) στην περιοχή απορρόφησης του αμιδίου I και II, για τη ZN χωρίς συστατικό σε σχέση με τα προϊόντα ενθυλάκωσης μέσω της ηλεκτροστατικής ινσοποίησης (EL ZN-Εκχ. Φύλλων τομάτας) και της ξήρανσης με ψεκασμό (SP ZN- Εκχ. Φύλλων τομάτας).

Όσον αφορά στο φάσμα της καθαρής ζεΐνης, όπως προαναφέρθηκε και στην υποενότητα 3.5.2.5, εμφανίζονται δύο χαρακτηριστικές κορυφές στα $1650\text{-}1705$ και 1531 cm^{-1} που συνδέονται με την παρουσία των Αμιδίων I και II αντίστοιχα. Το Αμίδιο I αποτελεί την πιο σημαντική και εντονότερη ζώνη απορρόφησης στον χαρακτηρισμό των πρωτεϊνών, ενώ συνδέεται με τη δόνηση τάσης των δεσμών C = O ($\approx 80\%$) και C-N ($\approx 10\%$) και δίνει πληροφορίες για τη δευτεροταγή δομή της πρωτεΐνης (α-έλικα, β-πτυχωτό φύλλο) (Kong and Yu 2007). Πιο συγκεκριμένα το γεγονός ότι η κορυφή στα $1652\text{-}1705\text{ cm}^{-1}$ είναι συμμετρική δείχνει την υψηλότερη ποσότητα α-ελίκων στην δευτεροταγή δομή (Shaikh, Khatrī et al. 2014). Το Αμίδιο II συνδέεται κυρίως με τη δόνηση κάμψης του δεσμού N-H ($\approx 60\%$) και τάσης των δεσμών C-N ($\approx 30\%$) και C-C ($\approx 10\%$) ενώ δεν συνδέεται ιδιαίτερα με την διαμόρφωση της πρωτεΐνης (Kong and Yu 2007).

Όσον αφορά στο μη εγκλεισμένο εκχύλισμα φύλλων της τομάτας, αυτό εμφάνισε μία ευρεία κορυφή στα 3320 cm^{-1} που συνδέεται με συμμετρική δόνηση τάσης του δεσμού -NH αλειφατικών αμινών. Οι κορυφές μικρότερης έντασης στα 2973 και 2871 cm^{-1} συνδέονται με τις δονήσεις τάσης των δεσμών -CH αλκυλίου και -C=O αλδεΐδης αντίστοιχα. Στα 1669 cm^{-1} η μικρής έντασης κορυφή συνδέεται με

την παρουσία αμιδίων (δόνηση τάσης $-C=O$). Τέλος οι δύο κορυφές μεγαλύτερης έντασης του φάσματος του εκχυλίσματος εντοπίζονται στα 1105 και 1035 cm^{-1} και αποδίδονται στις δονήσεις τάσης δεσμών εστερικής ομάδας ($-C-O-C-$) και αμινομάδας ($-C-N$) αντίστοιχα (Wan Chik 2011). Η ανάλυση αυτή υποδεικνύει το υψηλό περιεχόμενο του εκχυλίσματος σε αμίνες, προσδίδοντάς του εξαιρετικές αντιοξειδωτικές ικανότητες (Kang, Lee et al. 2009).

Όσον αφορά στο φάσμα του προϊόντος ενθυλάκωσης, οι χαρακτηριστικές κορυφές των αμιδίων της ζεΐνης εμφανίζονται με μικρή μετατόπιση προς μικρότερους κυματαριθμούς. Ειδικότερα, για το προϊόν της ηλεκτροστατικής ινοποίησης η κορυφή του αμιδίου I εμφανίζει μικρή διαπλάτυνση που οφείλεται στην παρουσία του ενθυλακωμένου εκχυλίσματος. Η παρουσία του εκχυλίσματος αποδεικνύεται και από την εμφάνιση των χαρακτηριστικών κορυφών του στα $3320-2870\text{ cm}^{-1}$ και $1100-1030\text{ cm}^{-1}$ που εντοπίζονται μόνο στο φάσμα του συστατικού και όχι της μήτρας. Οι κορυφές αυτές φυσικά είχαν μικρότερη ένταση από τις αντίστοιχες για το καθαρό συστατικό λόγω μικρότερης ποσότητάς του στο δείγμα. Όσον αφορά στο προϊόν της ξήρανσης με ψεκασμό, αυτό παρουσίασε παρόμοια χαρακτηριστικά, ωστόσο οι χαρακτηριστικές κορυφές των αμιδίων της μήτρας εμφανίζουν μεγαλύτερη διεύρυνση σε σχέση με το προϊόν της ινοποίησης και κυρίως η κορυφή που συνδέεται με το Αμίδιο I και την διαμόρφωση της α -έλικας. Αυτό οφείλεται, στην τροποποίηση που υπέστη η ζεΐνη ώστε να διαλυτοποιηθεί στο νερό για την πραγματοποίηση του πειράματος αλλά και στην παρουσία του ελαίου που χρησιμοποιήθηκε ως φορέας του εκχυλίσματος. Συγκεκριμένα η εμφάνιση κορυφής στα 1746 cm^{-1} η οποία εμφανίζεται μόνο στο προϊόν ενθυλάκωσης της ξήρανσης με ψεκασμό συνδέεται με τη δόνηση τάσης των ομάδων $C=O$ των τριγλυκεριδίων του ηλιέλαιου (Gómez-Mascaraque, Perez-Masiá et al. 2017). Αντίστοιχα η κατεργασία της πρωτεΐνης σε pH μεγαλύτερο του ισοηλεκτρικού σημείου της οδηγεί σε ευνοϊκότερη διαμόρφωση στη δομή της α -έλικας (Cabra, Arreguin et al. 2006). Οι παρατηρήσεις αυτές αποτυπώνονται και από τους λόγους των απορροφήσεων των αμιδίων I και II που έδωσαν τιμές $1,64$, $1,64$ και $1,72$ για τη ζεΐνη και τα προϊόντα EL ZN-Εκχ. και SP ZN-Εκχ., αντίστοιχα δείχνοντας τη χημική σταθερότητα της μήτρας μετά την ηλεκτροστατική ινοποίηση και τη μικρή διαφοροποίηση μετά την ξήρανση με ψεκασμό.

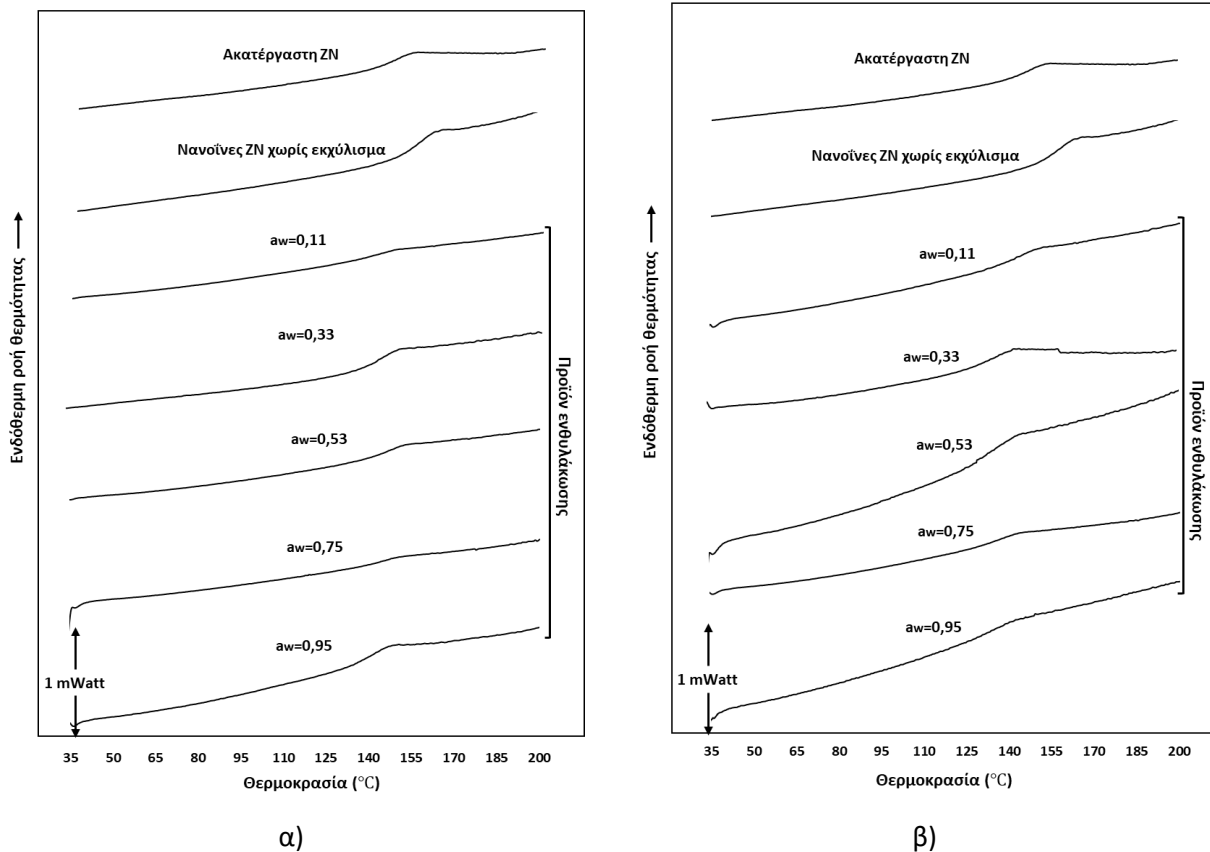
Συνολικά, το γεγονός της μη εμφάνισης νέων κορυφών ή της μη μετατόπισης των ήδη υπάρχουσών σημαίνει ότι δεν πραγματοποιείται χημική αντίδραση αλλά η συγκράτηση της προς εγκλεισμό ουσίας συντελείται μέσω διαμοριακών και μόνο αλληλεπιδράσεων (Peres, Rocha et al. 2011).

3.5.3.5 Προσδιορισμός θερμικών ιδιοτήτων μέσω της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC)

➤ Ηλεκτροστατική ινοποίηση

Όπως και στην περίπτωση των νανοσωματιδίων με το ενθυλακωμένο δεοξυχολικό οξύ, έτσι και για τις νανοΐνες με το ενθυλακωμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας μελετήθηκε η θερμική σταθερότητα με

την καταγραφή του σημείου υαλώδους μετάπτωσης ύστερα από την παραμονή δειγμάτων σε θαλάμους εξισορρόπησης υγρασίας με ενεργότητες νερού a_w από 0,11 έως 0,95 σε δύο θερμοκρασίες (25 και 45°C). Οι θερμοκρασίες υαλώδους μετάπτωσης παρατίθενται στα ακόλουθα σχήματα.



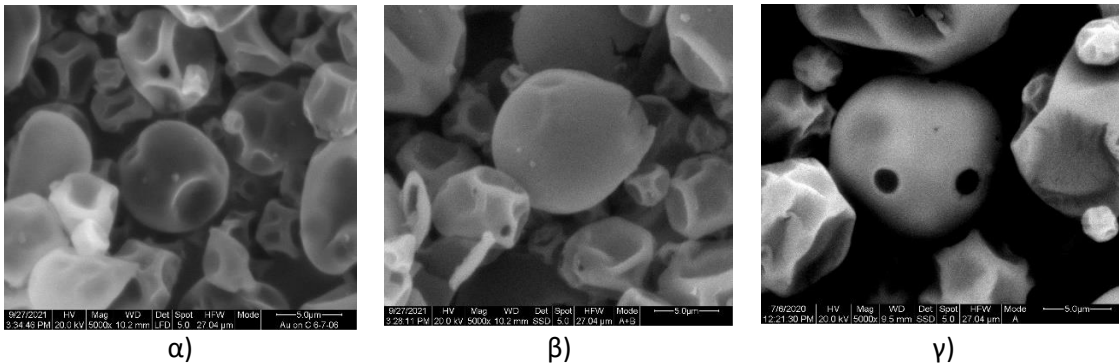
Σχήμα 20 Απεικόνιση του σημείου υαλώδους μετάπτωσης μέσω της μεθόδου DSC για την ακατέργαστη ζείνη και τα νανοσωματίδια με το εγκλεισμένο δεοξυχολικό οξύ πριν και μετά την παραμονή σε θαλάμους εξισορρόπησης υγρασίας α) στους 25 °C και β) στους 45 °C.

Το T_g των νανοϊνών ζείνης χωρίς συστατικό, μετρήθηκε στους 152°C, ελαφρώς μεγαλύτερο από αυτό της ακατέργαστης ζείνης αλλά και των αντίστοιχων νανοσωματιδίων της πρωτεΐνης (βλ. Ενότητα 3.5.2.6). Αυτό οφείλεται στην διαφορετική μορφολογία των δειγμάτων και ειδικότερα, όσο μεγαλύτερος ο βαθμός διασταυρούμενων συνδέσεων-περιπλοκών στις δομές τόσο υψηλότερο αναμένεται να είναι το T_g καθώς μειώνεται ο ελεύθερος όγκος και περιορίζεται η κίνηση των αλυσίδων (βελτιστοποίηση του T_g (T_g enhancement)) (Marom 2023). Όσον αφορά στα γραφήματα του προϊόντος ενθυλάκωσης, παρατηρήθηκε πολύ μικρή μετατόπιση των T_g κατά 2-10 °C για το σύνολο των δειγμάτων. Η μετατόπιση αυτή οφείλεται στην ενθυλάκωση και συνεπώς την παρουσία του εκχυλίσματος στο πλέγμα της μήτρας (García-Cárdenas, Ciro-Velásquez et al. 2015) καθώς όπως και στην περίπτωση των νανοσωματιδίων έτσι και για τις νανοΐνες δεν παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη μεταβολή της μάζας των δειγμάτων λόγω προσρόφησης υγρασίας. Συγκεκριμένα η μεταβολή της μάζας έφτασε κατά μέγιστο μόλις το 1,3 και 2,4% για τα δείγματα παραμονής σε $a_w=0,95$ στους 25 και 45°C, αντίστοιχα. Η εξαιρετική σταθερότητα των νανοϊνών ζείνης έναντι της υγρασίας μελετήθηκε

από τους Tian et al. με σκοπό τη χρήση τους ως φίλτρα αέρα. Εξέθεσαν, λοιπόν, τις ναοΐνες σε ανθρώπινη αναπνοή σχετικής υγρασίας έως και 100% χωρίς να παρατηρηθεί μεταβολή της δομής και λειτουργικότητας τους, χαρακτηρίζοντας το φιλμ αυτό ως εξαιρετικά ανθεκτικό στην υγρασία (Tian, Fu et al. 2018).

➤ Ξήρανση με ψεκάσμο

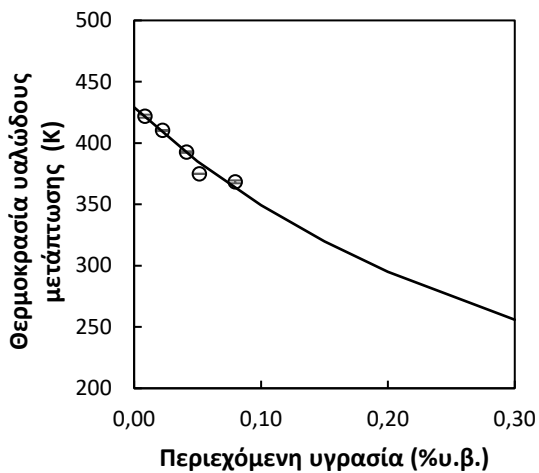
Όσον αφορά στα μικροσωματίδια της ξήρανσης με ψεκάσμο, παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή στη μάζα των δειγμάτων πριν και μετά την αποθήκευση σε θαλάμους διαφορετικών ενεργοτήτων νερού. Λόγω της προσρόφησης υγρασίας παρατηρήθηκε μεταβολή της δομής των δειγμάτων ειδικά σε εκείνα που τοποθετήθηκαν σε $a_w=0,53-0,95$. Η απεικόνιση της μορφολογίας των σωματιδίων μετά την παραμονή στα συγκεκριμένα a_w παρατίθενται στη συνέχεια.



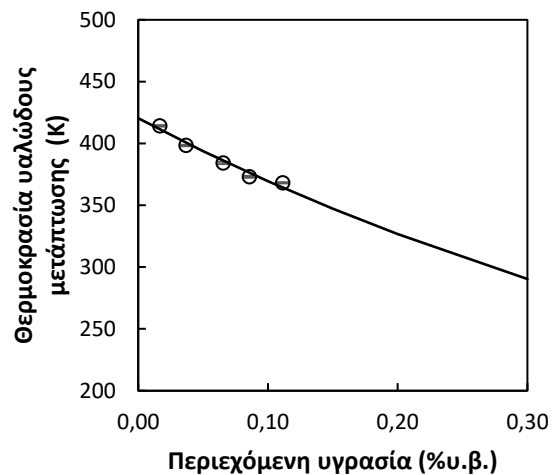
Εικόνα 18 Απεικόνιση SEM της κατάρρευσης της δομής προϊόντων ενθυλάκωσης εκχυλίσματος φύλλων τομάτας σε μήτρα ζεΐνης από την ξήρανση με ψεκάσμο, μετά από παραμονή 1 μήνα σε θαλάμους εξισορρόπησης υγρασίας με a_w : α) 0,53, β) 0,75 και γ) 0,95.

➤ Θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης-Εξίσωση Gordon-Taylor

Τα δείγματα της ξήρανσης με ψεκάσμο επέδειξαν μεταβολή της μάζας τους λόγω προσρόφησης υγρασίας, γεγονός που οδήγησε σε μεταβολή στη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης της ζεΐνης. Στα ακόλουθα διαγράμματα απεικονίζεται η μεταβολή του T_g για δείγματα του ενθυλακωμένου εκχυλίσματος με την περιεχόμενη υγρασία λόγω της αποθήκευσής τους σε θαλάμους διαφορετικών ενεργοτήτων νερού αλλά και η προσαρμογή της εξίσωσης Gordon-Taylor στις τιμές αυτές. Η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης υπολογίστηκε με εφαρμογή της τεχνικής DSC, από τον δεύτερο θερμικό κύκλο.



α)



β)

Σχήμα 21 Επίδραση της περιεχόμενης υγρασίας στη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης των σωματιδίων εγκλεισμένου εκχυλίσματος φύλλων τομάτας σε ζεΐνης μέσω της ξήρασης με ψεκάσμο σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες, 25 °C (α) και 45 °C (β). Οι συμπαγείς γραμμές απεικονίζουν τα γραφήματα Gordon-Taylor των πειραματικών δεδομένων.

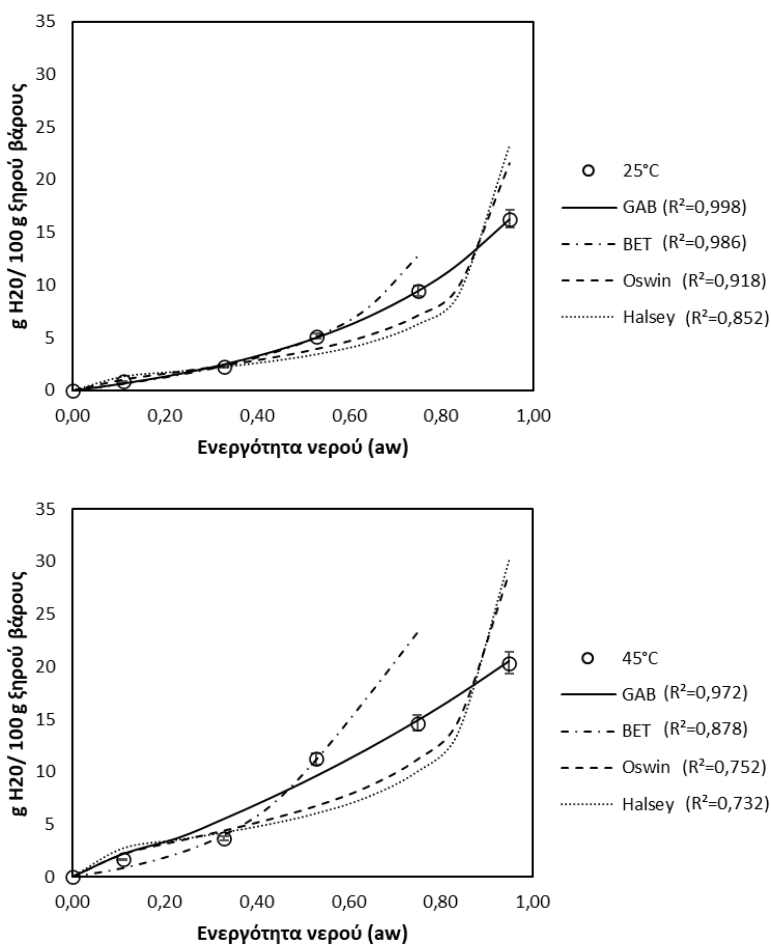
Και στην περίπτωση του εκχυλίσματος, όπως προηγήθηκε και για το δεοξυχολικό οξύ, η Gordon-Taylor εμφάνισε καλή προσαρμογή στα πειραματικά δεδομένα ($R^2 \geq 0,85$).

Πίνακας 28 Εκτιμώμενες τιμές των σταθερών της εξίσωσης Gordon-Taylor για τα σωματίδια εγκλεισμού δεοξυχολικού οξέος σε ζεΐνη μέσω της ξήρασης με ψεκάσμο, σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες (25, 45 °C) (καλύτερη προσαρμογή).

Θερμοκρασία	Tg ₁ (Κ)	k	R ²
25 °C	429,10	3,37	0,85
45 °C	420,41	1,97	0,89

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα η προβαλλόμενη τιμή της Tg (Tg₁) για την άνυδρη ζεΐνη βρέθηκε μεγαλύτερη στους 25 °C σε σχέση με τους 45 °C. Το ίδιο παρατηρήθηκε για όλες τις τιμές για τα διαφορετικά περιεχόμενα σε υγρασία, όπως συνέβη και για το εγκλεισμένο δεοξυχολικό οξύ. Ωστόσο, στην περίπτωση αυτή, τα Tg καταγράφηκαν συνολικά μεγαλύτερα, κάτι το οποίο ήταν αναμενόμενο λόγω των ελαφρώς μικρότερων τιμών υγρασίας των δειγμάτων αυτών σε σχέση με τα δείγματα του εγκλεισμένου δεοξυχολικού οξέος. Οι διαφορές ωστόσο είναι πολύ μικρές δεδομένου ότι και στις δύο περιπτώσεις μήτρα ενθυλάκωσης είναι η ζεΐνη και πιθανότατα έγκειται στο ότι τα μικροσωματίδια του ενθυλακωμένου εκχυλίσματος είχαν μικρότερο μέγεθος από τα αντίστοιχα του δεοξυχολικού οξέος. Τέλος η σταθερά k για το ενθυλακωμένο εκχύλισμα εμφανίστηκε μικρότερη για τα δείγματα του εγκλεισμένου εκχυλίσματος δηλώνοντας την μικρότερη αποτελεσματικότητα του νερού στη μείωση του Tg της άμορφης μήτρας σε αυτή την περίπτωση σε σχέση με το δεοξυχολικό.

Ισόθερμες ρόφησης

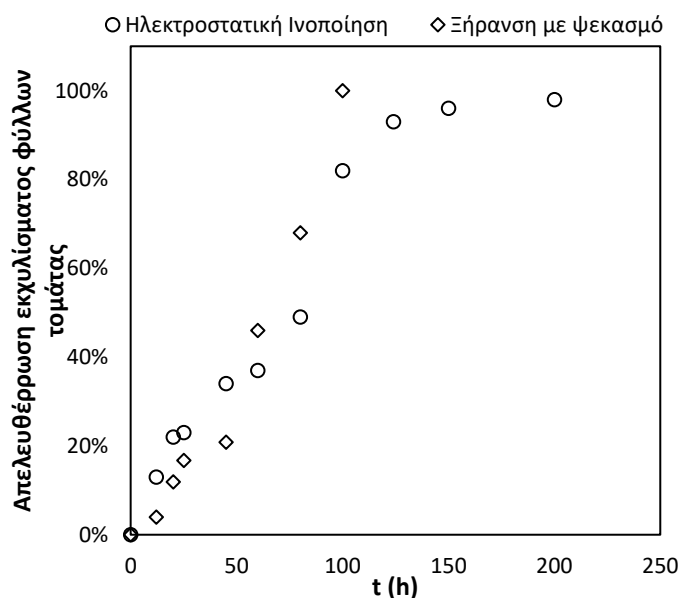


Σχήμα 22 Απεικόνιση περιεχόμενης υγρασίας των δειγμάτων για τα διαφορετικά περιβάλλοντα ενεργότητας νερού (a_w) όπου τοποθετήθηκαν.

Ομοίως με το προϊόν ενθυλάκωσης του δεοξυχολικού οξέος, έτσι και στην περίπτωση του ενθυλακωμένου εκχυλίσματος, την καλύτερη προσαρμογή στα πειραματικά δεδομένα είχε η εξίσωση GAB και για τις δύο θερμοκρασίες της μελέτης με ωστόσο συνολικά μικρότερους συντελεστές προσαρμογής των εξισώσεων στα πειραματικά δεδομένα. Για το μικροσωματίδια του εκχυλίσματος, παρατηρήθηκαν επίσης ελαφρώς μικρότερες τιμές προσρόφησης νερού σε σχέση με αυτές του εγκλεισμένου δεοξυχολικού οξέος, επιδεικνύοντας έτσι μεγαλύτερη σταθερότητα.

3.5.3.6 Κινητική απελευθέρωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας από τη ζεΐνη σε περιβάλλον διαλυτών

Ο ρυθμός απελευθέρωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας από τη ζεΐνη για τα προϊόντα των δύο μελετώμενων μεθόδων ενθυλάκωσης, απεικονίζεται στο ακόλουθο γράφημα.



Σχήμα 23 Ρυθμός απελευθέρωσης των προϊόντων ενθυλάκωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας από μήτρα ζεΐνη λόγω διασποράς τους σε διάλυμα οξικού οξέος 3% (ν/ν) σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Όπως γίνεται αντιληπτό, η απελευθέρωση του εκχυλίσματος ήταν ταχύτερη για τα μικροσωματίδια της ξήρανσης με ψεκάσμο σε σχέση με τις νανοΐνες καθώς όπως υποδεικνύει το Σχήμα 23 ακόμη και σε διπλάσιο χρόνο από τον χρόνο πλήρους απελευθέρωσης του εκχυλίσματος για την ξήρανση με ψεκάσμο, στο δείγμα της ιονοποίησης η απελευθέρωση έφτασε σε ποσοστό 82%.

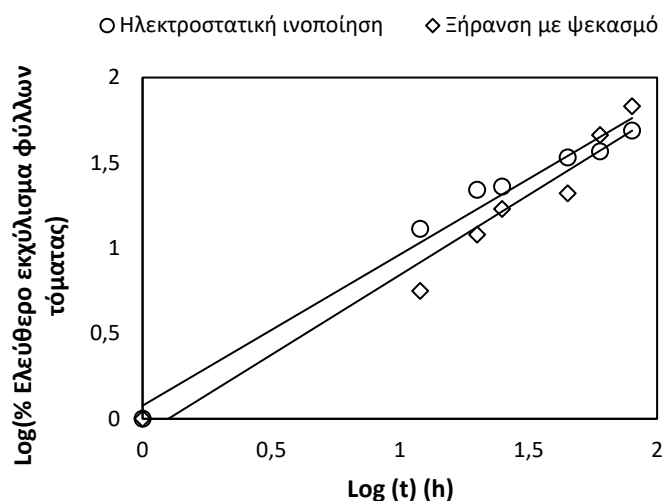
Για την κινητική της απελευθέρωσης εφαρμόστηκαν αρκετά μοντέλα (Ενότητα 3.4.5), η προσαρμογή των οποίων απεικονίζεται στον ακόλουθο πίνακα:

Πίνακας 29 Προσαρμογή των δεδομένων απελευθέρωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας σε κινητικά μοντέλα.

Μοντέλο απελευθέρωσης	Ηλεκτροστατική ιονοποίηση		Ξήρανση με ψεκάσμο	
	R ²	κλίση	R ²	Κλίση
Μηδενικής τάξης	0,909	0,0054	0,951	0,0098
Πρώτης τάξης	0,937	-0,0088	0,685	-0,0179
Korsmeyer-Peppas	0,981	0,872	0,952	1,03
Higuchi	0,916	0,082	0,873	0,114
Hixson-Crowell	0,922	-0,0040	0,782	-0,0148

Η κλίση της ευθείας προσαρμογής των δεδομένων του εκχυλίσματος στο ημι-εμπειρικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas για το πρώτο 60% της απελευθέρωσης, αντιστοιχεί στον εκθέτη διάχυσης n ο οποίος δίνει πληροφορίες για τον μηχανισμό απελευθέρωσης του βιοδραστικού συστατικού (Zhu, Long et al. 2023). Στην περίπτωση των ναοϊνών της ηλεκτροστατικής ινοποίησης ο εκθέτης υπολογίστηκε 0,872 ($<0,89$) δηλώνοντας ότι ακολουθήθηκε ανώμαλη μεταφορά (non-Fickian). Στις περιπτώσεις αυτές μαζί με την διάχυση πραγματοποιούνται και άλλα φαινόμενα μεταφοράς των συστατικών ενώ όσο ο εκθέτης προσεγγίζει την τιμή 0,89 τόσο προσεγγίζει και το μοντέλο απελευθέρωσης την κινητική μηδενικής τάξης. Όσον αφορά στα μικροσωματίδια της ξήρανσης με ψεκασμό, ο εκθέτης βρέθηκε ίσος με 1, υποδεικνύοντας επίσης non-Fickian μεταφορά (Case II) όπου λαμβάνουν χώρα φαινόμενα υποβάθμισης και χαλάρωση-διαλυτοποίηση της δομής της μήτρας, οδηγώντας σε γρηγορότερη απελευθέρωση. Εκτός, ωστόσο από τον συντελεστή διάχυσης και η παράμετρος K_{kp} του μοντέλου δίνει πολύ σημαντικές πληροφορίες. Ειδικότερο όσο υψηλότερη είναι η σταθερά αυτή τόσο ταχύτερη είναι η απελευθέρωση. Αντίθετα, η χαμηλότερη τιμή του K υποδεικνύει χαμηλή κινητική μεταφοράς και επομένως μικρότερη απελευθέρωση ουσιών (Wu, Bala et al. 2019). Για τις δύο περιπτώσεις ενθυλάκωσης του εκχυλίσματος οι τιμές της σταθεράς αυτής προέκυψαν 0,63 για την ηλεκτροστατική ινοποίηση και 1,24 για την ξήρανση με ψεκασμό δείχνοντας την ταχύτερη απελευθέρωση που παρουσίασε η συμβατική μέθοδος σε σχέση με την καινοτόμα. Όσον αφορά στα κινητικά μοντέλα που φάνηκε να περιγράφουν καλύτερα την απελευθέρωση με βάση την προσαρμογή τους στα πειραματικά δεδομένα, αυτά ήταν το Korsmeyer-Peppas που έδωσε τις υψηλότερες τιμές R^2 και στις δύο περιπτώσεις, με το μοντέλο μηδενικής τάξης να έχει σχεδόν αντίστοιχη προσαρμογή για τα αποτελέσματα της ξήρανσης με ψεκασμό. Η προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων απελευθέρωσης στο μοντέλο Korsmeyer-Peppas παρατίθεται στο ακόλουθο διάγραμμα.

Korsmeyer-peppas



Σχήμα 24 Προσαρμογή των δεδομένων απελευθέρωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας στο μοντέλο Korsmeyer-Peppas.

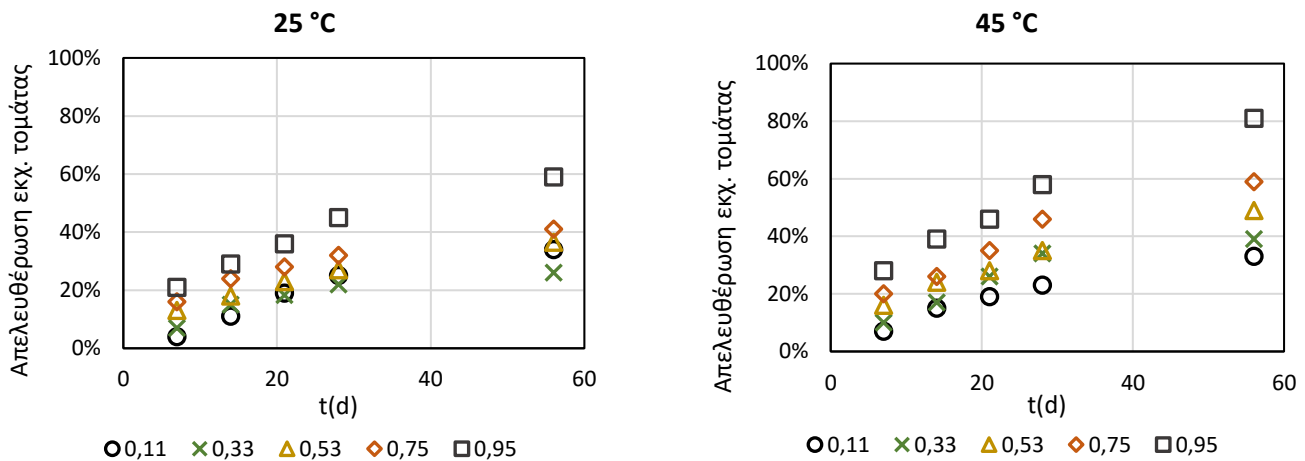
Σύμφωνα με το βιβλιογραφία, οι νανοΐνες ζεΐνης προσφέρουν παρατεταμένη απελευθέρωση βιοδραστικών συστατικών κυρίως μέσω μηχανισμού διάχυσης. Οι Ansari et. al., πραγματοποίησαν ενθυλάκωση της ουσίας Levodopa για το Parkinson σε νανοΐνες ζεΐνης και αξιοποίησαν τα μαθηματικά μοντέλα Higuchi και Korsmeyer-Peppas για την μελέτη του μηχανισμού απελευθέρωσης (Ansari, Ansari et al. 2019). Αντίστοιχα οι Silva et al. μελέτησαν την απελευθέρωση τρυπτοφάνης από νανοΐνες ζεΐνης καταλήγοντας στην καλύτερη προσαρμογή των δεδομένων στο μοντέλο Korsmeyer-Peppas (Silva, Fuzatto et al. 2020).

3.5.3.7 Κινητική απελευθέρωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας από τη ζεΐνη λόγω παραμονής σε περιβάλλον υγρασίας

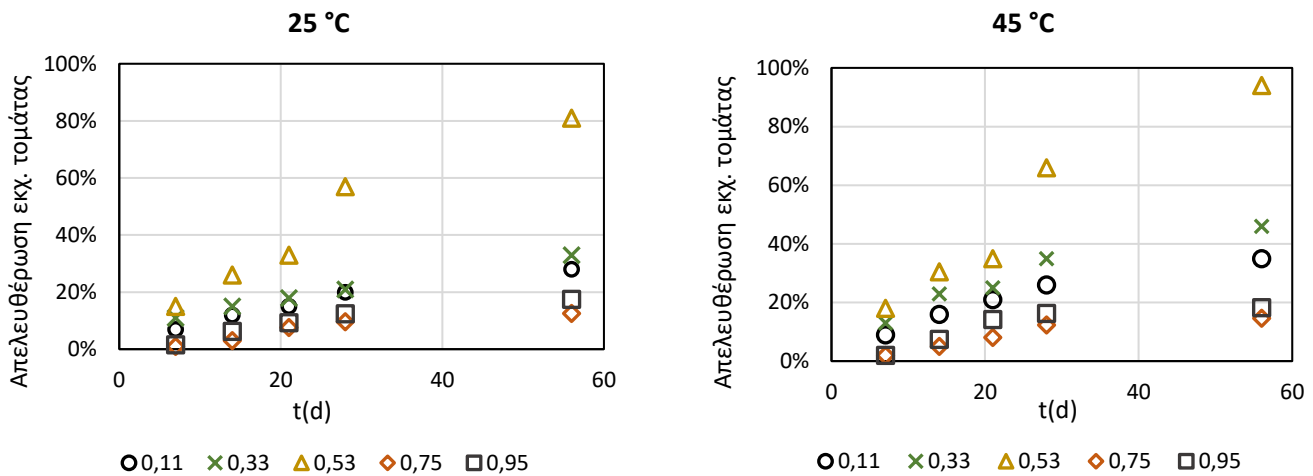
Τα προϊόντα ενθυλάκωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας όπως προαναφέρθηκε και για τη μελέτη της θερμικής σταθερότητας τοποθετήθηκαν σε θαλάμους εξισορρόπησης υγρασίας ($a_w=0,11, 0,33, 0,53, 0,75$ και $0,95$) στους 25 και 45 °C για συνολικό διάστημα δύο μηνών. Λαμβάνονταν δείγματα μία φορά την εβδομάδα (κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα) και στο τέλος των δύο μηνών για να μετρηθεί το απελευθερωμένο βιοδραστικό συστατικό.

Στα ακόλουθα διαγράμματα απεικονίζεται η απελευθέρωση του εκχυλίσματος από τις νανοΐνες και τα μικροσωματίδια ζεΐνης κατά την παραμονή στους θαλάμους των διαφορετικών ενεργοτήτων νερού.

Ηλεκτροστατική ινοποίηση



Ξήρανση με ψεκασμό



Σχήμα 25 Διαγραμματική απεικόνιση της απελευθέρωσης του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας από τις δομές της ηλεκτροστατικής ινοποίησης και της ξήρανσης με ψεκασμό λόγω παραμονής σε θαλάμους εξισορρόπησης υγρασίας με ενεργότητες $\alpha_w=0,11, 0,33, 0,53, 0,75$ και $0,95$ και θερμοκρασία παραμονής 25 και 45 °C.

Από τα αποτελέσματα της ανάλυσης προέκυψε ότι το εκχύλισμα φύλλων τομάτας απελευθερώθηκε με βραδύτερο ρυθμό από την πολυμερική μήτρα για το προϊόν της ηλεκτροστατικής ινοποίησης σε σχέση με αυτό της ξήρανσης με ψεκασμό. Επιπλέον παρατηρήθηκε ότι η αύξηση της θερμοκρασίας αποθήκευσης οδήγησε σε ταχύτερη αποδέσμευση του βιοδραστικού συστατικού και για τις δύο περιπτώσεις ενθυλάκωσης. Τέλος, αντίστοιχα με το δεοξυχολικό οξύ, στις δομές του εγκλεισμένου εκχυλίσματος μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό διαπιστώθηκε εγκλωβισμός συστατικού στις υψηλές ενεργότητες (0,75-0,95) οδηγώντας σε πολύ μικρές τιμές απελευθέρωσης. Η κατάρρευση αυτή της δομής συνδέεται με την εξαφάνιση των μικροπόρων από τους οποίους θα διερχόταν το οξυγόνο και διαμέσου των οποίων θα πραγματοποιούταν η διάχυση του εκχυλίσματος.

3.6 Συμπεράσματα

Στο παρόν κεφάλαιο διερευνήθηκε η ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία ως μέθοδος ενθυλάκωσης, δοκιμάστηκαν διαφορετικά πολυμερή για την επιλογή του καταλληλότερου για χρήση ως φορέα ενθυλάκωσης και προσδιορίστηκαν οι συνθήκες λειτουργίας για την παραλαβή ινών και σωματιδίων ώστε να αξιοποιηθεί τόσο ο ηλεκτροστατικός ψεκασμός όσο και η ηλεκτροστατική ινοποίηση. Επιπλέον πραγματοποιήθηκε εφαρμογή των μεθόδων αυτών για την ενθυλάκωση δεοξυχολικού οξέος και εκχυλίσματος φύλλων τομάτας αντίστοιχα με την ίδια μήτρα. Στο πλαίσιο αυτό για την πιο ολοκληρωμένη αξιολόγηση των διεργασιών αυτών πραγματοποιήθηκε παράλληλα και ενθυλάκωσή των συστατικών στην ίδια μήτρα, ίδιας συγκέντρωσης και με την ίδια αναλογία μήτρας-συστατικού με χρήση της κλασικής μεθόδου της ξήρανσης με ψεκασμό για λόγους σύγκρισης. Συνεπώς μέσα από τη συγκεκριμένη μελέτη δίνεται η δυνατότητα σύγκρισης του ηλεκτροστατικού ψεκασμού, της ηλεκτροστατικής ινοποίησης και της ξήρανσης με ψεκασμό μεταξύ τους ως προς τις δομές που παράγουν.

Από το 1^ο σετ πειραμάτων, μεταξύ των διαφορετικών πολυμερών που δοκιμάστηκαν, τα διαλύματα της ζεΐνης ήταν αυτά που λειτούργησαν καλύτερα, οδηγώντας στο σχηματισμό τόσο ινών όσο και σωματιδίων με τη μεταβολή της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης. Μελετώντας περισσότερο σε βάθος τα χαρακτηριστικά των διαλυμάτων της ζεΐνης, παρατηρήθηκε ότι οι διαφοροποιήσεις στην αναλογία του μίγματος διαλυτών της (Αιθανόλη/νερό) οδήγησε σε διαφοροποιήσεις στις παραγόμενες δομές καθώς είχαν επίδραση στο ιώδες, την επιφανειακή τάση και την ηλεκτρική αγωγιμότητα των διαλυμάτων. Η αξιολόγηση των τιμών των κρίσιμων αυτών παραμέτρων συνδυαστικά με τη μορφολογία των προϊόντων της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας οδήγησε στην επιλογή 80% αιθανόλης ως διαλύτη για την ηλεκτροστατική ινοποίηση που απαιτεί μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ζεΐνης και 90% αιθανόλη για τις μικρότερες συγκεντρώσεις του ηλεκτροστατικού ψεκασμού.

Κατά το 2^ο σετ πειραμάτων, εξετάστηκε η διάμετρος των σωματιδίων και ινών ζεΐνης για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις και λειτουργικές παραμέτρους της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας. Διαπιστώθηκε η σημαντική επίδραση της συγκέντρωσης και της ροής στο μέγεθος των δομών και επιλέχθηκαν οι συγκεντρώσεις 10 και 25% w/v για τον ηλεκτροστατικό ψεκασμό και την ηλεκτροστατική ινοποίηση, αντίστοιχα, για την συνέχεια της μελέτης.

Ακολούθησε η ενθυλάκωση του δεοξυχολικού οξέος και του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας στη ζεΐνη μέσω τόσο της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας όσο και της ξήρανσης με ψεκασμό. Από τη μελέτη που διενεργήθηκε προέκυψε ότι, όπως ήταν αναμενόμενο, η ξήρανση με ψεκασμό έδωσε δομές με διαμέτρους 20-24 φορές μεγαλύτερες από τις δομές της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας. Αλλά και μεταξύ των δύο εκδοχών της τελευταίας παρατηρήθηκε ότι η ηλεκτροστατική ινοποίηση έδωσε

ίνες μικρότερων διαμέτρων από τη μέση διάμετρο των νανοσωματιδίων του ηλεκτροστατικού ψεκασμού. Όσον αφορά στην απόδοση εγκλεισμού αυτή εμφάνισε μεγαλύτερη εξάρτηση από τη συγκέντρωση των συστατικών και τη ροή των διαλυμάτων για όλες τις διεργασίες, ενώ την μεγαλύτερη τιμή απόδοσης εγκλεισμού έδωσε ο ηλεκτροστατικός ψεκασμός.

Όσον αφορά στη θερμική σταθερότητα, τα προϊόντα ενθυλάκωσης της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας έδωσαν σχετικά σταθερή θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης χωρίς να παρατηρηθούν μεταβολές στη μάζα τους μετά την παραμονή τους σε θαλάμους διαφορετικών ενεργοτήτων νερού. Οι μικρές μετατοπίσεις του T_g αποδίδονται καθαρά στην επιτυχή ενθυλάκωση, όπως και η απουσία κορυφών των ενθυλακωμένων συστατικών. Η εξαφάνιση κορυφών των συστατικών στα προϊόντα ενθυλάκωσης υποδεικνύουν την πλήρη κάλυψή τους και προστασία τους από τη ζείνη (Nogueira, Prestes et al. 2017, Gharanjig, Gharanjig et al. 2020). Πληθώρα μελετών στη βιβλιογραφία έχουν αξιολογήσει την ενθυλάκωση μέσω της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης, συνδέοντας απευθείας την εξαφάνιση του θερμικού προφίλ των συστατικών με τον επιτυχή εγκλεισμό (Rutz, Borges et al. 2016, Shao, Xuan et al. 2018).

Όσον αφορά στην επίδραση της υγρασίας, τα προϊόντα της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας αποδείχθηκαν ανθεκτικά έναντι της προσρόφησης νερού σε αντίθεση με τις δομές της ξήρανσης με ψεκασμό που η υγρασία επηρέασε σημαντικά τη δομή τους, με την υαλώδη μετάπτωση να δείχνει αισθητή πτώση. Η μείωση του T_g ήταν ελαφρώς μεγαλύτερη για τις δομές του ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος πιθανότατα λόγω του μεγαλύτερου μεγέθους των δομών αυτών σε σχέση με τα μικροσωματίδια του ενθυλακωμένου εκχυλίσματος. Και στις δύο περιπτώσεις, ωστόσο, η εξίσωση GAB ήταν αυτή που προσαρμόστηκε καλύτερα στα δεδομένα υγρασίας των δειγμάτων της ξήρανσης με ψεκασμό, ακολουθούμενη από το μοντέλο BET. Το μοντέλο BET είναι η πιο γνωστή εξίσωση δύο παραμέτρων αλλά περιορίζεται σε ενεργότητες νερού μόνο μεταξύ 0,05-0,45. Επομένως το μοντέλο GAB των τριών παραμέτρων που ισχύει για a_w έως 0,9 χρησιμοποιείται για να συμπληρώσει το μοντέλο BET. Σε σύγκριση με τον Oswin, τα μοντέλα BET και GAB είναι σε θέση να παρέχουν την εκτίμηση της περιεκτικότητας σε μονοστρωματική υγρασία. Η περιεκτικότητα σε μονοστρωματική υγρασία (M_0) είναι μια κρίσιμη παράμετρος καθώς αντιπροσωπεύει την περιεκτικότητα σε υγρασία ενώ ο ρυθμός οποιασδήποτε σχετικής αντίδρασης θα είναι αμελητέος λόγω της ισχυρής δέσμευσης του νερού στην επιφάνεια. Επιπλέον, το μοντέλο GAB αναφέρεται ότι είναι το καλύτερο μοντέλο που ταιριάζει σε περισσότερο από το 50% των φρούτων, λαχανικών και κρεάτων (Abdullah, Keoh et al. 2020).

Όσον αφορά στην απόδοση εγκλεισμού, και για τα δύο συστατικά ενδιαφέροντος τις υψηλότερες τιμές έδωσε η ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία σε σχέση με την ξήρανση με ψεκασμό. Ειδικότερα η

μεγαλύτερη απόδοση εγκλεισμού μετρήθηκε για τα νανοσωματίδια εγκλεισμένου δεοξυχολικού οξέος ακολουθούμενη από την αντίστοιχη για τις νανοϊνες του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας.

Πίνακας 30 Κατανομή των προϊόντων ενθυλάκωσης με βάση την απόδοση εγκλεισμού.

		Προϊόν ενθυλάκωσης
Απόδοση εγκλεισμού	Μεγαλύτερη	DCA μέσω ηλεκτροστατικού ψεκασμού Εκχύλισμα φύλλων τομάτας μέσω ηλεκτροστατική ινοποίησης
	↓	DCA μέσω ξήρανσης με ψεκασμό
	Μικρότερη	Εκχύλισμα φύλλων τομάτας μέσω ξήρανσης με ψεκασμό

Οι μεγαλύτερες αποδόσεις εγκλεισμού που μετρήθηκαν για την ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία, οφείλονται στο σχηματισμό πιο μικρών και ομοιόμορφων δομών και παρέχει μεγαλύτερη ευκαμψία και επομένως καλύτερη διαμόρφωση του κελύφους της μήτρας. Επιπλέον, οι υψηλές θερμοκρασίες της ξήρανσης με ψεκασμό αποτελούν έναν ακόμη παράγοντα που συνέβαλε στην μικρότερη απόδοση εγκλεισμού καθώς οδήγησε σε υποβάθμιση των βιοδραστικών συστατικών κατά την διεξαγωγή του πειράματος, ειδικά για την περίπτωση του εκχυλίσματος που περιέχει πλήθος θερμοευαίσθητων συστατικών (Castro Coelho, Nogueiro Estevinho et al. 2021).

Σχετικά με την απελευθέρωση σε περιβάλλον διαλύτη, αυτή παρατηρήθηκε σημαντικά ταχύτερη για τα προϊόντα ενθυλάκωσης με την μέθοδο της ξήρανσης με ψεκασμό. Το γεγονός αυτό οφείλεται αφενός στην προκατεργασία που υπέστη η ζεΐνη προκειμένου να διαλυτοποιηθεί στο νερό για την πραγματοποίηση της διεργασίας, αφετέρου ενδέχεται να δηλώνει ότι τα βιοδραστικά συστατικά είχαν κατανεμηθεί πιο ομοιόμορφα στο εσωτερικό των νανοδομών σε σχέση με τα μικροσωματίδια όπου τα συστατικά μπορεί να βρίσκονταν πιο επιφανειακά δεσμευμένα. Επιπλέον τα προϊόντα της ξήρανσης με ψεκασμό είχαν μικρότερο περιεχόμενο σε βιοδραστικά σε σχέση με τα προϊόντα της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας. Όσον αφορά δε στα προϊόντα της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας, τα νανοσωματίδια επέδειξαν ελαφρώς ταχύτερη απελευθέρωση της ουσίας σε σχέση με τις νανοϊνες. Αυτό οφείλεται αφενός στο διαφορετικό μέσο διασποράς (ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού οξέος και διάλυμα 3% οξικού οξέος, αντίστοιχα) αλλά και στο διαφορετικό σχήμα τους. Το σχήμα αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την απελευθέρωση δραστικών συστατικών και έχει μελετηθεί ιδιαίτερα για τη μεταφορά φαρμάκων με τα σχήματα να κατατάσσονται κατά σειρά μειούμενη ταχύτητας απελευθέρωσης ως εξής: πυραμίδα> τόρος> κυβος>σφαίρα>κύκλινδρος (Nejati, Mohseni Vadeghani et al. 2020). Οι Coelho et al. μελέτησαν τη δομή και την απελευθέρωση βιταμίνης B12 που ενθυλακώθηκε σε ζεΐνη μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης και της ξήρανσης με ψεκασμό. Τα αποτελέσματα έδειξαν πολύ βραδύτερο ρυθμό απελευθέρωσης της βιταμίνης στην περίπτωση των ινών σε σχέση με τα σωματίδια της ξήρανσης με ψεκασμό (Coelho, Laget et al. 2021).

Πίνακας 31 Κατανομή των προϊόντων ενθυλάκωσης με βάση τον ρυθμό απελευθέρωσης των βιοδραστικών συστατικών.

		Προϊόν ενθυλάκωσης
Απελευθέρωση από περιβάλλον διαλύτη	Γρηγορότερη απελευθέρωση	DCA μέσω ξήρανσης με ψεκάσμο Εκχύλισμα φύλλων τομάτας μέσω ξήρανσης με ψεκάσμο
	↓ Πιο αργή απελευθέρωση	DCA μέσω ηλεκτροστατικού ψεκάσμου Εκχύλισμα φύλλων τομάτας μέσω ηλεκτροστατική ινοποίησης

Όσον αφορά στην απελευθέρωση από του θαλάμους διαφορετικών ενεργοτήτων νερού, αυτή αποδείχθηκε για όλα τα δείγματα πιο αργή σε σχέση με την απελευθέρωση από περιβάλλον διαλύτη, γεγονός που ήταν αναμενόμενο. Επιπλέον ο ρυθμός απελευθέρωσης ήταν μεγαλύτερος για τα εγκλεισμένα μέσω της ξήρανσης με ψεκάσμο ακολουθούμενος από αυτόν για τον ηλεκτροστατικό ψεκάσμο και τέλος για την ηλεκτροστατική ινοποίηση, καθώς οι νανοΐνες επέδειξαν την πιο αργή απελευθέρωση. Επιπλέον παρατηρήθηκε για τα εγκλεισμένα βιοδραστικά συστατικά μέσω της ξήρανσης με ψεκάσμο, εγκλωβισμός τους στο εσωτερικό της μήτρας και αδυναμία απελευθέρωσης λόγω κατάρρευσης της δομής σε περιβάλλον σχετικής υγρασίας 75-95%. Αυτό οφείλεται στην προεργασία που η μήτρα είχε υποστεί προκειμένου να διαλυτοποιηθεί στο νερό προκειμένου να εφαρμοστεί η μέθοδος, αλλά και στο γεγονός ότι τα ενθυλακωμένα συστατικά με την τεχνολογία αυτή παρέμειναν περισσότερο επιφανειακά κατανεμημένα και επομένως ήταν ευκολότερη η απελευθέρωσή τους.

Όπως προαναφέρθηκε, τα δείγματα των εγκλεισμένων συστατικών με εφαρμογή της ξήρανσης με ψεκάσμο, εμφάνισαν μεγαλύτερη ευαισθησία στην υγρασία και παρουσίασαν ταχύτερη απελευθέρωση των ουσιών στις συνθήκες που μελετήθηκαν σε σχέση με τις δομές τις ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας. Σύμφωνα με τους Wu et al. η ζεΐνη μπορεί να εμφανίσει υδρόφιλη και υδρόφοβη συμπεριφορά, ανάλογα με τις συνθήκες, με το pH να επηρεάζει σημαντικά τη συμπεριφορά αυτή. Ειδικότερα, από διαλύματα της πρωτεΐνης με pH μεγαλύτερο του ισοηλεκτρικού της σημείου, το φιλμ που σχηματίζεται μετά από εξάτμιση του διαλύτη παρουσιάζει περισσότερο υδρόφιλα χαρακτηριστικά (Wu, Du et al. 2023).

Στη συνέχεια απεικονίζεται σχηματικά η πορεία των πειραμάτων από την επιλογή του φορέα ενθυλάκωσης έως την παραλαβή των τελικών ενθυλακωμένων βιοδραστικών συστατικών ενδιαφέροντος.



Σχήμα 26 Σχηματική απεικόνιση των πειραματικών δοκιμών που πραγματοποιήθηκαν για την παραλαβή των βέλτιστων προϊόντων ενθυλάκωσης του δεοξυχολικού οξέος και του εκχυλίσματος φύλλων τομάτας.

Βιβλιογραφία

- Abdullah, S., S. C. Keoh, H. M. Johar, N. A. Razak, A. R. Shaari and I. H. Rukunudin (2020). "Mathematical modelling of moisture sorption isotherms by using BET and GAB models." IOP Conference Series: Materials Science and Engineering **932**(1): 012037.
- Alehosseini, A., L. G. Gómez-Mascaraque, M. Martínez-Sanz and A. López-Rubio (2019). "Electrospun curcumin-loaded protein nanofiber mats as active/bioactive coatings for food packaging applications." Food Hydrocolloids **87**: 758-771.
- Ali, R., P. Mehta, P. Kyriaki Monou, M. S. Arshad, E. Panteris, M. Rasekh, N. Singh, O. Qutachi, P. Wilson, D. Tzetzis, M.-W. Chang, D. G. Fatouros and Z. Ahmad (2020). "Electrospinning/electrospraying coatings for metal microneedles: A design of experiments (DOE) and quality by design (QbD) approach." European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics **156**: 20-39.
- Andrade, R. and C. Pérez (2011). "Models of sorption isotherms for food: Uses and limitations." Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica **18**: 325-334.
- Ansari, A. Q., S. J. Ansari, M. Q. Khan, M. F. Khan, U. A. Qureshi, Z. Khatri, F. Ahmed and I. S. Kim (2019). "Electrospun Zein nanofibers as drug carriers for controlled delivery of Levodopa in Parkinson syndrome." Materials Research Express **6**(7): 075405.
- Asbi, B. A. and I. C. Baianu (1986). "An equation for fitting moisture sorption isotherms of food proteins." Journal of Agricultural and Food Chemistry **34**(3): 494-496.
- Avossa, J., G. Herwig, C. Toncelli, F. Itel and R. M. Rossi (2022). "Electrospinning based on benign solvents: current definitions, implications and strategies." Green Chemistry **24**(6): 2347-2375.
- Bao, L.-R. and A. F. Yee (2002). "Effect of temperature on moisture absorption in a bismaleimide resin and its carbon fiber composites." Polymer **43**(14): 3987-3997.
- Bisharat, L., A. Berardi, D. R. Perinelli, G. Bonacucina, L. Casettari, M. Cespi, H. S. AlKhatib and G. F. Palmieri (2018). "Aggregation of zein in aqueous ethanol dispersions: Effect on cast film properties." International Journal of Biological Macromolecules **106**: 360-368.
- Brunauer, S., P. H. Emmett and E. Teller (1938). "Adsorption of Gases in Multimolecular Layers." Journal of the American Chemical Society **60**(2): 309-319.
- Budiman, A. and D. L. Aulifa (2021). "Encapsulation of drug into mesoporous silica by solvent evaporation: A comparative study of drug characterization in mesoporous silica with various molecular weights." Heliyon **7**(12): e08627.
- Cabra, V., R. Arreguin, R. Vazquez-Duhalt and A. Farres (2006). "Effect of temperature and pH on the secondary structure and processes of oligomerization of 19 kDa alpha-zein." Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics **1764**(6): 1110-1118.
- Castro Coelho, S., B. Nogueiro Estevinho and F. Rocha (2021). "Encapsulation in food industry with emerging electrohydrodynamic techniques: Electrospinning and electrospraying – A review." Food Chemistry **339**: 127850.
- Cetinkaya, T., W. Wijaya, F. Altay and Z. Ceylan (2022). "Fabrication and characterization of zein nanofibers integrated with gold nanospheres." LWT **155**: 112976.

- Chen, Y., R. Ye and J. Liu (2013). "Understanding of dispersion and aggregation of suspensions of zein nanoparticles in aqueous alcohol solutions after thermal treatment." Industrial Crops and Products **50**: 764-770.
- Cloupeau, M. (1994). "Recipes for use of EHD spraying in cone-jet mode and notes on corona discharge effects." Journal of Aerosol Science **25**(6): 1143-1157.
- Coelho, S. C., S. Laget, P. Benaut, F. Rocha and B. N. Estevinho (2021). "A new approach to the production of zein microstructures with vitamin B12, by electrospinning and spray drying techniques." Powder Technology **392**: 47-57.
- Corradini, E., P. S. Curti, A. B. Meniqueti, A. F. Martins, A. F. Rubira and E. C. Muniz (2014) "Recent Advances in Food-Packing, Pharmaceutical and Biomedical Applications of Zein and Zein-Based Materials." International Journal of Molecular Sciences **15**, 22438-22470 DOI: 10.3390/ijms151222438.
- Demir, M., L. Ramos-Rivera, R. Silva, S. N. Nazhat and A. R. Boccaccini (2017). "Zein-based composites in biomedical applications." Journal of Biomedical Materials Research Part A **105**(6): 1656-1665.
- Drake, A. C., Y. Lee, E. M. Burgess, J. O. M. Karlsson, A. Eroglu and A. Z. Higgins (2018). "Effect of water content on the glass transition temperature of mixtures of sugars, polymers, and penetrating cryoprotectants in physiological buffer." PloS one **13**(1): e0190713-e0190713.
- Florence, A. T. and D. Attwood (2015). Physicochemical principles of pharmacy: In manufacture, formulation and clinical use, Pharmaceutical press.
- Fu, Y. and W. J. Kao (2010). "Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems." Expert Opinion on Drug Delivery **7**(4): 429-444.
- García-Cárdenas, J., H. Ciro-Velásquez and E. Largo (2015). "ENCAPSULATION OF MANDARIN CITRUS FLAVOR USING SPRAY DRYING TECHNOLOGY AND DIFFERENT WALL MATERIALS." Revista UDCA Actualidad y Divulgacion Cientifica **18**: 251-260.
- Gennadios, A. and C. L. Weller (1994). "Moisture Adsorption by Grain Protein Films." Transactions of the ASAE **37**(2): 535-539.
- Gharanjig, H., K. Gharanjig, M. Hosseinneshad and S. M. Jafari (2020). Chapter Ten - Differential scanning calorimetry (DSC) of nanoencapsulated food ingredients. Characterization of Nanoencapsulated Food Ingredients. S. M. Jafari, Academic Press. **4**: 295-346.
- Gomez-Estaca, J., M. P. Balaguer, R. Gavara and P. Hernandez-Munoz (2012). "Formation of zein nanoparticles by electrohydrodynamic atomization: Effect of the main processing variables and suitability for encapsulating the food coloring and active ingredient curcumin." Food Hydrocolloids **28**(1): 82-91.
- Gómez-Mascaraque, L. G., R. Perez-Masiá, R. González-Barrio, M. J. Periago and A. López-Rubio (2017). "Potential of microencapsulation through emulsion-electrospraying to improve the bioaccessibility of β -carotene." Food Hydrocolloids **73**: 1-12.
- Gordon, M. and J. S. Taylor (1952). "Ideal copolymers and the second-order transitions of synthetic rubbers. i. non-crystalline copolymers." Journal of Applied Chemistry **2**(9): 493-500.

- Guillard, V., C. Bourlieu and N. Gontard (2013). Theoretical Background. Food Structure and Moisture Transfer: A Modeling Approach. V. Guillard, C. Bourlieu and N. Gontard. New York, NY, Springer New York: 3-33.
- Hassan, E. A., R. M. Hathout, H. A. Gad and O. A. Sammour (2022). "A holistic review on zein nanoparticles and their use in phytochemicals delivery." Journal of Drug Delivery Science and Technology **73**: 103460.
- Irache, J. M. and C. J. González-Navarro (2017). "Zein nanoparticles as vehicles for oral delivery purposes." Nanomedicine **12**(11): 1209-1211.
- Kang, K., K. Lee, S. Sohn, S. Park, S. Lee, S. Kim, Y. Kim and K. Back (2009). "Ectopic expression of serotonin N-hydroxycinnamoyltransferase and differential production of phenylpropanoid amides in transgenic tomato tissues." Scientia Horticulturae **120**: 504-510.
- Karthikeyan, K., E. Vijayalakshmi and P. S. Korrapati (2014). "Selective Interactions of Zein Microspheres with Different Class of Drugs: An In Vitro and In Silico Analysis." AAPS PharmSciTech **15**(5): 1172-1180.
- Kasaai, M. R. (2018). "Zein and zein -based nano-materials for food and nutrition applications: A review." Trends in Food Science & Technology **79**: 184-197.
- Kim, S. and J. Xu (2008). "Aggregate formation of zein and its structural inversion in aqueous ethanol." Journal of Cereal Science **47**(1): 1-5.
- Kong, J. and S. Yu (2007). "Fourier Transform Infrared Spectroscopic Analysis of Protein Secondary Structures." Acta Biochimica et Biophysica Sinica **39**(8): 549-559.
- Lee, J., C. H. Lee, J.-G. Lee, S. Y. Jeon, M.-K. Choi and I.-S. Song (2022) "Enhancing Dissolution and Oral Bioavailability of Ursodeoxycholic Acid with a Spray-Dried pH-Modified Extended Release Formulation." Pharmaceutics **14** DOI: 10.3390/pharmaceutics14051037.
- Lewicki, P. P. (1997). "The applicability of the GAB model to food water sorption isotherms." International Journal of Food Science & Technology **32**(6): 553-557.
- Lewicki, P. P. (2008). Data and models of water activity. II: Solid foods. Food Properties Handbook. M. S. Rahman. New York, Taylor & Francis Group: 67-152.
- Liu, G., D. An, J. Li and S. Deng (2023). "Zein-based nanoparticles: Preparation, characterization, and pharmaceutical application." Frontiers in Pharmacology **14**.
- Madeka, H. and J. L. Kokini (1996). "Effect of glass transition and cross-linking on rheological properties of zein: development of a preliminary state diagram." Cereal Chemistry **73**(4): 433-438.
- Magoshi, J., S. Nakamura and K.-I. Murakami (1992). "Structure and physical properties of seed proteins. I. Glass transition and crystallization of zein protein from corn." Journal of Applied Polymer Science **45**(11): 2043-2048.
- Marom, G. (2023) "Why Do Nanoparticles (CNTs) Reduce the Glass Transition Temperature of Nanocomposites?" Journal of Composites Science **7** DOI: 10.3390/jcs7030114.

- Mello, V. A. d. and E. Ricci-Júnior (2011). "Encapsulation of naproxen in nanostructured system: structural characterization and in vitro release studies." Química Nova **34**.
- Mohomed, K. and D. Bohnsack (2013). "Differential Scanning Calorimetry (DSC) as an Analytical Tool in Plastics Failure Analysis." American Laboratory **45**: 20-23.
- Moore, T. L., A. B. Cook, E. Bellotti, R. Palomba, P. Manghnani, R. Spanò, S. Brahmachari, M. Di Francesco, A. L. Palange, D. Di Mascolo and P. Decuzzi (2022). "Shape-specific microfabricated particles for biomedical applications: a review." Drug Delivery and Translational Research **12**(8): 2019-2037.
- Moreno, M. A., M. E. Orqueda, L. G. Gómez-Mascaraque, M. I. Isla and A. López-Rubio (2019). "Crosslinked electrospun zein-based food packaging coatings containing bioactive chito fruit extracts." Food Hydrocolloids **95**: 496-505.
- Nejati, S., E. Mohseni Vadeghani, S. Khorshidi and A. Karkhaneh (2020). "Role of particle shape on efficient and organ-based drug delivery." European Polymer Journal **122**: 109353.
- Neo, Y. P., S. Ray, A. J. Easteal, M. G. Nikolaidis and S. Y. Quek (2012). "Influence of solution and processing parameters towards the fabrication of electrospun zein fibers with sub-micron diameter." Journal of Food Engineering **109**(4): 645-651.
- Ni, X., K. Wang, K. Wu, H. Corke, K. Nishinari and F. Jiang (2018). "Stability, microstructure and rheological behavior of konjac glucomannan-zein mixed systems." Carbohydrate Polymers **188**: 260-267.
- Nogueira, M., C. Prestes and J. Burkert (2017). "Microencapsulation by lyophilization of carotenoids produced by *Phaffia rhodozyma* with soy protein as the encapsulating agent." Food Science and Technology **37**: 1-4.
- Oswin, C. R. (1946). "The kinetics of package life. III. The isotherm." Journal of the Society of Chemical Industry **65**(12): 419-421.
- Paliwal, R. and S. Palakurthi (2014). "Zein in controlled drug delivery and tissue engineering." Journal of Controlled Release **189**: 108-122.
- Pan, K. and Q. Zhong (2016). "Low energy, organic solvent-free co-assembly of zein and caseinate to prepare stable dispersions." Food Hydrocolloids **52**: 600-606.
- Panagiotopoulou, M., S. Papadaki and M. Krokida (2022). "Formation and characterization of zein electrospayed nanoparticles containing bioactive compounds." South African Journal of Chemical Engineering **40**: 32-47.
- Peres, I., S. Rocha, J. Gomes, S. Morais, M. C. Pereira and M. Coelho (2011). "Preservation of catechin antioxidant properties loaded in carbohydrate nanoparticles." Carbohydrate Polymers **86**(1): 147-153.
- Rodríguez-Félix, F., C. L. Del-Toro-Sánchez, F. Javier Cinco-Moroyoqui, J. Juárez, S. Ruiz-Cruz, G. A. López-Ahumada, E. Carvajal-Millan, D. D. Castro-Enríquez, C. G. Barreras-Urbina and J. A. Tapia-Hernández (2019). "Preparation and Characterization of Quercetin-Loaded Zein Nanoparticles by Electrospaying and Study of In Vitro Bioavailability." Journal of Food Science **84**(10): 2883-2897.

- Roos, Y. H. (1993). "WATER ACTIVITY and PHYSICAL STATE EFFECTS ON AMORPHOUS FOOD STABILITY." Journal of Food Processing and Preservation **16**(6): 433-447.
- Rutz, J. K., C. D. Borges, R. C. Zambiasi, C. G. da Rosa and M. M. da Silva (2016). "Elaboration of microparticles of carotenoids from natural and synthetic sources for applications in food." Food Chemistry **202**: 324-333.
- Sabaghi, M., S. Tavasoli, A. Taheri, N. Jamali and A. Esfanjani (2022). "Controlling release patterns of the bioactive compound by structural and environmental conditions: a review." Journal of Food Measurement and Characterization **17**.
- Schawe, J. E. K. and U. Hess (2002). "Influence of Moisture on the Glass Transition of A Spray-Dried Compound Using the Isoseptom Method." Journal of Thermal Analysis and Calorimetry **68**(2): 741-749.
- Schugmann, M. and P. Foerst (2022) "Systematic Investigation on the Glass Transition Temperature of Binary and Ternary Sugar Mixtures and the Applicability of Gordon–Taylor and Couchman–Karasz Equation." Foods **11** DOI: 10.3390/foods11121679.
- Serris, G. and C. Biliaderis (2001). "Degradation of beetroot pigment encapsulated in polymeric matrices." Journal of the Science of Food and Agriculture **81**: 691-700.
- Serris, G. S. and C. G. Biliaderis (2001). "Degradation kinetics of beetroot pigment encapsulated in polymeric matrices." Journal of the Science of Food and Agriculture **81**(8): 691-700.
- Sessa, D. J., G. W. Selling and A. Biswas (2012). "Reaction of Zein with Methylenediphenyl Diisocyanate in the Melt State: Thermal, Mechanical, and Physical Properties." Industrial & Engineering Chemistry Research **51**(27): 9199-9203.
- Shaikh, S., Z. Khatri, K. W. Oh, I.-S. Kim and S. Kim (2014). "Zein/Cellulose Acetate Hybrid Nanofibers: Electrospinning and Characterization." Macromolecular Research **22**: 971-977.
- Shan, X., C. Liu, F. Li, C. Ouyang, Q. Gao and K. Zheng (2015). "Nanoparticles vs. nanofibers: a comparison of two drug delivery systems on assessing drug release performance in vitro." Designed Monomers and Polymers **18**(7): 678-689.
- Shao, P., S. Xuan, W. Wu and L. Qu (2018). "Encapsulation efficiency and controlled release of Ganoderma lucidum polysaccharide microcapsules by spray drying using different combinations of wall materials." International Journal of Biological Macromolecules **125**.
- Siegel, R. A. and M. J. Rathbone (2012). Overview of Controlled Release Mechanisms. Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery. J. Siepmann, R. A. Siegel and M. J. Rathbone. Boston, MA, Springer US: 19-43.
- Silva, S. C. M., R. H. S. Fuzatto, D. A. Botrel, J. C. Ugucioni and J. E. Oliveira (2020). "Development of zein nanofibers for the controlled delivery of essential amino acids for fish nutrition." SN Applied Sciences **2**(11): 1783.
- Simoneau, C. (2009). Guidelines on Testing Conditions for Articles In Contact With Foodstuffs (With A Focus on Kitchenware) - A CRL-NRL-FCM Publication, 1st Edition 2009.

- Smeets, A., C. Clasen and G. Van den Mooter (2017). "Electrospraying of polymer solutions: Study of formulation and process parameters." European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics **119**: 114-124.
- Smith, D. P. H. (1986). "The Electrohydrodynamic Atomization of Liquids." IEEE Transactions on Industry Applications **IA-22**(3): 527-535.
- Tapia-Hernández, J. A., C. L. Del-Toro-Sánchez, F. J. Cinco-Moroyoqui, S. Ruiz-Cruz, J. Juárez, D. D. Castro-Enríquez, C. G. Barreras-Urbina, G. A. López-Ahumada and F. Rodríguez-Félix (2019). "Gallic Acid-Loaded Zein Nanoparticles by Electrospraying Process." Journal of Food Science **84**(4): 818-831.
- Tian, H., X. Fu, M. Zheng, Y. Wang, Y. Li, A. Xiang and W. Zhong (2018). "Natural polypeptides treat pollution complex: Moisture-resistant multi-functional protein nanofabrics for sustainable air filtration." Nano Research **11**(8): 4265-4277.
- Tran, P. H. L., W. Duan, B.-J. Lee and T. T. D. Tran (2019). "The use of zein in the controlled release of poorly water-soluble drugs." International Journal of Pharmaceutics **566**: 557-564.
- Vasile, F. E., M. A. Judis and M. F. Mazzobre (2020). "Moisture sorption properties and glass transition temperature of a non-conventional exudate gum (*Prosopis alba*) from northeast Argentina." Food Research International **131**: 109033.
- Velázquez-Gutiérrez, S. K., A. C. Figueira, M. E. Rodríguez-Huezo, A. Román-Guerrero, H. Carrillo-Navas and C. Pérez-Alonso (2015). "Sorption isotherms, thermodynamic properties and glass transition temperature of mucilage extracted from chia seeds (*Salvia hispanica* L.)." Carbohydrate Polymers **121**: 411-419.
- Vlachou, M., A. Siamidi and S. Kyriakou (2019). Electrospinning and Drug Delivery. Electrospinning and Electrospraying. H. Sajjad and H. Adnan. Rijeka, IntechOpen: Ch. 2.
- Wan Chik, W. D. (2011). "Predicting group of metabolites available in partially purified tomato leaves extract showing anticancer activity by high performance liquid chromatography (HPLC) and Fourier transform infrared (FTIR)." AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY **10**.
- Wang, Q.-q., A. Nandgaonkar, J. Cui, F. Huang, W. Krause, Q. Wei and L. Lucia (2014). "Atom Efficient Thermal and Photocuring Combined Treatments for the Synthesis of Novel Eco-Friendly Grid-Like Zein Nanofibres." RSC Adv. **4**.
- Wang, Y. and G. W. Padua (2004). "Water Sorption Properties of Extruded Zein Films." Journal of Agricultural and Food Chemistry **52**(10): 3100-3105.
- Wang, Y., C.-P. Su, M. Schulmerich and G. W. Padua (2013). "Characterization of core-shell structures formed by zein." Food Hydrocolloids **30**(2): 487-494.
- Wu, I. Y., S. Bala, N. Škalko-Basnet and M. P. di Cagno (2019). "Interpreting non-linear drug diffusion data: Utilizing Korsmeyer-Peppas model to study drug release from liposomes." European Journal of Pharmaceutical Sciences **138**: 105026.
- Wu, Y., J. Du, J. Zhang, Y. Li and Z. Gao (2023) "pH Effect on the Structure, Rheology, and Electrospinning of Maize Zein." Foods **12** DOI: 10.3390/foods12071395.

- Xue, J., Y. Zhang, G. Huang, J. Liu, M. Slavin and L. Yu (2018). "Zein-caseinate composite nanoparticles for bioactive delivery using curcumin as a probe compound." Food Hydrocolloids **83**: 25-35.
- Yang, J., C. Gao, S. Lü, X. Zhang, C. Yu and M. Liu (2014). "Physicochemical characterization of amphiphilic nanoparticles based on the novel starch–deoxycholic acid conjugates and self-aggregates." Carbohydrate Polymers **102**: 838-845.
- Yrjö, H. R. (2006). Phase Transitions and Transformations in Food Systems. Handbook of Food Engineering, CRC Press.
- Yuan, Y., M. Ma, Y. Xu and D. Wang (2022). "Surface coating of zein nanoparticles to improve the application of bioactive compounds: A review." Trends in Food Science & Technology **120**: 1-15.
- Zhang, S., C. Campagne and F. Salaün (2019) "Influence of Solvent Selection in the Electrospraying Process of Polycaprolactone." Applied Sciences **9** DOI: 10.3390/app9030402.
- Zhong, Q. and M. Jin (2009). "Zein nanoparticles produced by liquid–liquid dispersion." Food Hydrocolloids **23**(8): 2380-2387.
- Zhu, W., J. Long and M. Shi (2023) "Release Kinetics Model Fitting of Drugs with Different Structures from Viscose Fabric." Materials **16** DOI: 10.3390/ma16083282.

4 Ανάπτυξη τελικών προϊόντων

4.1 Εισαγωγή

Στην παρούσα μελέτη δύο βιοδραστικές ουσίες/εκχυλίσματα ενθυλακώθηκαν σε φυσικό πολυμερές με σκοπό την αξιοποίησή τους σε κάποιες τελικές εφαρμογές.

Τα νανοσωματίδια αποτελούν σήμερα για τον τομέα της κοσμετολογίας ιδανικά συστήματα μεταφοράς ουσιών προς τα σημεία-στόχους καθώς προσφέρουν στοχευμένη, ελεγχόμενη δράση, αυξημένη σταθερότητα και προστασία των ουσιών από παράγοντες υποβάθμισης (Casanova and Santos 2016). Τα βελτιωμένα συστήματα χορήγησης ουσιών που προσφέρει η νανοτεχνολογία ανοίγει το δρόμο για την ανάπτυξη νέων θεραπειών. Οι νανοδομές, όπως υποδηλώνει το όνομα τους, έχουν μικρές διαστάσεις με μεγάλη αναλογία επιφάνειας προς όγκο, επιτρέποντας αυξημένη απόδοση ενθυλάκωσης, παραγωγή σκευασμάτων με απαλή υφή και καλύτερη διασπορά (Salvioni, Morelli et al. 2021). Στην παρούσα μελέτη το δεοξυχολικό οξύ χάρη στην λιπολυτική του δράση ενσωματώθηκε σε μία καλλυντική κρέμα βάση και μελετήθηκαν τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του τελικού σκευάσματος όπως ρεολογία, χρώμα, pH και μικροβιολογία της κρέμας.

Το εκχύλισμα φύλλων της τομάτας χάρη στην αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή του δράση αξιοποιήθηκε για ενσωμάτωση σε συσκευασία και συγκεκριμένα εφαρμόστηκε για τη συσκευασία τομάτων με σκοπό να υπάρξει μια πλήρως κυκλική αξιοποίηση. Η ανάπτυξη ενεργών/βιοδραστικών υλικών με στόχο τη διατήρηση ή την ενίσχυση της ασφάλειας και της ποιότητας των συσκευασμένων τροφίμων με την ενσωμάτωση αντιμικροβιακών ή/και αντιοξειδωτικών φυσικών ενώσεων (Dumitriu, Mitchell et al. 2017) αποτελεί ένα άκρως ενεργό ερευνητικό πεδίο (Munteanu and Vasile 2020, Munteanu and Vasile 2021, Vasile and Baican 2021). Δυστυχώς, η χρήση τους σε φυσική μορφή σε υλικά συσκευασίας τροφίμων είναι περιορισμένη λόγω της χαμηλής σταθερότητάς τους έναντι θερμοκρασίας, οξυγόνου ή έκθεσης στο φως κατά την επεξεργασία, τη διανομή και την αποθήκευση των τροφίμων. Επίσης, τα προφίλ μη ελεγχόμενης απελευθέρωσής τους μπορεί να επιδεινώσουν σημαντικά τα βιολογικά τους οφέλη. Για να ξεπεραστούν αυτοί οι περιορισμοί, σχεδιάζονται κατάλληλοι φορείς και τεχνικές ενθυλάκωσης όπως πραγματοποιήθηκε και στην παρούσα μελέτη.

4.2 Ενσωμάτωση των νανοσωματιδίων δεοξυχολικού οξέος σε καλλυντική κρέμα

Όπως μελετήθηκε στο κεφάλαιο 3, το δεοξυχολικό οξύ ενθυλακώθηκε σε ζεΐνη μέσω του ηλεκτροστατικού ψεκασμού και της ξήρανσης με ψεκασμό. Στην πρώτη περίπτωση παρήχθησαν σωματίδια διαμέτρων 0,3-0,4 μm με αυξημένη θερμική αντοχή και σταθερότητα έναντι της αυξημένης υγρασίας και με απόδοση εγκλεισμού που έφτασε το 92%. Όσον αφορά στην δεύτερη

μέθοδο, τα παραγόμενα σωματίδια είχαν διαμέτρους της τάξης των 7-10 μm, μικρότερη αντοχή στην υγρασία και αντίστοιχα μειωμένη θερμική σταθερότητα και απόδοση εγκλεισμού μεταξύ 70-80%. Με βάση, λοιπόν τη μελέτη που προηγήθηκε, το προϊόν εγκλεισμού του ηλεκτροστατικού ψεκασμού στις βέλτιστες συνθήκες λειτουργίας που προσδιορίστηκαν από τον πειραματικό σχεδιασμό, είναι αυτό που οδηγήθηκε για ενσωμάτωση σε καλλυντική κρέμα. Αναφέρεται ότι το φορτίο των νανοσωματιδίων είναι μια πολύ σημαντική παράμετρος για τη στοχευμένη δράση της ένωσης ενδιαφέροντος. Στην περίπτωση διαδερμικής μεταφοράς, η μέθοδος του ηλεκτροστατικού ψεκασμού παράγει θετικά φορτισμένα νανοσωματίδια ZN ενώ το δέρμα μπορεί να χαρακτηριστεί ως μία αρνητικά φορτισμένη μεμβράνη λόγω της περίσσειας αρνητικά φορτισμένων λιπιδίων (Lin, Xie et al. 2018). Αυτό το αντίθετο φορτίο διευκολύνει την προσκόλληση και τη διαπερατότητα των νανοσωματιδίων από τα στρώματα του δέρματος (Morganti, Tishchenko et al. 2013).

4.2.1 Μεθοδολογία παρασκευής καλλυντικής κρέμας

Στη βιομηχανία καλλυντικών, τα γαλακτώματα τύπου έλαιο σε νερό (O/W) και νερό σε έλαιο (W/O) χρησιμοποιούνται ως βάση για τη δημιουργία κρεμών και λοσιόν για το δέρμα. Στην παρούσα μελέτη αναπτύχθηκε ένα γαλάκτωμα ελαίου σε νερού (O/W) για να χρησιμοποιηθεί ως κρέμα βάση για την ενσωμάτωση του εγκλεισμένου βιοδραστικού παράγοντα. Τα συστατικά που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύνθεση της κρέμας παρουσιάζονται στον Πίνακα 32. Η υδατική και η ελαιώδης φάση παρήχθησαν χωριστά υπό θέρμανση στους 78-82 °C και ομογενοποίηση για 15 λεπτά στις 500 rpm με ένα όργανο διασποράς υψηλής απόδοσης (T 25 digital ULTRA- TURRAX, IKA). Στη συνέχεια η ελαιώδης φάση προστέθηκε αργά στην υδατική φάση κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης, πρώτα για 2 λεπτά στις 500 rpm και στη συνέχεια για άλλα 10 λεπτά στις 1000 rpm και το μίγμα αφέθηκε να κρυώσει για να επέλθει στερεοποίηση. Τα σωματίδια του βιοδραστικού συστατικού προστέθηκαν στο τέλος όταν η κρέμα είχε έρθει σε θερμοκρασία μικρότερη των 40°C με ήπια ανάδευση με γυάλινη ράβδο για 5 λεπτά ώστε να μην διαταραχθεί η συνοχή των δομών (Adejokun and Dodou 2020). Τέλος η ρύθμιση του pH της κρέμας πραγματοποιήθηκε με χρήση γαλακτικού οξέος και τριαιθανολαμίνης ώστε να κυμαίνεται μεταξύ 4-5 (pH υγιούς δέρματος) (Baki and Alexander 2015). Η ποσότητα των νανοσωματιδίων που ενσωματώθηκαν στην κρέμα υπολογίστηκε έτσι ώστε το δεοξυχολικό οξύ να αποτελεί το 0,1% του βάρους της κρέμας.

Στον ακόλουθο πίνακα απεικονίζεται η συνταγή που ακολουθήθηκε για την παρασκευή του γαλακτώματος στο οποίο ενσωματώθηκε το εγκλεισμένο δεοξυχολικό οξύ.

Πίνακας 32 Συνταγή για την παρασκευή γαλακτώματος τύπου έλαιο σε νερό (O/W).

Φάση	Συστατικό	Ποσότητα (%)
Α-Ελαιώδης	Olivem 1000	4
	Ελαιόλαδο	8
	Στεατικό οξύ	2
	Κετυλική αλκοόλη	4
Β-Υδατική	Απιονισμένο νερό	66
	Ξανθανικό κόμμα	1,4
	Geogard 221	0,6
	Γλυκερόλη	10
	Βουτυλενογλυκόλη	4



Εικόνα 19 Παρασκευή καλλυντικής κρέμας

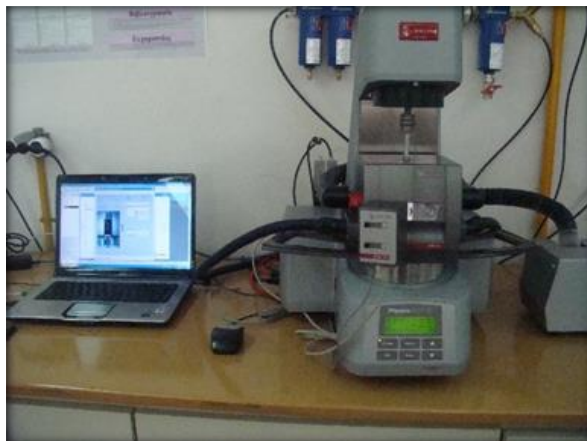
Στη συνέχεια δείγματα της κρέμας με τα νανοσωματίδια εγκλεισμένου δεοξυχολικού οξέος αποθηκεύτηκαν σε θαλάμους ελεγχόμενης θερμοκρασίας στους 5, 25, 37 και 45 °C ώστε να ελεγχθεί η σταθερότητά τους με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης. Η αξιολόγηση της σταθερότητας το τελικού σκευάσματος πραγματοποιήθηκε μετρώντας τα φυσικοχημικά του χαρακτηριστικά μετά την παραμονή του στις προαναφερθείσες θερμοκρασίες για 3 μήνες σε σύγκριση με κρέμα βάση χωρίς το βιοδραστικό συστατικό (δείγμα αναφοράς). Η αποθήκευση των κρεμών στους 45 °C αποτελεί συνθήκη επιταχυνόμενης γήρανσης. Οι επιταχυνόμενες δοκιμές γήρανσης εφαρμόζονται με στόχο να καθοριστούν οι περιβαλλοντικές εκείνες συνθήκες όπως η θερμοκρασία που επηρεάζουν τη ακεραιότητα και τη ζωή ενός προϊόντος. Στις μελέτες αυτές, το προϊόν αποθηκεύεται σε θερμοκρασίες σημαντικά μεγαλύτερες από την συνήθη θερμοκρασία αποθήκευσής του στην αγορά.

4.2.2 Μέτρηση ρεολογικών ιδιοτήτων- Δυναμική Μηχανική Ανάλυση (DMA)

Τα καλλυντικά σκευάσματα πρέπει να πληρούν ορισμένα βασικά ποιοτικά χαρακτηριστικά προκειμένου να είναι σε θέση να παρουσιαστούν ως εμπορικά προϊόντα. Οι ιδιότητες υφής και δομής των καλλυντικών έχουν εξαιρετική σημασία για τον καταναλωτή και συνδέονται άμεσα με τη ρεολογική συμπεριφορά των συστημάτων. Η δυνατότητα επάλειψής τους, η αίσθηση η υφή στο δέρμα πρέπει να πληρούν τις απαιτήσεις του καταναλωτή (Constanta, Danu et al. 2010). Για τον

έλεγχο αυτών των ιδιοτήτων πραγματοποιούνται δοκιμές ταλάντωσης (Holzner 1994). Η δυναμική μηχανική ανάλυση χρησιμοποιείται ευρέως για την μελέτη και τον χαρακτηρισμό των υλικών και κυρίως των ιξοδοελαστικών πολυμερών. Οι τυπικές παράμετροι που μετρούνται σε ένα ιξοδοελαστικό υλικό είναι το μέτρο αποθήκευσης G' (μέτρο της ενέργειας παραμόρφωσης που αποθηκεύεται από το δείγμα κατά τη διαδικασία διάτμησης, που αντιπροσωπεύει την ελαστική συμπεριφορά του υλικού), μέτρο απωλειών G'' (μέτρο της ενέργειας παραμόρφωσης που διαχέεται από το δείγμα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας διάτμησης που αντιπροσωπεύει την ιξώδη συμπεριφορά του υλικού), γωνία φάσης δ , παράγοντα απόσβεσης ή εφαπτομένη των απωλειών: $\tan \delta = G''/G'$ και το σύνθετο ιξώδες η^* .

Οι δοκιμές ταλάντωσης πραγματοποιήθηκαν στη συσκευή Anton Paar, MCR 301 (Physica MCR 301 Anton Paar DMA analyzer) (Εικόνα). Τα δείγματα (C, P και T) τοποθετήθηκαν σε διάταξη plate-plate σε διάκενο 2 mm. Οι δοκιμές ταλάντωσης πραγματοποιήθηκαν για σταθερή τιμή συχνότητας (γ) 0,1%, που βρίσκεται εντός της γραμμικής ιξοδοελαστικής περιοχής, και σταθερή θερμοκρασία 25 °C. Η γωνιακή συχνότητα ω , μεταβαλλόταν σε εύρος 10^2 και 10^{-1} rad/s. Πραγματοποιήθηκαν τουλάχιστον τρεις επαναλήψεις για κάθε δείγμα.



Εικόνα 20 Συσκευή δυναμικής μηχανικής ανάλυσης (DMA).

4.2.3 Μέτρηση χρώματος

Η μέτρηση του χρώματος πραγματοποιήθηκε ώστε να εντοπιστούν τυχόν αλλοιώσεις-αποκλίσεις από το χρώμα αναφοράς της κρέμας βάσης τόσο λόγω της ενσωμάτωσης, σε αυτή, των εγκλεισμένων συστατικών όσο και λόγω της επίδρασης των διαφορετικών συνθηκών αποθήκευσης. Για τη συγκεκριμένη ανάλυση, μία ικανοποιητική ποσότητα δείγματος τοποθετήθηκε επάνω σε μία πλάκα και με κατάλληλο φορητό χρωματόμετρο (MiniScan XE Hunter Associates Laboratory Inc, Reston, Virginia) μετρήθηκε το χρώμα των δειγμάτων σε χρόνους 0, 30, 60 και 90 ημερών από την αποθήκευση. Το σύστημα μέτρησης χρώματος Lab, είναι αυτό που χρησιμοποιήθηκε καθώς το όργανο έδινε τιμές για κάθε μία από τις παραμέτρους L^* , a^* και b^* που αποτελούν συντεταγμένες

του συστήματος. Στο σύστημα αυτό, αναφέρεται ότι οι τιμές του L* αντιπροσωπεύουν την φωτεινότητα και κυμαίνονται από 0 (μαύρο) έως 100 (λευκό). Όσον αφορά στις συντεταγμένες a* και b*, αυτές δεν έχουν αριθμητικά όρια και μπορούν να λάβουν είτε θετικές είτε αρνητικές τιμές. Θετικές τιμές του a* αντιστοιχούν σε κόκκινες αποχρώσεις ενώ αρνητικές τιμές του σε αποχρώσεις του πράσινου. Αντίστοιχα για το b* στα θετικά του αντιπροσωπεύει αποχρώσεις του κίτρινου και στα αρνητικά του αποχρώσεις του μπλε. Οι διαχωρισμοί αυτοί στηρίζονται στα ζευγάρια αντίθετων χρωμάτων. Το χρωματόμετρο πριν από κάθε μέτρηση βαθμονομείται με χρήση δύο πλακιδίων, ενός μαύρου κι ενός λευκού. Από τις τιμές των τριών παραμέτρων υπολογίζεται ο παράγοντας ΔE που αντιπροσωπεύει τη συνολική μεταβολή χρώματος σε σχέση με την αναφορά (Εξίσωση 1).

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (1)$$

Ως αναφορά χρησιμοποιήθηκαν οι τιμές των παραμέτρων σε χρόνο μηδέν.

4.2.4 Μέτρηση οξύτητας (pH)

Το βέλτιστο pH της υγιούς επιδερμίδας του προσώπου είναι περίπου 4,5-5 (Luebberding, Krueger et al. 2013). Στόχος των περισσότερων εταιριών προϊόντων περιποίησης είναι η δημιουργία σκευασμάτων όπου το pH τους να είναι φιλικό προς την επιδερμίδα έτσι ώστε να μη διαταράσσουν το μηχανισμό άμυνας του δέρματος (έκκριση λιπαρότητας, ιδρώτα και λεμφικών υγρών). Στην περίπτωση λοιπόν όπου διαταραχθεί ο μηχανισμός αυτός (κατά βάση λόγω κακής ποιότητας καλλυντικοτεχνικών προϊόντων) η επιδερμίδα χάνει την ισορροπία της και ταυτόχρονα τη δυνατότητα να απορροφά θρεπτικά συστατικά.

Για το λόγο αυτό έγινε μελέτη της οξύτητας των κρεμών σε όλους τους χρόνους (t=0, 30, 60 και 90 ημέρες) και για όλες τις θερμοκρασίες αποθήκευσης (4, 25, 37 και 45 °C). Η μέτρηση pH πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια ηλεκτρονικού πεχάμετρου (*MARTINI Instruments 180 Bench Meter*).

4.2.5 Μικροβιολογική ανάλυση

Η μικροβιακή αρτιότητα του καλλυντικού σκευάσματος προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας ειδικά τρυβλία Compact Dry (HYSERVE GMBH & CO. KG) που χρησιμοποιούνται για την καλλιέργεια και μέτρηση μικροοργανισμών με σκοπό την παρακολούθηση της ποιότητας του προϊόντος και της πιθανής μόλυνσης που μπορεί να έχει υποστεί. Τα είδη των τρυβλίων compact Dry που χρησιμοποιήθηκαν απεικονίζονται στον ακόλουθο πίνακα.

Πίνακας 33 Τρυβλία Compact Dry και οι προδιαγραφές χρήσης τους.

Όνομα	Περιγραφή	Προδιαγραφές	Χρόνος επώασης	Θερμοκρασία επώασης
Compact	Ποσοτικοποίηση	του Εγκεκριμένο από MicroVal	48 h	35 ± 2° C

Dry TC	συνολικού αριθμού αερόβιων μεσόφιλων	(certificate Nr. RQA2007LR01), NordVal (certificate Nr.033) and AOAC-RI (certificate Nr. 010404)		
Compact Dry YM	Τρισδιάστατη ανάπτυξη ζυμών και μούχλας	Εγκεκριμένο από AOAC-RI	3 – 7 d	25 – 30° C

Η μικροβιολογική ανάλυση έλαβε χώρα σε απαγωγό μικροβιολογίας (NÜVE MN 090 Microbiological Safety Cabinet) και πραγματοποιήθηκε εις τριπλούν για κάθε σκεύασμα. Τα βήματα που ακολουθήθηκαν για τη μικροβιολογική μελέτη είναι τα εξής:

- Αποστείρωση σε κλίβανο όλων των σκευών που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν στον μικροβιολογικό έλεγχο
- Παρασκευή διαλύματος Ringer με διάλυση μιας ταμπλέτας σε 500 mL απιονισμένο νερό
- Αποστείρωση του διαλύματος Ringer σε κλίβανο
- Επάλειψη των συσκευασιών που περιέχουν τα δείγματα με αιθανόλη πριν το άνοιγμά τους
- Λήψη 1g από κάθε κρέμα (αναφορά (A)) και δείγμα (B)) και διάλυσή τους σε 9 mL του αποστειρωμένου διαλύματος Ringer
- Ανάδευση του μίγματος στο Vortex (VORTEX-GENIE 2)
- Προσδιορισμός της μικροβιακής σταθερότητας με έλεγχο του ολικού μικροβιακού φορτίου και των ζυμών/μούχλων
- Για κάθε δείγμα οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν.
- Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε συνθήκες περιβάλλοντος.



Εικόνα 21 Απαγωγός μικροβιολογίας (NÜVE MN 090 Microbiological Safety Cabinet).



Εικόνα 22 Προετοιμασία για μικροβιολογική ανάλυση με χρήση Compact Dry.

Κάθε κατασκευαστής καλλυντικών στην Ευρωπαϊκή Ένωση έχει διπλή ευθύνη σε σχέση με τη μικροβιολογική ποιότητα των προϊόντων του (ISO/TR 19838:2016):

— Το πρώτο είναι να διασφαλιστεί ότι το προϊόν, όπως αγοράστηκε, είναι απαλλαγμένο από αριθμό ή/και τύπο μικροοργανισμών που θα ήταν επιβλαβή για την ποιότητα του προϊόντος και την υγεία του καταναλωτή. Αυτό γενικά διασφαλίζεται με την εφαρμογή ορθών πρακτικών παραγωγής (GMP) (ISO 22716:2007) κατά τις εργασίες κατασκευής και συσκευασίας και, εάν είναι απαραίτητο, με τη χρήση δοκιμών μικροβιακού περιεχομένου σε τελικά προϊόντα.

— Το δεύτερο είναι να διασφαλιστεί ότι οι μικροοργανισμοί που εισάγονται κατά την κανονική χρήση του προϊόντος δεν θα επηρεάσουν αρνητικά την ποιότητα ή την ασφάλεια του προϊόντος. Αυτό γενικά διασφαλίζεται με τη διεξαγωγή δοκιμών αποτελεσματικότητας συντήρησης (ή δοκιμών πρόκλησης) κατά το στάδιο ανάπτυξης του νέου προϊόντος.

— Τα προϊόντα που θεωρούνται ότι παρουσιάζουν χαμηλό μικροβιολογικό κίνδυνο περιγράφονται στο ISO 29621 (ISO 29621:2017). Αυτά τα προϊόντα που προσδιορίζονται ως «εχθρικά» και παράγονται σύμφωνα με την GMP ενέχουν πολύ χαμηλό συνολικό κίνδυνο για τον χρήστη. Επομένως, τα προϊόντα που συμμορφώνονται με τα χαρακτηριστικά που περιγράφονται στο ISO 29621 δεν απαιτούν μικροβιολογικές δοκιμές, συμπεριλαμβανομένων τόσο των δοκιμασιών πρόκλησης όσο και των δοκιμών τελικού προϊόντος.

— Για τα προϊόντα που δεν θεωρούνται «εχθρικά», η μικροβιολογική ποιότητα πρέπει να αξιολογηθεί με τη διεξαγωγή δοκιμών με κατάλληλες μεθόδους. Το ISO TC 217 παρέχει ένα ολοκληρωμένο σύνολο προτύπων για την αξιολόγηση της αντιμικροβιακής συντήρησης των καλλυντικών προϊόντων και της μικροβιολογικής ποιότητας των τελικών προϊόντων (μέθοδοι και όρια).

Οι μικροβιολογικές προδιαγραφές του τελικού καλλυντικοτεχνικού σκευάσματος πρέπει να περιλαμβάνουν τον συνολικό αριθμό αερόβιων μεσοφιλικών μικροοργανισμών, ο οποίος καλύπτει βακτήρια και ζύμες/μούχλες.

4.3 Δημιουργία φιλμ λεπτού υμενίου για χρήση ως υλικό συσκευασίας με ενσωμάτωση ενθυλακωμένου εκχυλίσματος φύλλων τομάτας

4.3.1 Μεθοδολογία παραγωγής φιλμ

Με βάση τη μελέτη του κεφαλαίου 3 για την ηλεκτροστατική ινοποίηση, βρέθηκαν οι βέλτιστες πειραματικές συνθήκες για την παραλαβή ομοιόμορφων ινών ζεΐνης με ενθυλακωμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας, προϊόν που συγκριτικά με την ενθυλάκωση του μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό, έδωσε σημαντικά καλύτερα αποτελέσματα τόσο όσον αφορά στην απόδοση ενθυλάκωσης όσο και τη σταθερότητα των δομών.

Στο πλαίσιο του παρόντος κεφαλαίου πραγματοποιήθηκε μία μελέτη για την πιθανή αξιοποίηση του φιλμ νανοϊνών σε συσκευασία τροφίμων και ειδικότερα λαχανικών και φρούτων. Για το σκοπό αυτό, ακολουθήθηκε η διαδικασία παραγωγής των νανοϊνών ζεΐνης με το εκχύλισμα των φύλλων τομάτας με βάση τη μελέτη του κεφαλαίου 3 με τη διαφορά ότι στην επιφάνεια του συλλέκτη τοποθετήθηκε φιλμ λεπτού υμενίου (διαξονικά προσανατολισμένο φιλμ πολυπροπυλενίου (PP)) πάνω στο οποίο σχηματίστηκε η μεμβράνη της ζεΐνης. Στη θέση του συλλέκτη τοποθετήθηκε αυτή τη φορά όχι ο επίπεδος αλλά ο κυλινδρικός συλλέκτης ο οποίος ρυθμίστηκε να περιστρέφεται στα 50 rpm με την επιφάνεια του να είναι καλυμμένη με το φιλμ πολυπροπυλενίου.

4.3.2 Μετ-επεξεργασία (Post-treatment)

Στη συνέχεια το φιλμ πολυπροπυλενίου με την επίστρωση των ινών ζεΐνης υποβλήθηκε σε μια μεταγενέστερη διεργασία (post treatment) με σκοπό την καλύτερη σύνδεση των δύο στρώσεων. Ειδικότερα το φιλμ εκτέθηκε σε ατμούς γλουταραλδεΐδης (GA) 25% v/v ως μέσο σύνδεσης και σε διάλυμα υδροχλωρικού οξέος (HCl) 35% v/v για να δημιουργηθούν οι απαραίτητες συνθήκες για κατάλυση. Για το σκοπό αυτό ένα δοχείο χωρίστηκε σε δύο μέρη με ένα πλέγμα. Στον πυθμένα τοποθετήθηκε ένα τρυβλίο Petri με το διάλυμα γλουταραλδεΐδης και ένα άλλο με το διάλυμα HCl. Στο επάνω μέρος η μεμβράνη με το φιλμ PP και τις ίνες ζεΐνης τοποθετήθηκε επίσης μέσα σε τρυβλίο Petri. Με αυτόν τον τρόπο, το φιλμ με την επίστρωση των νανοϊνών εκτέθηκε στους ατμούς, στο κλειστό δοχείο. Η παραμονή διήρκεσε 5 ώρες, ακολούθησε έκπλυση με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων (PBS) για την απομάκρυνση τυχόν υπολειμμάτων της GA και στη συνέχεια αφέθηκε να στεγνώσει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Τέλος, η μεμβράνη τοποθετήθηκε μεταξύ δύο στρώσεων Teflon και συμπίεστηκαν σε θερμή πρέσα στους 45 °C για 2 λεπτά ακολουθώντας μία διεργασία θερμικής ανόπτησης. Οι δύο θερμές πλάκες από την πρέσα τέθηκαν

σε επαφή στις καθορισμένες συνθήκες, αλλά δεν ασκήθηκε επιπλέον πίεση. Αυτές οι προϋποθέσεις ήταν επαρκείς για να εγγυηθούν την προσκόλληση μεταξύ της επικάλυψης ζεΐνης και του φιλμ PP (Moreno, Orqueda et al. 2019). Η θερμική κατεργασία αναφέρεται στη βιβλιογραφία ως μία βιώσιμη μέθοδος για τη βελτίωση των μηχανικών ιδιοτήτων και της θερμικής σταθερότητας καθώς ενισχύει την περιπλοκή των πολυμερικών αλυσίδων (Chee, de Lima et al. 2021).

4.3.3 Φυσικοχημικές ιδιότητες του παραγόμενου φιλμ

Το παραγόμενο φιλμ που προορίζεται για τη συσκευασία τροφίμων αξιολογήθηκαν ως προς τις μηχανικές τους ιδιότητες σε σχέση με το απλό φιλμ πολυπροπυλενίου. Με ειδικό μηχάνημα Universal Testing Machine (Zwick, Model 1120, Ulm, Germany) μετρήθηκαν η τάση και η επιμήκυνση (ASTM D 882 (machine direction), DIN 53455 (transverse direction)) και ο δυναμικός συντελεστής τριβής (ASTM D 1894) του φιλμ. Επιπλέον προσδιορίστηκε το πάχος του με χρήση ψηφιακού μικρομέτρου ακρίβειας 0,0001 mm, η θερμική συρρίκνωση με την τοποθέτηση φιλμ γνωστών διαστάσεων στους 120°C για 0,5h και μέτρηση της διαφοράς επιφάνειας ως προς τις αρχικές διαστάσεις (Cui, Tang et al. 2012) και η διαπερατότητα υδρατμών στους 23 °C και σχετική υγρασία 85% (ASTM E96). Για την μέτρηση της διαπερατότητας υδρατμών, το φιλμ στερεώθηκε στο άνοιγμα δοχείου αλουμινίου στον πυθμένα του οποίου τοποθετήθηκε silica gel για τη δημιουργία 0% σχετικής υγρασίας. Στη συνέχεια το δοχείο τοποθετήθηκε σε περιβάλλον θερμοκρασίας 23°C και σχετικής υγρασίας 85%. Το δοχείο παρέμεινε στο περιβάλλον αυτό για 2 εβδομάδες ενώ πραγματοποιούταν ζύγιση κάθε 48 ώρες (de Beukelaer, Hilhorst et al. 2022). Τέλος, η διαλυτότητα του φιλμ μετρήθηκε ως εξής: 1 γραμμάριο φιλμ τοποθετήθηκε σε ποτήρι ζέσεως μαζί με 50 mL απεσταγμένο νερό για 24 ώρες στους 25 °C. Στη συνέχεια το φιλμ ξηράθηκε στους 105 °C για 24 ώρες και ζυγίστηκε. Η διαλυτότητα υπολογίστηκε από τη διαφορά βάρους του φιλμ πριν και μετά την κατεργασία (Leceta, Guerrero et al. 2013).

4.3.4 Εφαρμογή συσκευασίας σε καρπούς τομάτας

Η τομάτα είναι ένα από τα πιο ευρέως καλλιεργούμενα και σημαντικά προϊόντα παγκοσμίως. Αποτελεί ζωτική πηγή πολλών θρεπτικών συστατικών και μετάλλων που ωφελούν τον ανθρώπινο οργανισμό (Paresah and Sarma 2018). Το βάρος, η σταθερότητα και το χρώμα είναι βασικοί δείκτες ποιότητας που επηρεάζονται από τις εργασίες μετά τη συγκομιδή (Kabir, Rasool et al. 2020, Al-Dairi, Pathare et al. 2021). Αυτές οι πτυχές ποιότητας επηρεάζουν την αποδοχή των καταναλωτών και συνεπώς την επιτυχημένη πώληση στην αγορά (Barrett, Beaulieu et al. 2010). Σε σύγκριση με άλλα φρούτα και λαχανικά, η τομάτα είναι ένα ευαίσθητο προϊόν που είναι εξαιρετικά ευπαθές λόγω κραδασμών και κρουστικού φορτίου κατά τη μεταφορά, τη διαδικασία αγοράς και τη θερμοκρασία αποθήκευσης (Al-Dairi, Pathare et al. 2021).

Στην παρούσα μελέτη νωπές τομάτες cherry απευθείας από τον αγρό στο προτελευταίο στάδιο της ωρίμανσης συσκευάστηκαν σε δύο είδη φιλμ: 1) απλό φιλμ πολυπροπυλενίου και 2) φιλμ πολυπροπυλενίου επικαλυμμένο με νανοϊνες ζεΐνης με εγκλεισμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας. Τα φιλμ, στην κάθε περίπτωση σφραγίστηκαν με απλή θερμοκόλληση.



Εικόνα 23 Τομάτες cherry συσκευασμένες σε απλό φιλμ λεπτού υμενίου και σε φιλμ με επικάλυψη με νανοϊνες με ενθυλακωμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας.

4.3.5 Φυσικοχημικός χαρακτηρισμός συσκευασμένων προϊόντων

Οι συσκευασμένες τομάτες αποθηκεύτηκαν σε τρεις συνθήκες (5 °C, περιβάλλοντος και 45 °C) και σχετική υγρασία $80 \pm 1\%$. Η σταθερότητα των τομάτων αξιολογήθηκε σε σχέση με την απώλεια βάρους, την μεταβολή του pH, του χρώματος, το μικροβιακό φορτίο και τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά. Η εφαρμογή συνθηκών συνήθους και επιταχυνόμενης γήρανσης είναι πολύ σημαντικές για την αξιολόγηση της σταθερότητας των τελικών προϊόντων. Οι συσκευασμένες τομάτες τοποθετήθηκαν σε ειδική συσκευή γήρανσης (TK 120 TEST CABINETS, Nüve Sanayi Malzemeleri İmalat ve Ticaret A.Ş.) για τους 45 °C και σε ψυγείο Elvem (για τους 5 °C). Οι αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν σε καθημερινές δειγματοληψίες εις τριπλούν.

4.3.5.1 Μέτρηση pH

Οι μετρήσεις της τιμής του pH πραγματοποιήθηκαν με χρήση ηλεκτρονικού pH-μέτρου (MARTINI Instruments 180 Bench Meter) στον χυμό τριών ντομάτων, που είχαν προηγουμένως ομογενοποιηθεί για 2 λεπτά με την βοήθεια του μηχανήματος BagMixer stomacher. Για το κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκαν τρεις μετρήσεις και υπολογίστηκε ο μέσος όρος τους.

4.3.5.2 Μέτρηση Χρώματος

Οι μεταβολές του χρώματος των προϊόντων μετρήθηκαν με χρήση φωτόμετρου MiniScan XE (Hunter Associates Laboratory Inc, Reston, Virginia), με διάφραγμα κεφαλής μέτρησης διαμέτρου 4 mm. Για την διεξαγωγή αξιόπιστου και επαναλήψιμου πειράματος από κάθε δείγμα της παρούσας μελέτης επιλέχθηκαν 3 τομάτες τυχαία οι οποίες μαρκαρίστηκαν και σε αυτές γινόταν ανά τακτά χρονικά διαστήματα ο χρωματικός έλεγχος καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης. Για κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκαν 8 μετρήσεις και το τελικό αποτέλεσμα αποτελεί τον μέσο όρο αυτών των μετρήσεων. Για τον προσδιορισμό του χρώματος, χρησιμοποιήθηκε το χρωματικό μοντέλο CIELab ή

L*,a*,b* με τη μεταβολή χρώματος από το συνδυασμό των παραμέτρων του μοντέλου να υπολογίζεται μέσω της εξίσωσης 1 (βλ. υποενότητα 4.2.3).

4.3.5.3 Μέτρηση απώλειας Βάρους

Η απώλεια βάρους των δειγμάτων μετρήθηκε με απευθείας ζύγιση των συσκευασιών με την χρήση του ζυγού Kern 440-49N σε τακτά χρονικά διαστήματα.

4.3.5.4 Μικροβιολογική Ανάλυση

Για τον υπολογισμό του μικροβιακού φορτίου στα δείγματα εφαρμόστηκε η μέθοδος επιφανειακής επιστρώσης σε τρυβλία (Compact Dry plates) και πραγματοποιήθηκε ανίχνευση των αποικιών ζυμών και μούχλας (yeast and mold (YM)) αλλά και ολικού μικροβιακού φορτίου (Total Count (TC)) με τα βήματα της μελέτης να είναι τα ίδια με αυτά που ακολουθήθηκαν και στην περίπτωση του καλλυντικού σκευάσματος που μελετήθηκε νωρίτερα (βλ. Υποενότητα 4.2.5). Η διαφοροποίηση σε σχέση με την προηγούμενη μελέτη έγκειται στο διαφορετικό δείγμα, καθώς στην περίπτωση αυτή μελετήθηκε σε βάθος χρόνου η μικροβιολογική αρτιότητα τομάτων που συσκευάστηκαν με το φιλμ με το ενθυλακωμένο εκχύλισμα. Για το σκοπό αυτό, για την κάθε μέτρηση χρησιμοποιήθηκε χυμός από τρεις τομάτες, οι οποίες είχαν προηγουμένως ομογενοποιηθεί για 2 λεπτά με την βοήθεια του μηχανήματος BagMixer stomacher. Στην συνέχεια, γινόταν λήψη 1 mL χυμού και ανάμιξή του με αποστειρωμένο διάλυμα ginger σε αναλογία 1:10 ακολουθώντας στη συνέχεια τα βήματα μελέτης που πραγματοποιήθηκαν και για την κρέμα με την

4.3.5.5 Οργανοληπτικός Έλεγχος

Ταυτόχρονα με τις δειγματοληψίες για τις αναλύσεις που προαναφέρθηκαν πραγματοποιήθηκε επιπλέον οργανοληπτική αξιολόγηση βασικών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, όπως η εμφάνιση, το χρώμα, το άρωμα, η γεύση και η συνολική αποδοχή. Η οργανοληπτική αξιολόγηση διεξήχθη από 10 μέλη της ερευνητικής ομάδας του Εργαστηρίου Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών του ΕΜΠ. Ο δοκιμαστικός έλεγχος κατέγραψε τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τομάτων σε κλίμακα αξιολόγησης από το 1 έως το 9. Ο βαθμός 1 αποτελεί την απόλυτη αρνητική βαθμολογία και το 9 την απόλυτη θετική βαθμολογία όσον αφορά κριτήρια με θετική χροιά όπως γλυκύτητα. Αντίθετα για κριτήρια με αρνητική χροιά, όπως πικρότητα, το 1 αποτελεί την απόλυτα θετική βαθμολογία και το 9 την απόλυτα αρνητική. Και στις δύο περιπτώσεις ο βαθμός 1 αντιστοιχεί στον χαρακτηρισμό «καθόλου», ενώ το 9 στο «εξαιρετικά πολύ», όμως η φυσική σημασία των 2 εννοιών διαφέρει απόλυτα αναλόγως τη φύση του κριτηρίου, το οποίο αξιολογείται. Ο συνολικός βαθμός 5/9 θεωρήθηκε ως η μέση βαθμολογία για την ελάχιστη αποδοχή του προϊόντος.

4.4 Αποτελέσματα

4.4.1 Αξιολόγηση καλλυντικής κρέμας με νανοσωματίδια ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος

Στους ακόλουθους πίνακες παρατίθενται οι πρωταρχικές παρατηρήσεις που έγιναν για τα δείγματα τόσο της κρέμας βάσης όσο και της κρέμας με τα νανοσωματίδια δεοξυχολικού οξέος μετά την παραγωγή τους αλλά και μετά από την αποθήκευση σε διαφορετικές θερμοκρασίες για ορισμένο χρόνο.

Πίνακας 34 Ποιοτικά χαρακτηριστικά καλλυντικής κρέμας με τα νανοσωματίδια ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος σε ζεϊνή μία ημέρα μετά την παρασκευή.

24h από την παραγωγή		
Εμφάνιση	Ομοιογενές γαλάκτωμα-ιξώδες-χωρίς άρωμα	Ομοιογενές γαλάκτωμα-ιξώδες-χωρίς άρωμα
Χρώμα	Λευκό	Λευκό
Οσμή	Χωρίς άρωμα	Χωρίς άρωμα
Φυγοκέντρωση	Μη διαχωρισμός	Μη διαχωρισμός

Πίνακας 35 Διαμόρφωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών της καλλυντικής κρέμας χωρίς βιοδρατικό (Α) και με τα νανοσωματίδια ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος σε ζεϊνή (Β) μετά από αποθήκευσή τους σε διαφορετικές θερμοκρασίες για διάστημα 3 μηνών.

3 μήνες	Α				Β			
	5 ° C	25 ° C	37 ° C	45 ° C	5 ° C	25 ° C	37 ° C	45 ° C
Εμφάνιση	Ομοιογενές μέσο-ιξώδες γαλάκτωμα	Ομοιογενές μέσο-ιξώδες γαλάκτωμα	Ομοιογενές μέσο-ιξώδες γαλάκτωμα	Ομοιογενές μέσο-ιξώδες γαλάκτωμα	Ομοιογενές μέσο-ιξώδες γαλάκτωμα	Ομοιογενές μέσο-ιξώδες γαλάκτωμα	Ομοιογενές μέσο-ιξώδες γαλάκτωμα	Ομοιογενές μέσο-ιξώδες γαλάκτωμα
Οσμή	Χωρίς άρωμα	Χωρίς άρωμα	Πολύ ελαφριά οσμή λόγω της βάσης	Πολύ ελαφριά οσμή λόγω της βάσης	Χωρίς άρωμα	Χωρίς άρωμα	Ελαφριά οσμή λόγω της ζεϊνης	Ελαφριά οσμή λόγω της ζεϊνης
Χρώμα	Λευκό	Υπόλευκο/πολύ απαλό κίτρινο	Πολύ απαλό κίτρινο	Πολύ απαλό κίτρινο	Πολύ απαλό κίτρινο	Απαλό κίτρινο	Ελαφρώς κίτρινο-ροζ	Ελαφρώς κίτρινο-ροζ
Φυγοκέντρωση	Μη διαχωρισμός	Μη διαχωρισμός	Μη διαχωρισμός	Μη διαχωρισμός	Μη διαχωρισμός	Μη διαχωρισμός	Μη διαχωρισμός	Μη διαχωρισμός



Εικόνα 24 Ενδεικτική απεικόνιση της κρέμας με τα νανοσωματίδια δεοξυχολικού οξέος μετά την παραγωγή (αριστερά) και μετά από 3 μήνες παραμονής στους 45 °C (δεξιά).

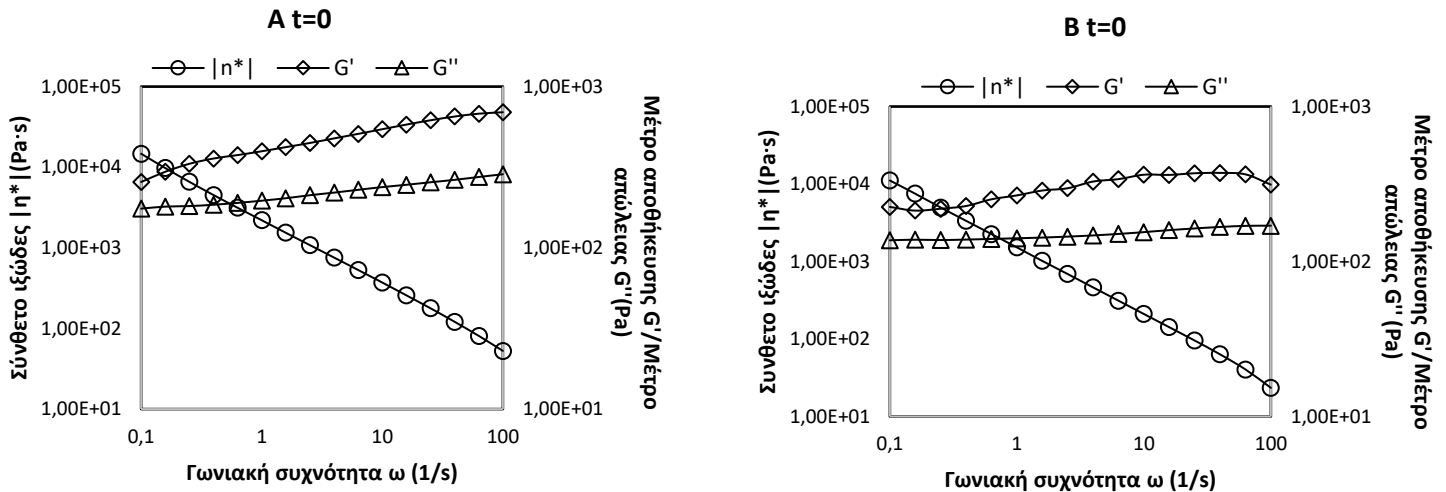
Και για τις δύο κρέμες δεν παρατηρήθηκε διαχωρισμός ή ανομοιομορφία στην εμφάνιση. Η μόνη διαφοροποίηση ήταν η μικρή αλλαγή στο χρώμα που έγινε αισθητή περισσότερο στο δείγμα με τα νανοσωματίδια και για τις δύο υψηλότερες θερμοκρασίες αποθήκευσης. Για τα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε περαιτέρω αξιολόγηση της ρεολογίας, του χρώματος αλλά και μέτρηση του pH.

4.4.1.1 Δυναμική μηχανική ανάλυση (DMA)

Τα ρεολογικά χαρακτηριστικά, αποτελούν βασικό κριτήριο για την εκτίμηση της συμπεριφοράς που θα είχε μία καλλυντική κρέμα κατά την εφαρμογή της στο δέρμα. Κατά συνέπεια, η μέτρηση των ρεολογικών παραμέτρων αποκαλύπτει σημαντικές πληροφορίες για τη σταθερότητα και τη δομή του σκευάσματος (Ibanescu, Danu et al. 2010). Στο πλαίσιο αυτό για τη παρούσα μελέτη προσδιορίστηκαν ο συντελεστής αποθήκευσης G' , ο συντελεστής απώλειας G'' και το σύνθετο ιξώδες η^* . Η σταθερότητα των καλλυντικών σκευασμάτων υφίστανται ως συνέπεια των διαμοριακών δυνάμεων αλληλεπίδρασης που σχηματίζουν ένα τρισδιάστατο δίκτυο. Μία βασική ένδειξη σταθερότητας αποτελεί το μέτρο αποθήκευσης G' σε όλο το εύρος συχνοτήτων να είναι μεγαλύτερο του μέτρου απωλειών ($G' > G''$ για όλα τα ω).

Η τιμή G' σε διαφορετικές γωνιακές συχνότητες παρέχει πολύτιμες πληροφορίες για διαφορετικές καταστάσεις του δείγματος. Σε χαμηλή γωνιακή συχνότητα ($\omega \leq 0,1$ 1/s) δίνει πληροφορίες σχετικά με τη συμπεριφορά του δείγματος «σε ηρεμία» (G'_0). Σε αυτό το εύρος συχνοτήτων, για τέτοια προϊόντα, η καμπύλη G' κανονικά θα πρέπει να δείχνει μόνο μια πολύ μικρή κλίση. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η προϋπόθεση $G' > G''$ πληρείται και ότι η δοκιμή εκτελείται στο LVR (Linear Viscoelastic Range= υποδεικνύει το εύρος στο οποίο μπορεί να πραγματοποιηθεί η δοκιμή χωρίς να καταστραφεί η δομή του δείγματος) (Simões, Miranda et al. 2020), υπάρχει εμπειρικός κανόνας, που εφαρμόζεται σε πολλά καλλυντικά σκευάσματα. Σύμφωνα με αυτόν τον κανόνα, εάν $G' \geq 10$ Pa, μπορεί να θεωρηθεί μια ορισμένη σταθερότητα διασποράς ή σταθερότητα πηκτής, εάν $G' \leq 1$ Pa η σταθερότητα που σχετίζεται με την πρακτική χρήση δεν υφίσταται ενώ για μια τιμή G' μεταξύ των προαναφερθέντων ορίων, θα πρέπει να γίνουν περαιτέρω δοκιμές (π.χ. τάση διαρροής και σημείο ροής) (Ibanescu, Danu et al. 2010, Kalouta, Eleni et al. 2020). Οι χαμηλές τιμές παραμόρφωσης όταν συνδυάζονται με χαμηλές τιμές G' και G'' αποτελούν ένδειξη ομαλής αίσθησης και παρουσιάζονται σε «μαλακές» κρέμες. Από την άλλη πλευρά, οι «σκληρές» κρέμες απαιτούν εξίσου χαμηλές τιμές παραμόρφωσης για να εξαπλωθούν στην επιφάνεια του δέρματος, αλλά οι υψηλότερες τιμές G' και G'' υποδηλώνουν μία αίσθηση σκληρότητας. Συνεπώς, υπάρχει μια ανάγκη στη γνώση των ιξωδοελαστικών παραμέτρων των καλλυντικών σκευασμάτων καθώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την πρόβλεψη των επιδόσεων διαφορετικών κρεμών.

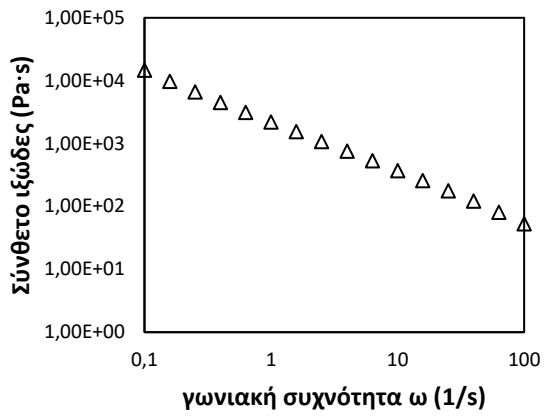
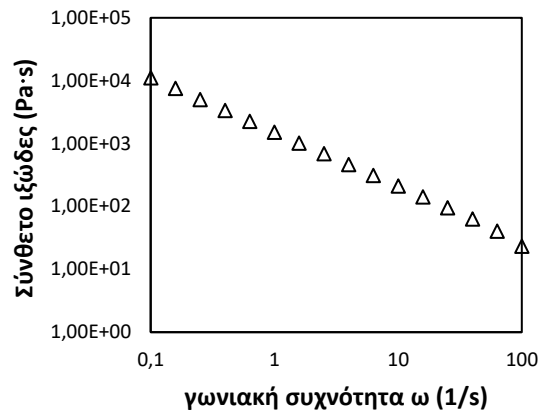
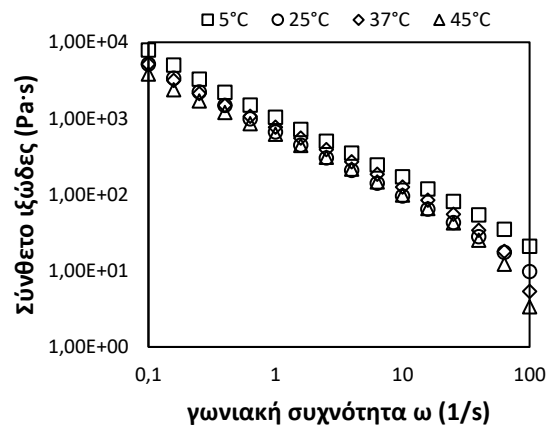
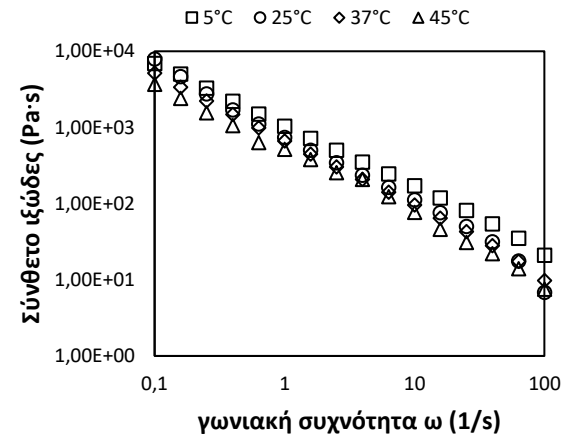
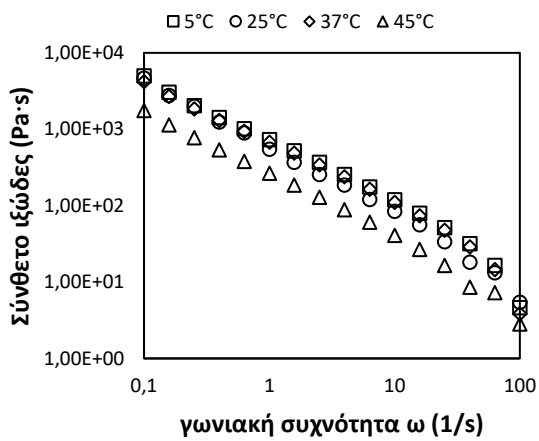
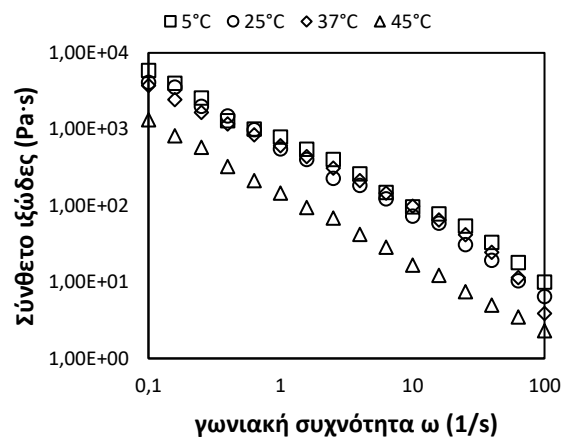
Στα ακόλουθα διαγράμματα απεικονίζονται οι τιμές των ιξωδοελαστικών παραμέτρων που προσδιορίστηκαν μέσω της μεθόδου DMA για καλλυντικό σκεύασμα με ενσωματωμένα νανοσωματίδια ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος (δείγμα Β) σε σχέση με την αντίστοιχη κρέμα βάση χωρίς την προσθήκη του συστατικού (δείγμα αναφοράς Α).

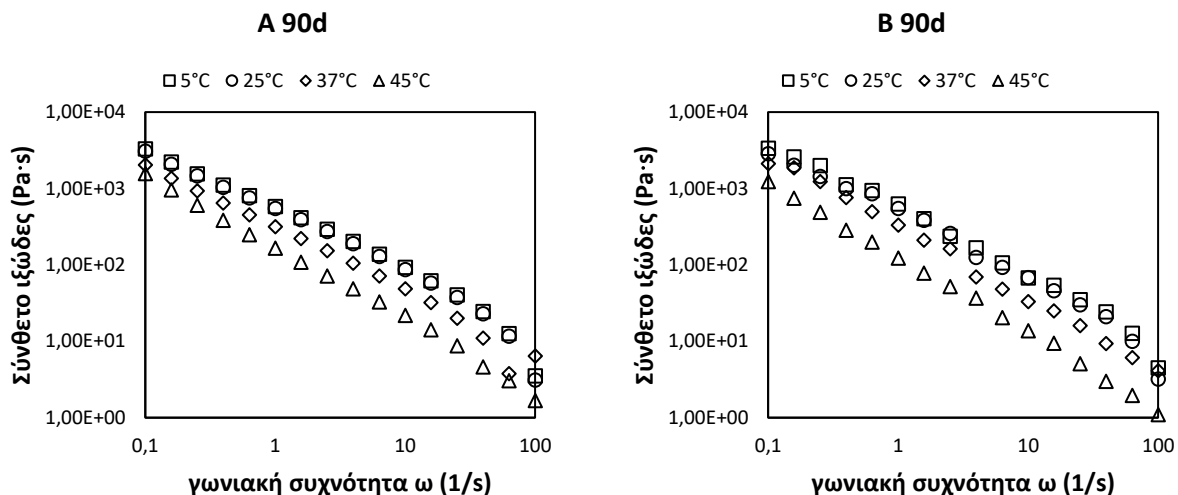


Σχήμα 27 Απεικόνιση του σύνθετου ιξώδους η^* και των μέτρων αποθήκευσης G' και απώλειας G'' για καλλυντική κρέμα βάση (Α) και την ίδια καλλυντική κρέμα μετά από ενσωμάτωση του ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος (Β) για όλο το εύρος γωνιακών συχνοτήτων ω σε χρόνο μηδέν.

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 27 η μορφή του διαγράμματος για τα δείγματα Α και Β είναι η ίδια. Επίσης, πληρούνται οι προϋποθέσεις $G' > G''$ και $G' > 1$ Pa, και στα δύο γραφήματα για όλες τις διαφορετικές γωνιακές συχνότητες που εφαρμόστηκαν. Τέλος, για $\omega=0,1$ 1/s το δείγμα Β έδειξε $G'_0=225$ Pa ($G' \geq 10$ Pa) και σύνθετο ιξώδες $|\eta^*|=11,1$ MPa·s. Αν και πρέπει να αναφερθεί ότι η ενσωμάτωση του ενθυλακωμένου συστατικού στην κρέμα βάση είχε ως αποτέλεσμα μείωση και στις τρεις παραμέτρους, δεν παρέκκλιε από τις απαιτούμενες συνθήκες για ένα καλλυντικό σκεύασμα. Συνολικά, η ανάλυση έδειξε ότι το δείγμα με το ενθυλακωμένο δεοξυχολικό οξύ είχε κατάλληλη συνοχή και ικανοποιητική σταθερότητα για πρακτική εφαρμογή ($G' \geq 10$ Pa και $G' > G''$ για όλες τις γωνιακές συχνότητες).

Στα ακόλουθα διαγράμματα παρατίθενται οι μετρήσεις του σύνθετου ιξώδους με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης της κρέμα χωρίς (Α) και με τα νανοσωματίδια ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος (Β) σε όλες τις θερμοκρασίες αποθήκευσης.

A t=0**B t=0****A 30d****B 30d****A 60d****B 60d**



Σχήμα 28 Σύνθετο ιξώδες σε όλο το εύρος της επιβαλλόμενης γωνιακής συχνότητας για την καλλυντική κρέμα βάση (A) και την ίδια κρέμα με τα ενσωματωμένα νανοσωματίδια ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος στις διαφορετικές θερμοκρασίες και χρόνους αποθήκευσης.

Από τα αποτελέσματα της ανάλυσης των ρεολογικών παραμέτρων των δειγμάτων A και B, παρατηρείται ότι η ενσωμάτωση της σκόνης με το ενθυλακωμένο δεοξυχολικό οξύ δεν επέφερε ιδιαίτερες διαφοροποιήσεις στο σύνθετο ιξώδες της κρέμας. Επιπλέον παρατηρήθηκαν μικρές διαφοροποιήσεις των τιμών του σύνθετου ιξώδους για το εύρος θερμοκρασιών 5-37°C ενώ σημαντικότερη μείωση καταγράφηκε για το δείγμα που αποθηκεύτηκε στους 45°C και για τα δύο δείγματα. Ειδικότερα για την μέτρηση στις 30 ημέρες αποθήκευσης, το σύνολο των δειγμάτων έδωσε παρόμοιες τιμές σύνθετου ιξώδους ανεξαρτήτως της θερμοκρασίας αποθήκευσης. Με την πάροδο του χρόνου οι μειώσεις στις τιμές του σύνθετου ιξώδους σε σχέση με το χρόνο μηδέν έγιναν μεγαλύτερες, με αποκορύφωμα τη μέτρηση στις 90 ημέρες όπου μετρήθηκαν ειδικά για το δείγμα στους 45 °C πολύ μικρότερες τιμές σε σχέση με την μέτρηση μετά την παρασκευή. Η μείωση αυτή υποδεικνύει την υποβάθμιση του προϊόντος. Οι Kalouta et al. πραγματοποίησε ενθυλάκωση εκχυλισμάτων tea tree oil και φλούδας ροδιού σε κυκλοδεξτρίνη μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης και στη συνέχεια ενσωμάτωσε τα προϊόντα ενθυλάκωσης σε καλλυντική κρέμα για τοπική χρήση. Η μελέτη των ρεολογικών χαρακτηριστικών της κρέμας μέσω της μεθόδου DMA έδειξε μείωση του σύνθετου ιξώδους με την αύξηση της θερμοκρασίας και ιδίως για την αποθήκευση στους 45 °C και χρόνο 50 ημερών. Η αποθήκευση για μικρότερο χρόνο (0-30 ημέρες) δεν έδειξε σημαντικές διαφορές, ανεξαρτήτως της θερμοκρασίας αποθήκευσης. Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με την παρούσα μελέτη (Kalouta, Eleni et al. 2020).

4.4.1.2 Μέτρηση οξύτητας (pH)

Το pH των καλλυντικών σκευασμάτων αποτελεί πολύ σημαντική παράμετρο τόσο ως προς την αποτελεσματικότητα όσο και ως προς το να είναι αποδεκτά και ακίνδυνα στην εφαρμογή τους. Το pH της επιδερμίδας είναι όξινο με, ωστόσο, ευρύ φάσμα τιμών (4 με 6) και ρυθμίζει τη σύσταση της

φυσιολογικής μικροχλωρίδας που υπάρχει στο δέρμα και είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της υγείας του. Πρόκειται, επίσης, για ένα μέγεθος που επηρεάζεται από μεγάλο αριθμό ενδογενών παραγόντων, π.χ. υγρασία δέρματος, ιδρώτας, σμήγμα, ανατομική θέση, γενετική προδιάθεση, φύλο και ηλικία. Επιπλέον, εξωγενείς παράγοντες όπως τα απορρυπαντικά, η εφαρμογή καλλυντικών προϊόντων καθώς και τα τοπικά αντιβιοτικά μπορεί να επηρεάσουν το pH του δέρματος (Schmid-Wendtner and Korting 2006, Kuo, Shen et al. 2020).

Πίνακας 36. Μετρήσεις pH σε χρόνους t=0, 30, 60 και 90 ημέρες και θερμοκρασίες 5 °C, 25 °C, 37 °C και 45 °C.

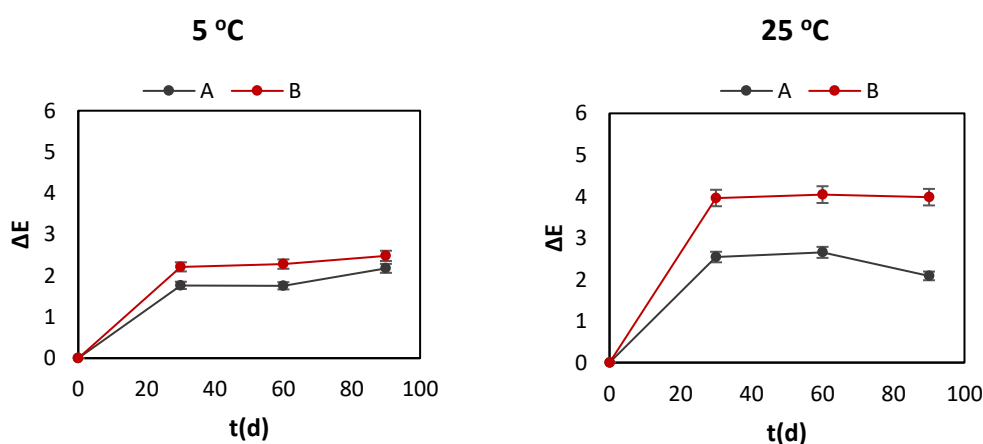
Θερμοκρασία T (°C)	Δείγμα*	pH (t=0 ημέρες)	pH (t=30 ημέρες)	pH (t=60 ημέρες)	pH (t=90 ημέρες)
5 °C	A	5,00	4,93	5,01	4,88
	B	4,54	4,47	4,64	4,51
25 °C	A	5,00	4,98	4,98	4,83
	B	4,54	4,49	4,63	4,52
37 °C	A	5,00	4,97	4,98	4,83
	B	4,54	4,45	4,61	4,49
45 °C	A	5,00	4,94	4,94	4,79
	B	4,54	4,45	4,61	4,49

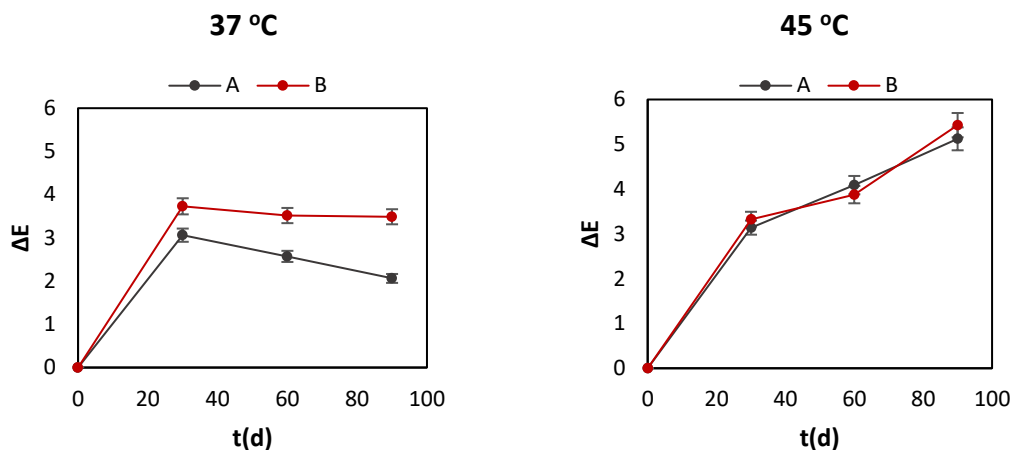
*αναφέρεται ότι όλα τα δείγματα βρίσκονταν σε θερμοκρασίες 21-25 °C όταν διενεργήθηκε η μέτρηση του pH.

Οι μετρήσεις των δειγμάτων A και B στην παρούσα μελέτη έδειξαν ότι το pH εμφάνισε μια μικρή αυξομείωση της τιμής του σε όλες τις περιπτώσεις. Οι τιμές κυμάνθηκαν στα 4,45-5 για όλα τα δείγματα, δηλαδή εντός του εύρους pH του υγιούς δέρματος του προσώπου (Luebbeking, Krueger et al. 2013).

4.4.1.3 Μέτρηση χρώματος

Ως πρότυπο δείγμα για την πραγματοποίηση των μετρήσεων χρησιμοποιήθηκε η μέτρηση χρώματος στο χρόνο μηδέν.





Σχήμα 29 Απεικόνιση της μεταβολής χρώματος ΔΕ της καλλυντικής κρέμας βάση (Α) και της κρέμας με το ενθυλακωμένο δεοξυχολικό οξύ (Β) κατά την αποθήκευση σε θερμοκρασίες 5, 25, 37 και 45 °C για διάστημα 3 μηνών.

Όπως φαίνεται από τα διαγράμματα που προηγήθηκαν το δείγμα με το εγκλεισμένο δεοξυχολικό οξύ εμφάνισε συνολικά μεγαλύτερη μεταβολή χρώματος με την πάροδο του χρόνου σε σχέση με την κρέμα βάση για όλες τις θερμοκρασίες αποθήκευσης, εκτός από τους 45 °C που και τα δύο δείγματα έδειξα αντίστοιχη μεταβολή και συνολικά την μεγαλύτερη απόκλιση από το χρόνο μηδέν. Οι μεταβολές στο χρώμα της κρέμας, μπορεί να οφείλονται σε χημικές αλληλεπιδράσεις των συστατικών της, όπως σε οξείδωση ή συσσωματώσεις τους.

4.4.1.4 Μικροβιολογική ανάλυση

Στον ακόλουθο πίνακα παρατίθενται τα αποτελέσματα της μελέτης μικροβιολογικής αρτιότητας της κρέμας βάσης (Α) και της κρέμας με το εγκλεισμένο δεοξυχολικό οξύ (Β) μετά από 1, 2 και 3 μήνες αποθήκευσης στις μελετούμενες θερμοκρασίες. Τα όρια ασφαλείας για τη μικροβιακή αρτιότητα βασίστηκαν σε διεθνή πρότυπα και στην Ευρωπαϊκή νομοθεσία (ISO 21150:2015, ISO 16212:2017):

Πίνακας 37 Αποτελέσματα μικροβιολογικής ανάλυσης κρεμών αποθηκευμένων στους 5 °C, 25 °C, 37 °C και 45 °C για διάστημα t=30 d.

Θερμοκρασία T (°C)	Δείγμα	Ολικό μικροβιακό φορτίο	Ζύμες/ Μούχλες
5 °C	A	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
	B	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
25 °C	A	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
	B	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
37 °C	A	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
	B	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
45 °C	A	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
	B	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g

Πίνακας 38 Αποτελέσματα μικροβιολογικής ανάλυσης κρεμών αποθηκευμένων στους 5 °C, 25 °C, 37 °C και 45 °C για διάστημα t=60 d.

Θερμοκρασία T (°C)	Δείγμα	Ολικό μικροβιακό φορτίο	Ζύμες/ Μούχλες
5 °C	A	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
	B	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
25 °C	A	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
	B	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
37 °C	A	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
	B	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
45 °C	A	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
	B	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g

Πίνακας 39 Αποτελέσματα μικροβιολογικής ανάλυσης κρεμών αποθηκευμένων στους 5 °C, 25 °C, 37 °C και 45 °C για διάστημα t=90 d.

Θερμοκρασία T (°C)	Δείγμα	Ολικό μικροβιακό φορτίο	Ζύμες/ Μούχλες
5 °C	A	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
	B	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
25 °C	A	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
	B	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
37 °C	A	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
	B	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
45 °C	A	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g
	B	<2 log cfu/g	<1 log cfu/g

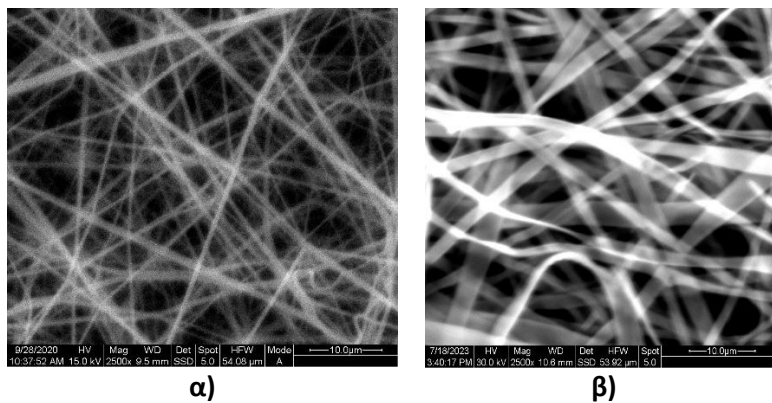
Από τους παραπάνω πίνακες, φαίνεται ότι το μικροβιακό φορτίο των δειγμάτων παρέμεινε μικροβιολογικά σταθερό ανάμεσα στους διαφορετικούς χρόνους και στις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι η ενσωμάτωση των νανοσωματιδίων με τα εγκλεισμένα συστατικά δεν επηρέασε το μικροβιακό φορτίο των κρεμών. Σε αυτό, ενδεχομένως συντέλεσε και η αντιμικροβιακή δράση της ίδιας της ζεΐνης που έχει διαπιστωθεί σε διάφορες μελέτες (Gonçalves, Torres et al. 2020, Zhou and Wang 2021).

Με βάση τα πρότυπα για την ασφάλεια σε σχέση με την υγιεινή και ποιότητα των καλλυντικών προϊόντων ισχύει για το μικροβιακό φορτίο ότι προϊόντα που προορίζονται για την ευαίσθητη περιοχή των ματιών, των βλενογόννων ή για παιδιά κάτω των τριών ετών πρέπει να περιέχουν κάτω από 100 cfu/g (ή 2 log cfu/g) όσον αφορά στο ολικό μικροβιακό φορτίο και 10 cfu/g (ή 1 log cfu/g) για τις Ζύμες/Μούχλες. Σύμφωνα λοιπόν με τα αποτελέσματα που απεικονίζονται στους παραπάνω πίνακες και τα αντίστοιχα πρότυπα, συμπεραίνουμε ότι και τα δύο δείγματα συμβαδίζουν με τα πρότυπα ασφαλείας για καλλυντικά προϊόντα (The United States Pharmacopeial 2011).

4.4.2 Αξιολόγηση φιλμ με ενθυλακωμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας

4.4.2.1 Κατεργασία μετά την ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία

Όπως αναφέρθηκε στην υπενότητα 4.3.2, το φιλμ δύο στρώσεων (πολυπροπυλενίου και νανοϊνών ζεΐνης με το ενθυλακωμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας) υπέστη χημική και θερμική κατεργασία με σκοπό την καλύτερη σύνδεση των δύο στρωμάτων. Μετά την κατεργασία το φιλμ αξιολογήθηκε ως προς την απόδοση εγκλεισμού και τη μορφολογία των ινών ώστε να εκτιμηθεί η απώλεια δραστικής ουσίας και η τυχόν αλλοίωση της δομής των νανοϊνών. Για την μέτρηση του απελευθερωμένου εκχυλίσματος ακολουθήθηκε η διαδικασία που αναλύθηκε στο Κεφάλαιο 3 για την απόδοση ενθυλάκωσης (βλ. υποενότητα 3.4.1.2) με ανίχνευση του ολικού φαινολικού φορτίου ενώ η μορφολογία των ινών παρατηρήθηκε στο SEM. Η απώλεια σε δραστική μετρήθηκε στο $4,6 \pm 0,14\%$ ενώ η μορφή των ινών μετά την επίδραση της κατεργασία απεικονίζεται στη συνέχεια.



Εικόνα 25 Απεικόνιση SEM των νανοϊνών ζεΐνης με το ενθυλακωμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας α) πριν και β) μετά το post-treatment.

Η παρατήρηση της μορφολογίας του φιλμ στο SEM έδειξε ότι οι δομές διατήρησαν την ινώδη μορφή τους, παρουσιάζοντας ωστόσο σημαντική διαπλάτυνση και αυξημένη ελαστικότητα σε σχέση με τις εικόνες τους απευθείας μετά την ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία. Η διάμετρος των νανοϊνών αυξήθηκε λόγω της απελευθέρωσης τάσης κατά τη θέρμανση η οποία προκάλεσε τον προσανατολισμό των πολυμερών αλυσίδων σε αξονικό επίπεδο, ακολουθούμενη από διαστολή στην οριζόντια κατεύθυνση. Είναι πιθανό επίσης οι λεπτότερες ίνες να παρουσιάζουν διαφορετική συμπεριφορά όταν βρίσκονται υπό ανόπτηση οδηγώντας σε συσσωμάτωσή τους. Ωστόσο, το φαινόμενο αυτό, παρατηρείται σύμφωνα με τη βιβλιογραφία στις περιπτώσεις θερμικής ανόπτησης σε υψηλές θερμοκρασίες ή για υλικά με χαμηλότερο σημείο υαλώδους μετάπτωσης (Chee, de Lima et al. 2021). Οι Inukai et al. εφάρμοσαν τη διεργασία της θερμικής ανόπτησης για να βελτιώσουν τις μηχανικές ιδιότητες μεμβράνης κυτταρίνης προερχόμενης από ηλεκτροστατική ινοποίηση για χρήση της ως υλικού ενίσχυσης (Inukai, Kurokawa et al. 2018). Επιπλέον οι Chen et al. πραγματοποίησαν θερμική ανόπτηση σε φιλμ νανοϊνών πολυεστέρα και παρατήρησαν μείωση της

επιφανειακής τραχύτητας του φιλμ (Chen, Chen et al. 2014) ενώ οι Tijing et al. αναφέρονται στην εφαρμογή του heat pressing για τις μεμβράνες της ηλεκτροστατικής ινοποίησης, ως μία απλή και αποτελεσματική μέθοδο για την βελτίωση της αγωγιμότητας των υλικών για χρήση σε καύσιμα αλλά και της ευαισθησίας νανοσύνθετων υλικών για εφαρμογές στη βιοανίχνευση (Tijing, Woo et al. 2017). Τέλος οι Hochheim et al. εφάρμοσαν θερμική ανόπτηση σε νανοϊνες ζεΐνης με εγκλεισμένη πρόπολη για την αξιοποίηση του φιλμ σε βιοϊατρικές εφαρμογές, και παρατήρησαν την αύξηση της υδροφοβικότητας του υλικού λόγω της κατεργασίας (Hochheim, Sampiao et al. 2023).

4.4.2.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες φιλμ

Το φιλμ που παράχθηκε με την επικάλυψη του κοινού φιλμ πολυπροπυλενίου μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης αξιολογήθηκε ως προς τις μηχανικές του ιδιότητες. Στον ακόλουθο πίνακα συνοψίζονται οι ιδιότητες αυτές σε σχέση με τις αντίστοιχες για το κοινό φιλμ λεπτού υμενίου.

Πίνακας 40 Μηχανικές ιδιότητες κοινού φιλμ λεπτού υμενίου και επικαλυμμένου με νανοϊνες ζεΐνης με το ενθυλακωμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης.

Ιδιότητα	Απλό φιλμ PP	Επικαλυμμένο φιλμ PP με νανοϊνες ζεΐνης
Πάχος (μm)	30,3 ± 0,2	38,0 ± 0,4
Τάση εφελκυσμού (N/mm ²)	MD ¹	140 ± 2,8
	TD ²	270 ± 9,3
Επιμήκυνση στο σημείο θραύσης (%)	MD	200 ± 12
	TD	50 ± 0,7
Θερμική συρρίκνωση (%)	4,3 ± 0,2	6,1 ± 0,5
Δυναμικός συντελεστής τριβής	0,3 ± 0,02	0,6 ± 0,04
Διαπερατότητα υδρατμών (g/m ² d)	1,3 ± 0,04	0,6 ± 0,03
Διαλυτότητα στο νερό (%)	Αδιάλυτο	2,4 ± 0,052

Όπως φαίνεται από τις ιδιότητες του φιλμ, πρόκειται για ένα υλικό πάχους περίπου 38 μm με υψηλή αντοχή στην επιμήκυνση και θραύση και μικρή διαπερατότητα σε νερό. Οι μηχανικές ιδιότητες που μετρήθηκαν για το φιλμ με το επιπλέον στρώμα ζεΐνης βρίσκονται πολύ κοντά σε αυτές του απλού φιλμ πριν την κατεργασία και είναι επίσης σε συμφωνία με αντίστοιχες βιβλιογραφικές τιμές για φιλμ πολυπροπυλενίου (Rodrigues, Quevedo et al. 2020). Το γεγονός αυτό δείχνει ότι οι επεξεργασίες που πραγματοποιήθηκαν με την επικάλυψη του φιλμ με το επιπλέον στρώμα ζεΐνης με το ενθυλακωμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας και η μετ-επεξεργασία που

¹ Machine direction: κατεύθυνση που ξετυλίγεται το ρολό του πλαστικού

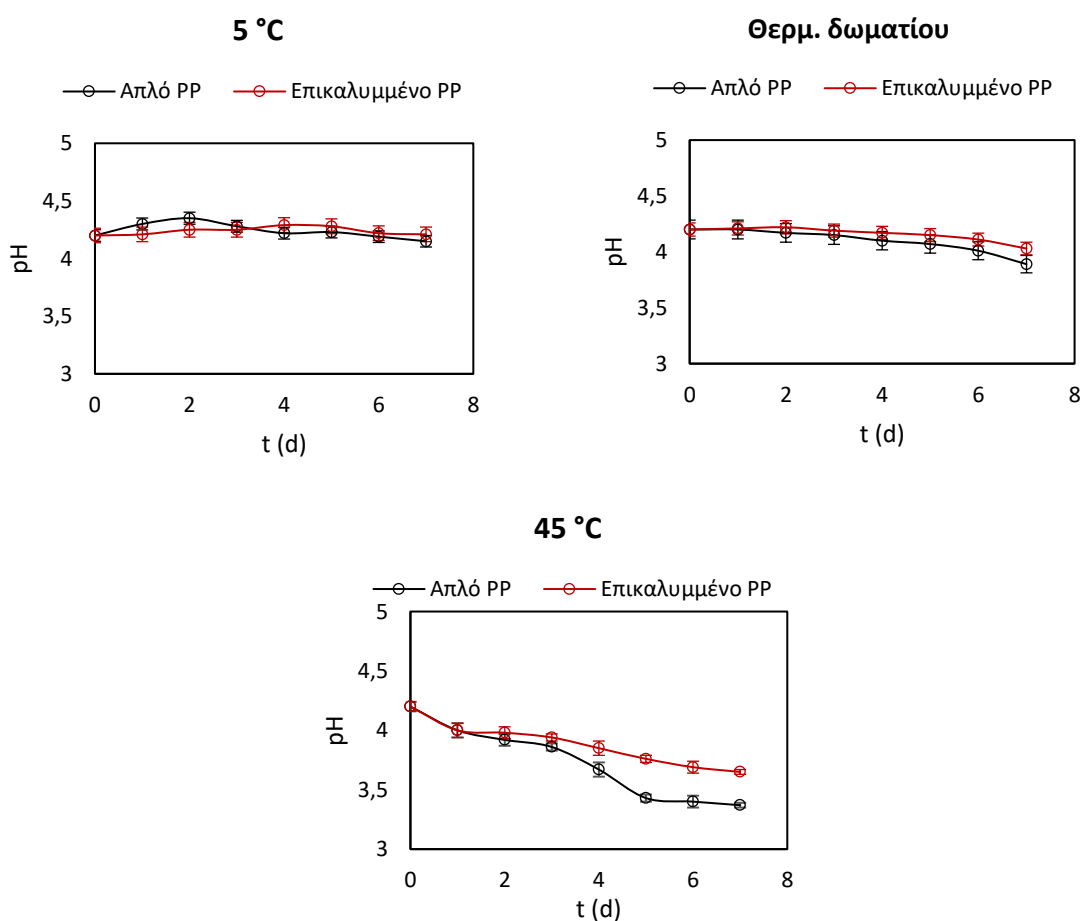
² Transverse direction: κάθετη στην κατεύθυνση ξετυλίγματος του ρολού του πλαστικού

υπέστησαν δεν υποβάθμισαν σημαντικά τις μηχανικές ιδιότητες του πλαστικού. Αντίθετα φάνηκε ενίσχυση του φραγμού στην διαπερατότητα των υδρατμών, γεγονός που οφείλεται στο επιπλέον στρώμα ζεΐνης, η οποία είναι έντονα υδρόφοβη.

4.4.2.3 Φυσικοχημικός χαρακτηρισμός συσκευασμένων τομάτων

ο Μέτρηση pH

Το pH αποτελεί βασικό παράγοντα ποιότητας και αποδοχής ενός τροφίμου καθώς επηρεάζει σημαντικά τις φυσικοχημικές ιδιότητες των συστατικών τροφίμων, όπως οι πρωτεΐνες, τα σάκχαρα, τα αμινοξέα κ.α. Το pH δίνει, επίσης, πληροφορίες σχετικά με την σταθερότητα και την συντήρηση των τροφίμων και αποτελεί σημαντικό δείκτη της μικροβιακής αλλοίωσης που συμβαίνει παρουσία ορισμένων παθογόνων μικροοργανισμών, όπως βακτήρια, μούχλα και ζύμες. Γενικά, οι μικροοργανισμοί εμφανίζουν συνήθως τον μέγιστο ρυθμό ανάπτυξής τους στην περιοχή pH 6,5-7,5, με την μούχλα και τις ζύμες να εμφανίζουν μεγαλύτερο εύρος pH συγκριτικά με τα βακτήρια (Karastogianni S., Girousi S. et al. 2016). Η μεταβολή του pH των δειγμάτων κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στα δύο είδη συσκευασίας, απεικονίζεται στα ακόλουθα διαγράμματα:

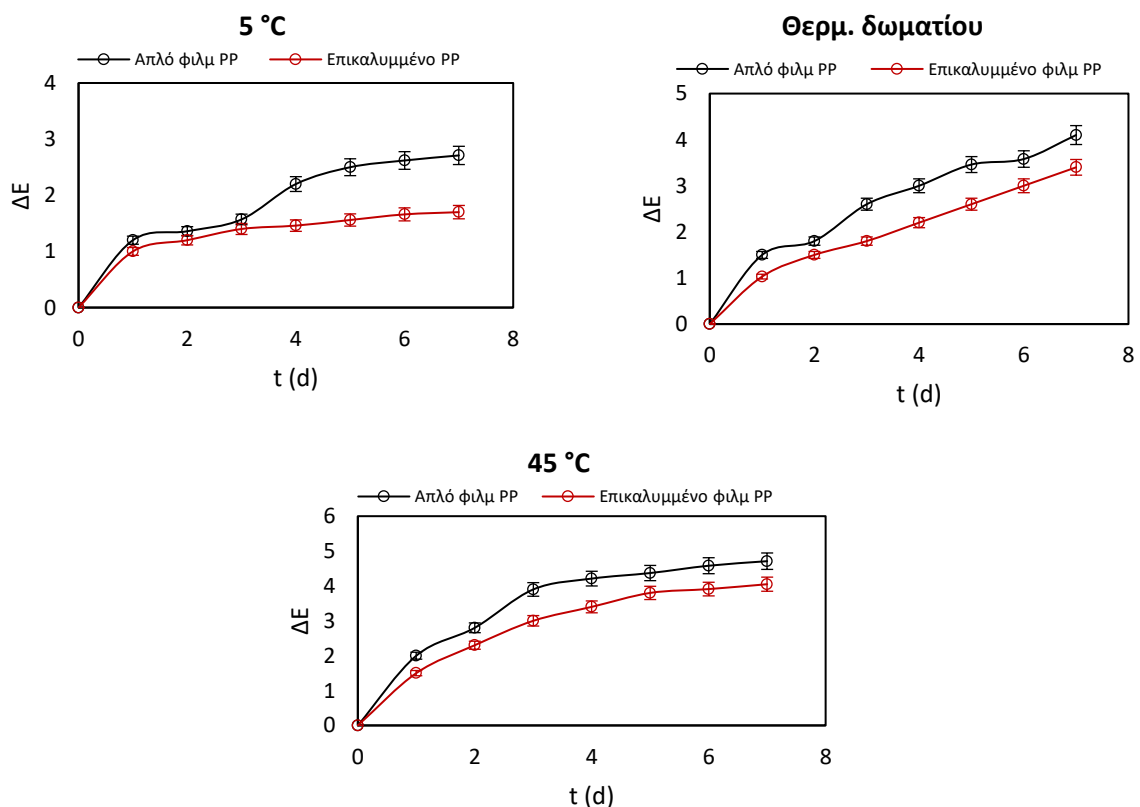


Σχήμα 30 Απεικόνιση της μεταβολής του pH των τομάτων κατά την αποθήκευσή τους στα μελετώμενα φιλμ σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες.

Όπως φαίνεται, στην χαμηλότερη θερμοκρασία αποθήκευσης, τα δείγματα και των δύο συσκευασιών έδωσαν παρόμοιες τιμές pH ενώ μετά από μικρή αύξηση τις πρώτες μέρες σταθεροποιήθηκαν πολύ κοντά στην αρχική τιμή μέτρησης πριν την αποθήκευση ($t=0$). Όσον αφορά στις άλλες δύο θερμοκρασίες, το pH των δειγμάτων παρουσίασε μείωση με το χρόνο η οποία παρατηρήθηκε μεγαλύτερη για τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν στους 45°C. Επίσης συνολικά η μείωση του pH εμφανίστηκε μεγαλύτερη σε σχέση με την τιμή την $t=0$ για τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν στο απλό φιλμ PP.

ο Μέτρηση Χρώματος

Προκειμένου να αποτυπωθεί και να μετρηθεί η χρωματική απόκλιση των τομάτων κατά την συσκευασία τους στα δύο φιλμ (απλό και επικαλυμμένο) και σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης διενεργήθηκε μέτρηση με φορητό χρωματόμετρο. Ως βάση αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν τα χρώματα των τυχαία επιλεγμένων τομάτων σε χρόνο μηδέν, αμέσως δηλαδή πριν την αποθήκευση.



Σχήμα 31 Απεικόνιση της χρωματικής διαφοράς ΔE με βάση το σύστημα CIE Lab των τομάτων κατά την αποθήκευσή τους στα μελετώμενα φιλμ και σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες σε σχέση με το χρώμα τους σε χρόνο μηδέν.

Όπως παρατηρείται μέχρι και την τελευταία ημέρα αποθήκευσης οι συνολικές χρωματικές διαφορές με το control δεν ξεπερνούν τις 4-5 μονάδες, ωστόσο υπήρξε συνολικά αύξηση της χρωματικής διαφοράς με την πάροδο του χρόνου και την αύξηση της θερμοκρασίας. Η χρήση της

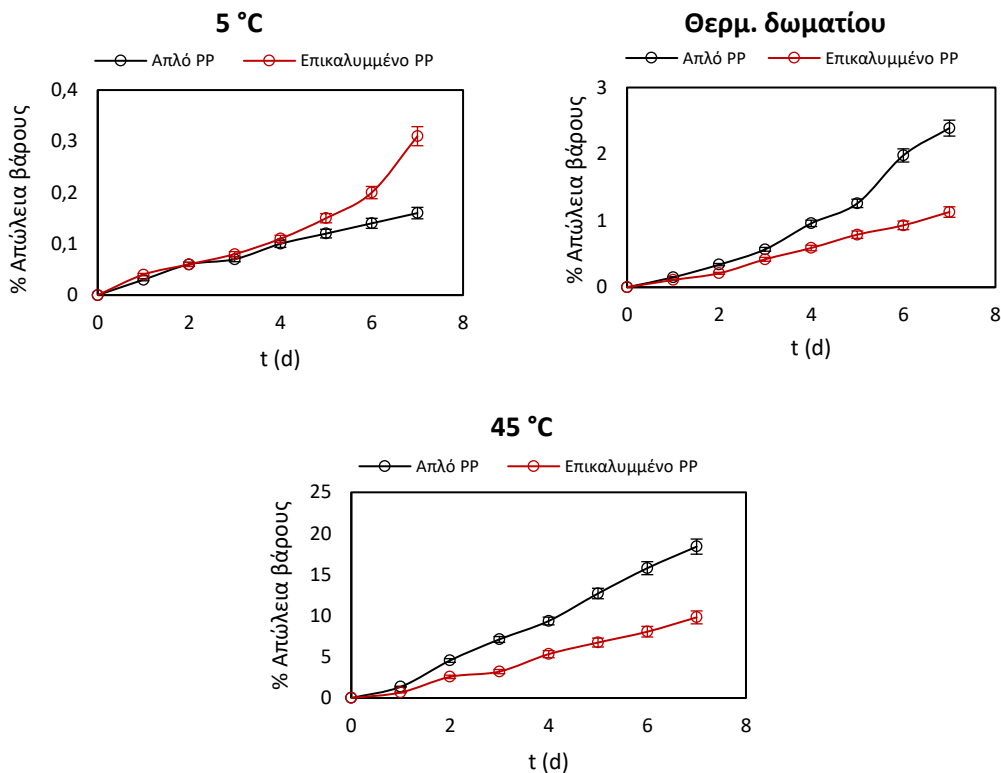
συνολικής διαφοράς χρώματος ΔE^* υπόκειται σε ορισμένους περιορισμούς που πηγάζουν από την αδυναμία απόλυτης σύγκλισης των οπτικών παρατηρήσεων και των χρωματομετρικών μετρήσεων. Το γεγονός αυτό αποδεικνύεται και από σχετικές μελέτες. Οι Yan et al. συνέκριναν τη διαφορά στην αντιστοίχιση χρωμάτων μεταξύ της αξιολόγησης ανθρώπινου ματιού και της ηλεκτρονικής χρωματομετρίας διαπιστώνοντας ότι οι χρωματικές διαφορές γίνονταν αντιληπτές από τον ανθρώπινο οφθαλμό για ΔE μεγαλύτερο των 3 μονάδων. Από τα αποτελέσματα του πειράματος προέκυψε ότι μια οπτική εκτίμηση χρωματικής διαφοράς δύο μονάδων αντιστοιχεί σε τιμές χρωματικής διαφοράς ΔE^* μίας έως οκτώ αριθμητικών μονάδων (Yan, Sim et al. 1999). Κατά συνέπεια για τα δείγματα και των δύο συσκευασιών οι χρωματικές διαφορές δε ήταν τέτοιες που θα γίνονταν ιδιαίτερα αντιληπτές από τον καταναλωτή.

Όπως φαίνεται από τις παραπάνω μετρήσεις, παρατηρούνται μεγαλύτερες χρωματικές διαφορές με την αύξηση της θερμοκρασίας και την πάροδο του χρόνου, γεγονός που είναι αναμενόμενο. Επιπλέον παρατηρείται συνολικά μικρότερη χρωματική διαφορά σε σχέση με το νωπό δείγμα πριν την αποθήκευση για τις συσκευασμένες στο επικαλυμμένο με νανοΐνες φιλμ σε σχέση με το απλό.

Συγκρίνοντας λοιπόν τα δύο είδη συσκευασίας μεταξύ τους, διαπιστώνεται σε όλες τις περιπτώσεις ότι το χρώμα της σάρκας των τομάτων διατηρήθηκε πιο σταθερό για τα αποθηκευμένα στο επικαλυμμένο φιλμ δείγματα ενώ συνολικά το ΔE δεν ξεπέρασε τις 4 μονάδες.

ο Απώλεια βάρους

Η απώλεια βάρους οφείλεται στην απώλεια υγρασίας των τομάτων. Οι τομάτες εμφανίζουν γενικά μεγάλες απώλειες νερού εξαιτίας της έλλειψης παχιάς, καλώς-ανεπτυγμένης επιδερμίδας και δεδομένου και του εξ αρχής μεγάλου περιεχομένου τους σε νερό. Ο κυριότερος λόγος αυτής της διαφοράς μεταξύ των δύο συσκευασιών είναι σε μεγάλο βαθμό το επιπλέον στρώμα ζεΐνης στην περίπτωση του επικαλυμμένου φιλμ. Η ζεΐνη είναι ένα πολύ υδρόφοβο πολυμερές που δημιουργεί έναν φραγμό στην διείσδυση της υγρασίας στο εσωτερικό της συσκευασίας. Συνεπώς τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αυτό το είδος συσκευασίας διατήρησαν πιο σταθερό το περιεχόμενό τους σε νερό σε σχέση με τα συσκευασμένα σε απλό φιλμ.



Σχήμα 32 Απεικόνιση της % απώλειας βάρους των τομάτων κατά την αποθήκευσή τους στα μελετώμενα φιλμ σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες.

Όπως παρατηρήθηκε, σε όλα τα δείγματα υπήρξε απώλεια βάρους με την πάροδο του χρόνου. Η απώλεια αυτή εμφανίστηκε ωστόσο μεγαλύτερη για τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν σε υψηλότερη θερμοκρασία και σε απλή συσκευασία πολυπροπυλενίου. Αντίθετα το φιλμ με την επικάλυψη προσέφερε μεγαλύτερη σταθερότητα στα δείγματα, οδηγώντας τα σε μικρότερες απώλειες βάρους σε σχέση με το απλό φιλμ και για τις τρεις μελετώμενες θερμοκρασίες αποθήκευσης. Η μεγαλύτερη απώλεια βάρους εντοπίστηκε για τις τομάτες που συσκευάστηκαν σε απλό φιλμ PP και θερμοκρασία 45°C που βρέθηκε στο 18,4%. Αναφέρεται ότι σύμφωνα με τη βιβλιογραφία απώλεια βάρους άνω του 10% θεωρείται ως το όριο για να θεωρηθεί ότι έχει επέλθει το τέλος της διάρκειας ζωής (García, Ventosa et al. 2014).

ο Μικροβιολογική ανάλυση

Σε όλα τα δείγματα τομάτας διεξήχθη μικροβιολογικός έλεγχος προκειμένου να υπολογιστεί ο χρόνος ζωής και η διατηρησιμότητά τους. Κατά τον μικροβιολογικό έλεγχο, μελετήθηκαν οι αποικίες ζυμών και μούχλας, καθώς αυτοί οι μικροοργανισμοί είναι υπεύθυνοι για την αλλοίωση του καρπού. Γενικά, τα φρούτα και λαχανικά υφίστανται υποβάθμιση από μύκητες και ζύμες, επειδή οι μικροοργανισμοί αυτοί αναπτύσσονται σε pH<3,5. Ο μηχανισμός αλλοίωσης περιλαμβάνει τα ακόλουθα στάδια (Paniagua, Posé et al. 2014, Alegbeleye, Odeyemi et al. 2022):

- Μαλάκωμα φυτικού ιστού από ενδογενή ένζυμα (πηκτινάση, κυτταρινάση) και απώλεια συνεκτικότητας που καθιστά τις τομάτες ευάλωτες σε μικροβιακή μόλυνση. Το μαλάκωμα της σάρκας οφείλεται στην αποσύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος λόγω του αποπολυμερισμού γλυκανών, της διαλυτοποίησης πηκτινών και της απώλειας ουδέτερων σακχάρων από τις πλευρικές αλυσίδες πηκτίνης.
- Με την καταστροφή της επιδερμίδας, τα μικρόβια διεισδύουν στο εσωτερικό, παράγοντας εστέρες, οργανικά οξέα, αλκοόλες και άλλους πτητικές ενώσεις, μεταβάλλοντας το χρώμα και δημιουργώντας ανεπιθύμητο άρωμα και γεύση.

Εκτός του μικροβιολογικού ελέγχου, ο οποίος προσφέρει ακριβή προσδιορισμό των μικροβιακών αποικιών, η παρουσία ζυμών και μούχλας στους καρπούς μπορεί να γίνει αισθητή είτε οπτικά, αφού το χρώμα του δέρματος σκουραίνει και δημιουργούνται άσπρες νιφάδες που μοιάζουν με βαμβάκι, είτε μέσω του αρώματος, το οποίο οφείλεται στον σχηματισμό αιθανόλης και ακεταλδεΐδης κατά την μικροβιακή ανάπτυξη (Gong, Bi et al. 2022)

Το μικροβιακό φορτίο των δειγμάτων μετρούνταν καθημερινά μέχρι να παρατηρηθεί ότι ξεπεράστηκαν τα αποδεκτά όρια για τις μούχλες-ζύμες ή/και το ολικό αερόβιο βακτηριακό φορτίο. Όπως φάνηκε από την πρώτη κιόλας μέρα οι τομάτες εμφάνισαν μικροβιακό φορτίο. Το μικροβιακό φορτίο που εντοπίστηκε την ημέρα παραλαβής πιθανώς οφείλεται στην συγκομιδή τους ή/και στην μεταφορά τους σε μη κατάλληλες συνθήκες.

Η μικροβιακή αλλοίωση αυξήθηκε σταδιακά σε όλα τα δείγματα, με τις τομάτες που αποθηκεύτηκαν σε απλό φιλμ PP να εμφανίζουν γρηγορότερα υψηλό μικροβιακό φορτίο σε όλες τις συνθήκες. Αναφέρεται ότι τα ανώτατα επιτρεπτά όριο για τις ζύμες/μούχλες και ολικού μικροβιακό φορτίο είναι 4 και 4-5 log CFU/g για φρούτα και λαχανικά (Abdullahi, Kabir et al. 2020, Degaga, Tafesse et al. 2022).



Εικόνα 26 Προετοιμασία δειγμάτων τομάτας για μικροβιακή ανάλυση με ειδικά δισκία Compact Dry.

Πίνακας 41 Απεικόνιση της μικροβιακής κατάστασης (ως προς ζύμες/μούχλα και ολικό βακτηριακό φορτίο) για τομάτες συσκευασμένες σε απλό φιλμ PP και φιλμ με επικάλυψη νανοϊνών ενθυλακωμένου εκχύλισματος φύλλων τομάτας, και αποθήκευσης σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες για 7 ημέρες.

Είδος συσκευασίας	Θερμοκρασία (° C)	YM	TC
Απλό φιλμ PP	5	Μη αποδεκτό μετά από 5d	Μη αποδεκτό μετά από 6d
	Θερμ. Δωματίου	Μη αποδεκτό μετά από 4d	Μη αποδεκτό μετά από 5d
	45	Μη αποδεκτό μετά από 3d	Μη αποδεκτό μετά από 3d
Επικαλυμμένο φιλμ	5	Αποδεκτό μετά από 7d	Αποδεκτό μετά από 7d
	Θερμ. Δωματίου	Μη αποδεκτό μετά από 7d	Αποδεκτό μετά από 7d
	45	Μη αποδεκτό μετά από 4d	Μη αποδεκτό μετά από 4d

Με βάση τα αποτελέσματα της μικροβιακής ανάπτυξης στους καρπούς, παρατηρήθηκε ότι οι τομάτες που φυλάσσονταν στη μεμβράνη με τις νανοΐνες, στο ψυγείο, διατήρησαν την ποιότητά τους μετά από 7 ημέρες αποθήκευσης. Από την άλλη πλευρά, σημειώθηκε αλλοίωση για τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν στο απλό πλαστικό φιλμ έπειτα από 5 ημέρες. Όσον αφορά στην αποθήκευση σε θερμοκρασία δωματίου που είναι η πιο συνηθισμένη για την αποθήκευση της τομάτας, η περιεκτικότητα σε ζύμες και μούχλες ξεπέρασε το αποδεκτό επίπεδο μετά από 7 και 4 ημέρες αποθήκευσης για την ενεργή και τη συμβατική συσκευασία, αντίστοιχα. Συνολικά, ακόμη και μετά από 7 ημέρες η μικροβιακή ανάπτυξη δεν ξεπέρασε τα αποδεκτά επίπεδα για το φιλμ με το ενθυλακωμένο εκχύλισμα ενώ για την κοινή μεμβράνη επιτεύχθηκε μέγιστη αποθήκευση 5 ημερών. Τέλος, η αποθήκευση στους 45 ° C που είναι μια επιταχυνόμενη κατάσταση, ακατάλληλη για φρούτα και λαχανικά, έδειξε ταχύτερη αλλοίωση των δειγμάτων μετά από 3 και 4 ημέρες για το απλό και το διστρωματικό φιλμ, αντίστοιχα. Όπως γίνεται αντιληπτό, η χρήση του φιλμ με τις νανοΐνες οδήγησε σε παράταση του χρόνου ζωής των καρπών της τομάτας κατά 1 με 3 ημέρες. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται να συνδυαστούν και με τη μεταβολή της απώλειας βάρους που για τα δείγματα της απλής συσκευασίας, ήδη την τρίτη ημέρα αποθήκευσης, είχε φτάσει 9,3% δηλώνοντας τη σημαντική υποβάθμιση τους. Σε πρόσφατη μελέτη τους, οι Jiang et al. συσκεύασαν τομάτες cherry σε φιλμ επικαλυμμένο με νανοΐνες ζεΐνης/πολυοξαιθυλενίου με ενθυλακωμένη ρεσβερατρόλη σε θερμοκρασία 25 ± 1 °C και σχετική υγρασία 60 ± 1% (μικρότερη από αυτή της παρούσας μελέτης που ρυθμίστηκε στο 80 ± 1%) με το χρόνο ζωής των καρπών να φτάνει τις 12 ημέρες (Jiang, Zhao et al. 2022). Γενικότερα, ωστόσο, παρά τις εξαιρετικές ιδιότητές της ζεΐνης είναι περιορισμένη η βιβλιογραφία σχετικά με τη χρήση νανοϊνών της χωρίς την παρουσία άλλου πολυμερούς στη συσκευασία τροφίμων. Ενώ δεν εντοπίζονται αναφορές για την αξιοποίηση των φύλλων της τομάτας ως αντιοξειδωτικό και αντιμικροβιακό παράγοντα για τέτοιες εφαρμογές.



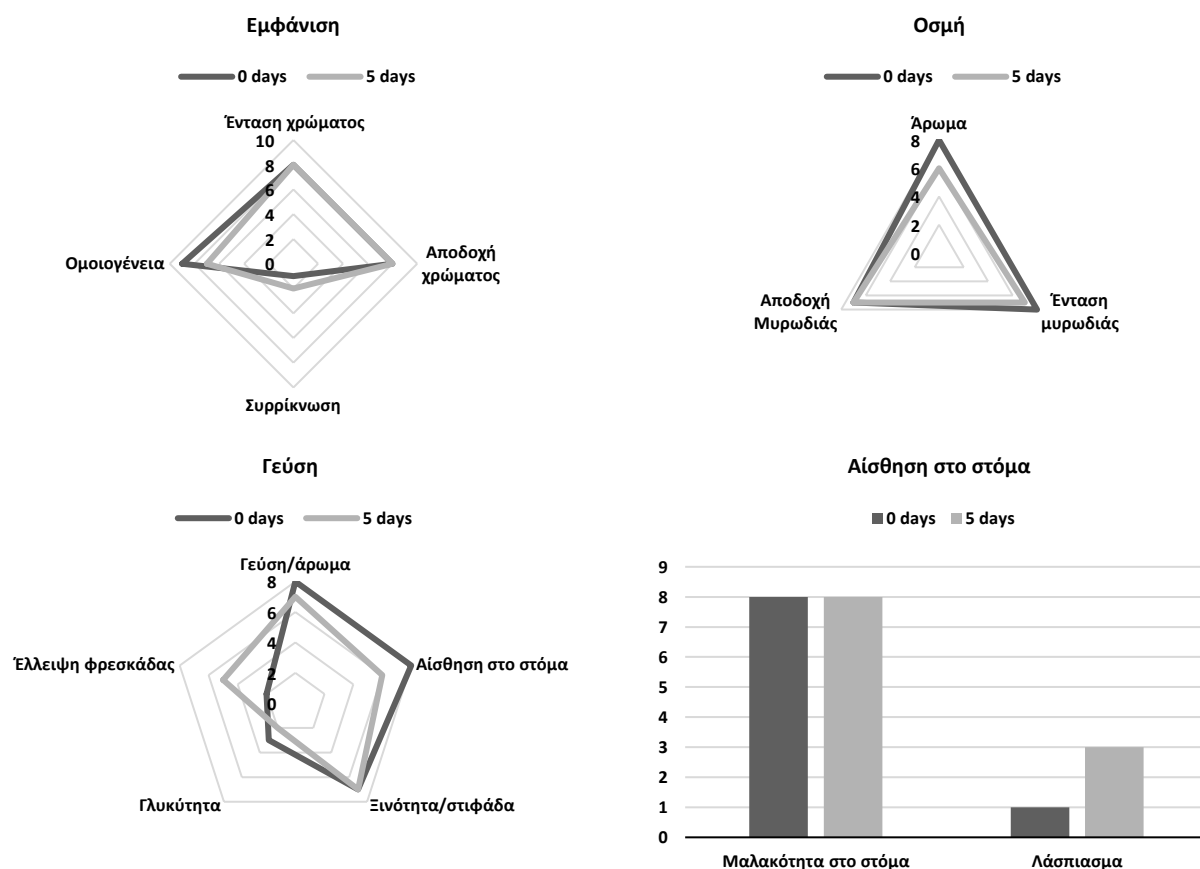
Εικόνα 27 Ενδεικτική απεικόνιση τομάτων που είχαν αποθηκευτεί χωρίς συσκευασία, σε συσκευασία απλού φιλμ πολυπροπυλενίου και σε φιλμ με επικάλυψη νανοϊνών με εγκλεισμένα βιοδραστικά στους 45 °C για 4 ημέρες.

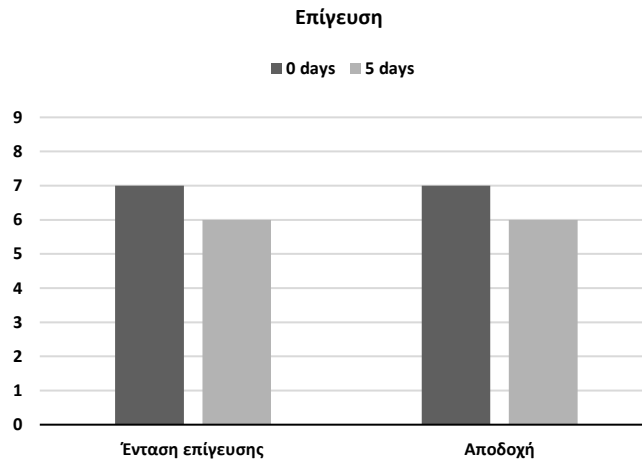
ο Οργανοληπτικός Έλεγχος

Τα δείγματα τομάτας αξιολογήθηκαν οργανοληπτικά σε χρόνο μηδέν καθώς και στο τέλος της μελέτης αποθήκευσης. Ο οργανοληπτικός έλεγχος σε δεύτερο χρόνο διαφοροποιείται μεταξύ των δειγμάτων καθώς ως ημέρα δοκιμής τέθηκε και η τελευταία μέρα για την οποία το μικροβιακό φορτίο ήταν αποδεκτό.

Τομάτες συσκευασμένες σε απλό φιλμ πολυπροπυλενίου

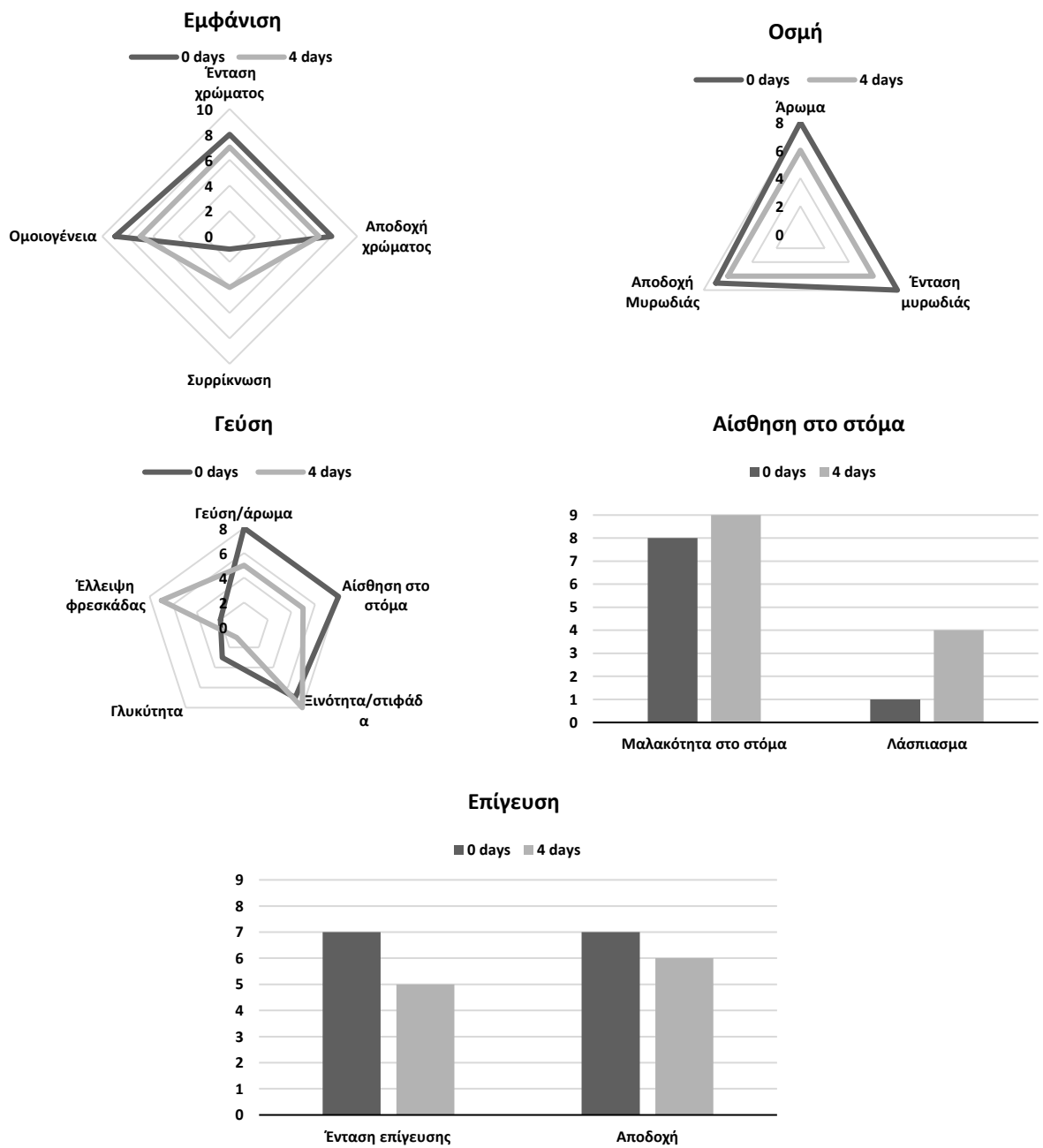
ο Θερμοκρασία T= 5 °C





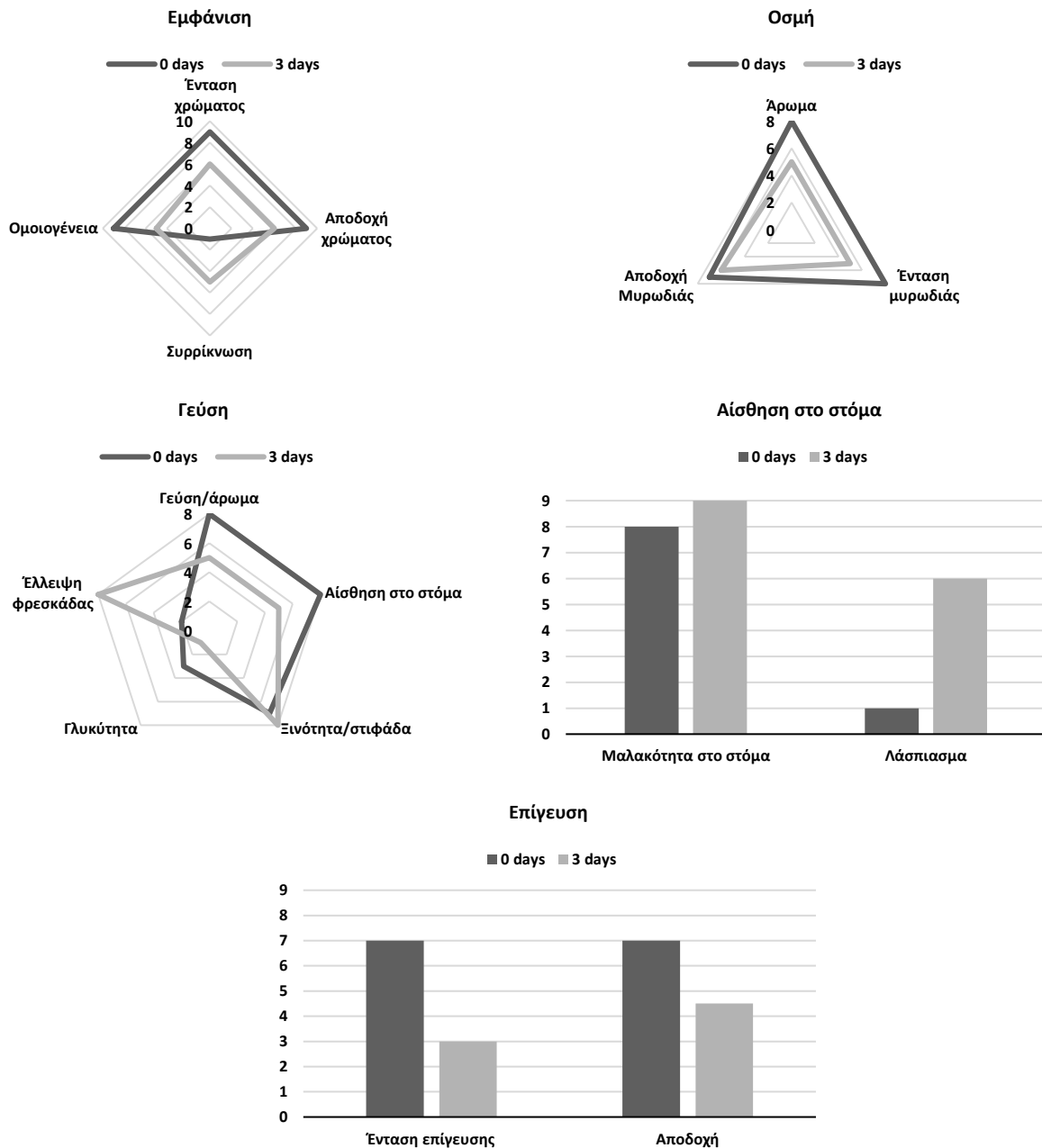
Σχήμα 33 Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου των δειγμάτων τομάτας που συσκευάστηκαν σε απλό φιλμ PP στους 5 °C.

ο Θερμοκρασία δωματίου (15-20 °C)



Σχήμα 34 Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου των δειγμάτων τομάτας που συσκευάστηκαν σε απλό φιλμ PP σε θερμοκρασία δωματίου.

ο Θερμοκρασία T= 45 °C



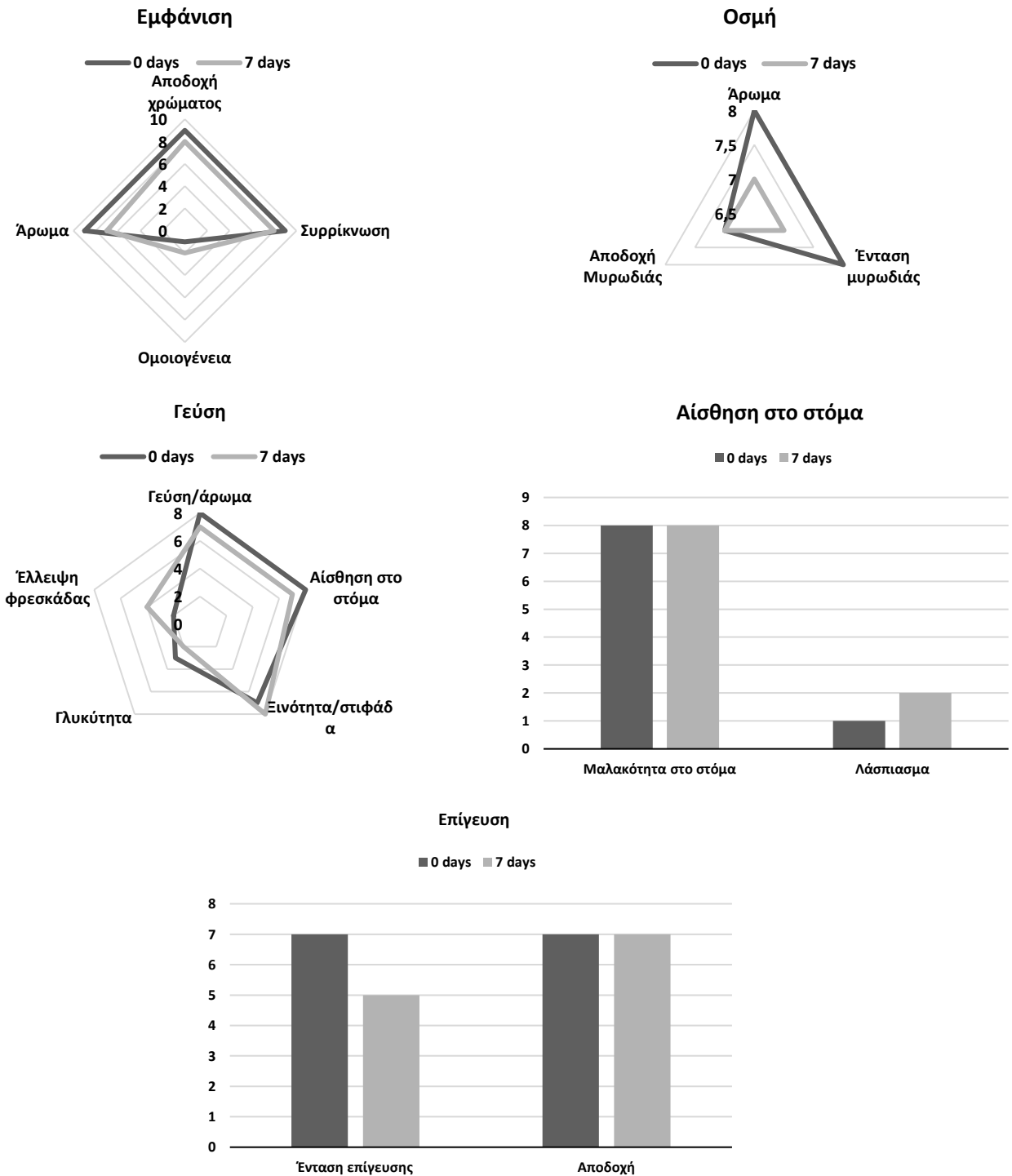
Σχήμα 35 Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου των δειγμάτων τομάτας που συσκευάστηκαν σε απλό φιλμ PP στους 45 °C.

Όπως γίνεται αντιληπτό, για τις τομάτες που συσκευάστηκαν σε απλό φιλμ PP, φαίνεται ότι η αύξηση της θερμοκρασίας οδήγησε σε μεγαλύτερη αλλοίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, γι' αυτό και τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν στους 45 °C έδωσαν και τις μεγαλύτερες αποκλίσεις σε σχέση με το χρόνο μηδέν. Η συνολική αποδοχή βρέθηκε στο 6 για τα αποθηκευμένα σε ψύξη και σε θερμοκρασία δωματίου έπειτα από 5 και 4 ημέρες αντίστοιχα ενώ θεωρήθηκαν μη αποδεκτά τα δείγματα από τους 45 °C ύστερα από 3 ημέρες. Ο χρόνος

δειγματοληψίας ορίστηκε με βάση το μέγιστο επιτρεπτό μικροβιακό φορτίο των δειγμάτων, οπότε και μετά δεν πραγματοποιήθηκαν άλλες οργανοληπτικές δοκιμές.

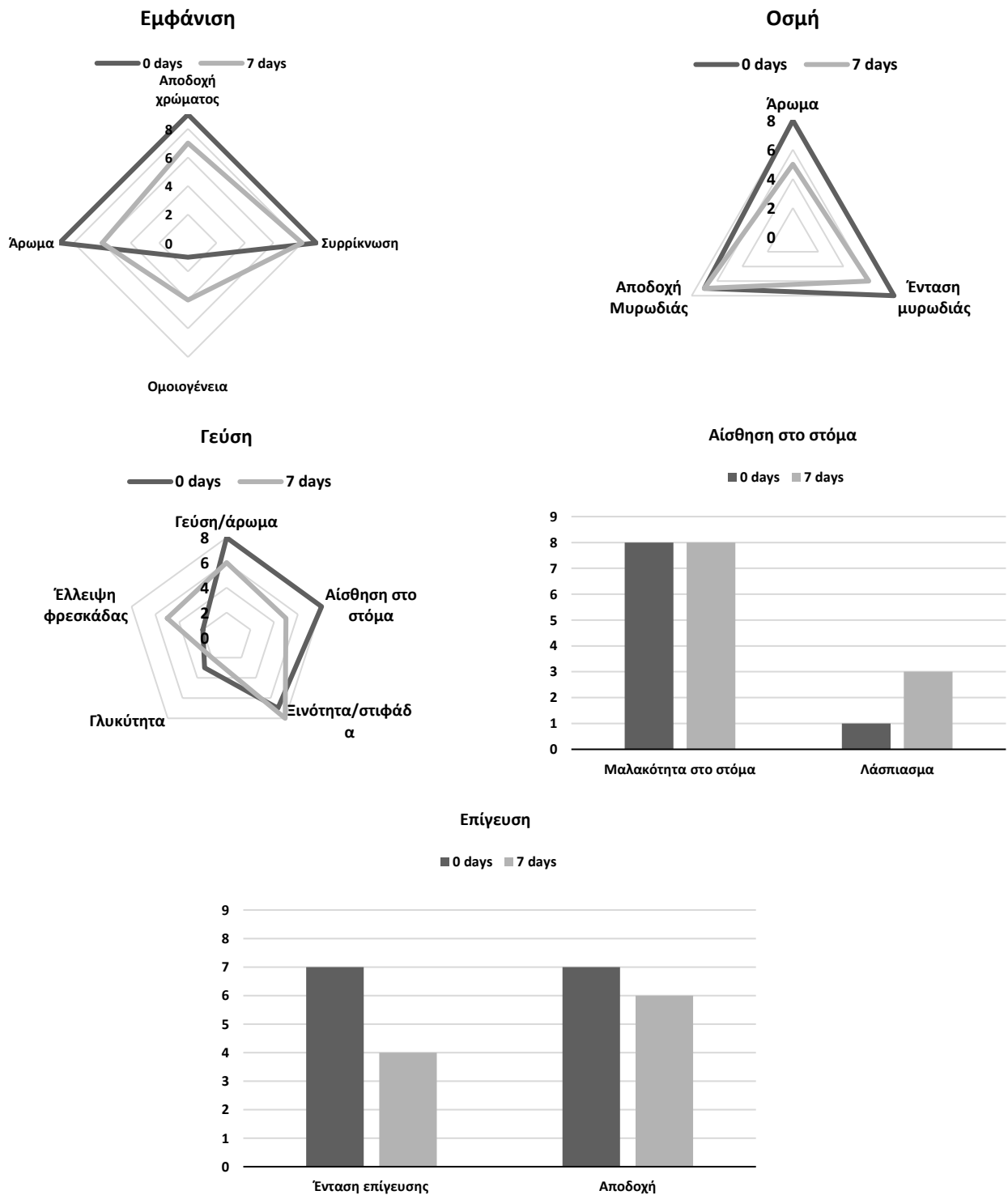
Τομάτες συσκευασμένες σε επικαλυμμένο φιλμ με εγκλεισμένα βιοδραστικά συστατικά

- ο Θερμοκρασία T= 5 °C



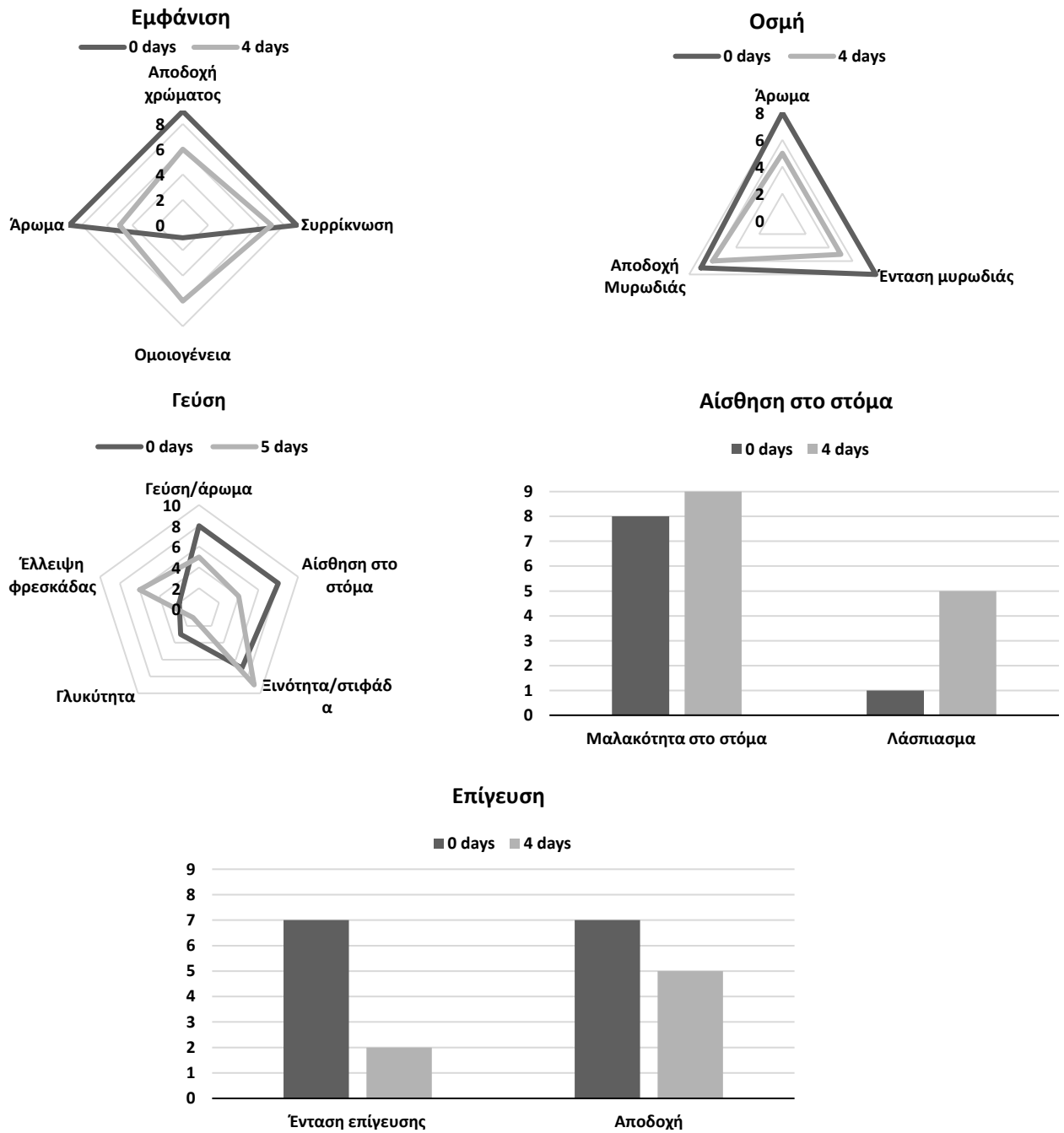
Σχήμα 36 Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου των δειγμάτων τομάτας που συσκευάστηκαν σε επικαλυμμένο φιλμ PP με νανοϊνες βιοδραστικών συστατικών στους 5 °C.

ο Θερμοκρασία δωματίου (15-20 °C)



Σχήμα 37 Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου των δειγμάτων τομάτας που συσκευάστηκαν σε επικαλυμμένο φιλμ PP με νανοΐνες βιοδραστικών συστατικών σε θερμοκρασία δωματίου.

ο Θερμοκρασία T= 45 °C



Σχήμα 38 Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου των δειγμάτων τομάτας που συσκευάστηκαν σε επικαλυμμένο φιλμ PP με ναοϊνες βιοδραστικών συστατικών στους 45 °C.

Όσον αφορά στις τομάτες που συσκευάστηκαν σε φιλμ PP με επικάλυψη εγκλεισμένων βιοδραστικών, φαίνεται ότι και εδώ η αύξηση της θερμοκρασίας οδήγησε σε μεγαλύτερη αλλοίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, γι' αυτό και τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν στους 45 °C έδωσαν και τις μεγαλύτερες αποκλίσεις σε σχέση με το χρόνο μηδέν. Η συνολική αποδοχή βρέθηκε στο 7 για τα αποθηκευμένα σε ψύξη, στο 6 για τα αποθηκευμένα σε θερμοκρασία δωματίου και στο 5 για τα δείγματα στους 45 °C έπειτα από 7 και 5 ημέρες αντίστοιχα. Ο χρόνος δειγματοληψίας

ορίστηκε με βάση το μέγιστο επιτρεπτό μικροβιακό φορτίο των δειγμάτων, οπότε και μετά δεν πραγματοποιήθηκαν άλλες οργανοληπτικές δοκιμές.

Τα αποτελέσματα του οργανοληπτικού ελέγχου υπήρξαν πολύ ενθαρρυντικά για τους καρπούς που συσκευάστηκαν στο φιλμ με την επικάλυψη καθώς τόσο η αποδοχή όσο και αξιολόγηση των διαφορετικών κριτηρίων εμφανίστηκε ανταγωνιστική ως προς τα δείγματα της συμβατικής συσκευασίας για μεγαλύτερους χρόνους αποθήκευσης. Ενδεικτικά για τη θερμοκρασία δωματίου που αποτελεί και τη συνήθη θερμοκρασία συντήρησης της τομάτας, η ένταση της επίγευσης και η αποδοχή κυμάνθηκαν στο 4 και 6 αντίστοιχα, για τα δείγματα του επικαλυμμένου φιλμ έναντι τιμών 5 και 6 για τα ίδια χαρακτηριστικά στα δείγματα που αποθηκεύτηκαν στο απλό φιλμ. Ωστόσο η συγκεκριμένη μέτρηση των πρώτων έγινε ύστερα από 7 ημέρες συντήρησης ενώ των δεύτερων ύστερα από 4. Συνεπώς, παρατηρείται μια βραδύτερη υποβάθμιση των τομάτων με τη συσκευασία που περιέχει τους βιοδραστικούς παράγοντες στις νανοΐνες ζεΐνης.

4.5 Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης ήταν ιδιαίτερα ενθαρρυντικά. Η χρήση της ηλεκτροϋδροδυναμικής διαδικασίας ως τεχνολογία ενθυλάκωσης θα μπορούσε να είναι αποτρεπτική σε ορισμένες περιπτώσεις λόγω του αυξημένου κόστους παραγωγής. Ωστόσο, στην περίπτωση παραγωγής καινοτόμων καλλυντικών προϊόντων, οι μικρές απαιτούμενες ποσότητες πρόσθετων, μαζί με την δυνατότητα για υψηλότερη τιμή αγοράς θα μπορούσαν όχι μόνο να αντισταθμίσουν το κόστος παραγωγής αλλά και να δημιουργήσουν μεγάλο περιθώριο κέρδους λόγω της εισαγωγής, στην αγορά, καλλυντικών με προηγμένες ιδιότητες. Επιπλέον, η παραγωγή σε μεγαλύτερη κλίμακα θα οδηγήσει σε χαμηλότερο κόστος παραγωγής. Μέσα στα όρια αυτής της μελέτης, μπορούμε συμπεραίνουμε ότι η σύνθεση καλλυντικής κρέμας προσώπου που περιέχει ενθυλακωμένο δεοξυχολικό οξύ είναι εφικτή εάν ακολουθηθεί η κατάλληλη τεχνική ενθυλάκωσης για τη σωστή δομή τέτοιων πρόσθετων. Μάλιστα, η δυναμική μηχανική ανάλυση των κρεμών έδειξε ότι η κρέμα με το ενσωματωμένο βιοδραστικό επέδειξε ρεολογικά χαρακτηριστικά αποδεκτά σε σύγκριση με αντίστοιχα εμπορικά διαθέσιμα προϊόντα ενώ απαιτούνται μελέτες για την αξιολόγηση της λιποδιαλυτικής της δράσης σε βάθος χρόνου.

Όσον αφορά στη συσκευασία, τα αποτελέσματα έδειξαν βελτιωμένα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά για τα δείγματα τομάτας που συσκευάστηκαν με το επικαλυμμένο με νανοΐνες φιλμ σε σχέση με το απλό. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε μικρότερο περιεχόμενο σε μικροοργανισμούς καθώς και μεγαλύτερη σταθερότητα χρώματος, οξύτητας και μικρότερη απώλεια βάρους για τα δείγματα της συσκευασίας με την ενθυλάκωση για τις ίδιες συνθήκες υγρασίας και θερμοκρασίας αποθήκευσης. Με βάση τη μέτρηση του μικροβιακού φορτίου, διαπιστώθηκε επέκταση του χρόνου ζωής κατά 1

με 3 ημέρες. Το αποτέλεσμα αυτό, είναι πολύ ενθαρρυντικό και υποδηλώνει την ικανότητα του φιλμ για ακόμα καλύτερα αποτελέσματα με την παρασκευή πιο επαγγελματικής συσκευασίας και βελτιωμένων εν γένει συνθηκών διαχείρισης και υγιεινής σε βιομηχανική κλίμακα. Αξίζει να πραγματοποιηθούν περαιτέρω μελέτες για την αποδοτικότερη παραγωγή τέτοιων συσκευασιών και την επίδραση τους στη αύξηση του χρόνου διατηρησιμότητας σε σχέση με άλλα υλικά και τρόπους συσκευασίας, αλλά και εφαρμογή για διαφορετικά τρόφιμα.

Βιβλιογραφία

"ISO 16212:2017: Cosmetics — Microbiology — Enumeration of yeast and mold."

"ISO 21150:2015: Cosmetics — Microbiology — Detection of Escherichia coli."

"ISO 22716:2007: Cosmetics — Good Manufacturing Practices (GMP) — Guidelines on Good Manufacturing Practices."

"ISO 29621:2017: Cosmetics — Microbiology — Guidelines for the risk assessment and identification of microbiologically low-risk products."

"ISO/TR 19838:2016: Microbiology — Cosmetics — Guidelines for the application of ISO standards on Cosmetic Microbiology."

"United States Pharmacopeial Convention, The United States Pharmacopeial 2011: USP34; The national formulary: NF29. 2011: Rockville,MD."

Abdullahi, B., M. Kabir, Y. Yunusa Riko, U. A. Hamza, K. Kabir and U. Zubairu (2020). "Bioburdens of Selected Ready-to-Eat Fruits and Vegetables Consumed in Katsina Metropolis, Katsina State, Nigeria." International Journal of Science and Research (IJSR) **9**: 108-114.

Adejokun, D. A. and K. Dodou (2020) "Quantitative Sensory Interpretation of Rheological Parameters of a Cream Formulation." Cosmetics **7** DOI: 10.3390/cosmetics7010002.

Al-Dairi, M., P. Pathare and A. Al-Mahdouri (2021). "Effect of Storage Conditions on Postharvest Quality of Tomatoes: A Case Study at Market-Level." **26**: 13-20.

Al-Dairi, M., P. Pathare and R. Al-Yahyai (2021). "Effect of Postharvest Transport and Storage on Color and Firmness Quality of Tomato." Horticulturae **7**: 163.

Alegbeleye, O., O. A. Odeyemi, M. Strateva and D. Stratev (2022). "Microbial spoilage of vegetables, fruits and cereals." Applied Food Research **2**(1): 100122.

Baki, G. and K. S. Alexander (2015). General Concepts. Introduction to Cosmetic Formulation and Technology, Wiley: 1-67.

Barrett, D., J. Beaulieu and R. Shewfelt (2010). "Color, Flavor, Texture and Nutritional Quality of Fresh-cut Fruits and Vegetables: Desirable Levels, Instrumental and Sensory Measurement, and Effects of Processing." Critical Reviews in Food Science and Nutrition **50**: 369-389.

Casanova, F. and L. Santos (2016). "Encapsulation of cosmetic active ingredients for topical application – a review." Journal of Microencapsulation **33**(1): 1-17.

- Chee, B. S., G. G. de Lima, T. A. M. de Lima, V. Seba, C. Lemarquis, B. L. Pereira, M. Bandeira, Z. Cao and M. Nugent (2021). "Effect of thermal annealing on a bilayer polyvinyl alcohol/polyacrylic acid electrospun hydrogel nanofibres loaded with doxorubicin and clarithromycin for a synergism effect against osteosarcoma cells." Materials Today Chemistry **22**: 100549.
- Chen, J.-T., W.-L. Chen, P.-W. Fan and I. C. Yao (2014). "Effect of Thermal Annealing on the Surface Properties of Electrospun Polymer Fibers." Macromolecular Rapid Communications **35**(3): 360-366.
- Constanta, I., M. Danu, A. Nanu, M. Lungu and B. C. Simionescu (2010). Stability of disperse systems estimated using rheological oscillatory shear tests.
- Cui, W.-W., D.-Y. Tang, Z.-I. Gong and Y.-D. Guo (2012). "Performance enhancement induced by electrospinning of polymer electrolytes based on poly(methyl methacrylate-co-2-acrylamido-2-methylpropanesulfonic acid lithium)." Journal of Materials Science **47**(17): 6276-6285.
- de Beukelaer, H., M. Hilhorst, Y. Workala, E. Maaskant and W. Post (2022). "Overview of the mechanical, thermal and barrier properties of biobased and/or biodegradable thermoplastic materials." Polymer Testing **116**: 107803.
- Degaga, B., I. Tafesse, T. Belete and A. Simachew (2022). "Microbial Quality and Safety of Raw Vegetables of Fiche Town, Oromia, Ethiopia." Journal of Environmental and Public Health **2022**: 1-10.
- Dumitriu, R. P., G. R. Mitchell, F. J. Davis and C. Vasile (2017). "Functionalized Coatings by Electrospinning for Anti-oxidant Food Packaging." Procedia Manufacturing **12**: 59-65.
- García, M., M. Ventosa, R. Diaz, F. Silvia and A. Casariego (2014). "Effects of Aloe vera coating on postharvest quality of tomato." Fruits **69**: 117-126.
- Gonçalves, J., N. Torres, S. Silva, F. Gonçalves, J. Noro, A. Cavaco-Paulo, A. Ribeiro and C. Silva (2020). "Zein impart hydrophobic and antimicrobial properties to cotton textiles." Reactive and Functional Polymers **154**: 104664.
- Gong, D., Y. Bi, Y. Zong, Y. Li, E. Sionov and D. Prusky (2022). "Characterization and sources of volatile organic compounds produced by postharvest pathogenic fungi colonized fruit." Postharvest Biology and Technology **188**: 111903.
- Hochheim, S., N. M. F. M. Sampaio, A. F. da Cruz, L. L. del Mercato, E. D'Amone, B. J. G. da Silva, C. K. Saul, C. C. de Oliveira and I. Riegel-Vidotti (2023). "Preparation and Investigation of Thermally Annealed Zein–Propolis Electrospun Nanofibers for Biomedical Applications." Macromolecular Bioscience **23**(5): 2200524.
- Holzner, G. (1994). "RHEOLOGICAL PROPERTIES OF COSMETICS AND TOILETRIES (Cosmetic Science and Technology Series No. 13), edited by Dennis Laba, Marcel Dekker, New York, 1993. pp: 440." **9**(3): 143-144.
- Ibanescu, C., M. Danu, A. Nanu, M. Lungu and B. Simionescu (2010). "Stability of disperse systems estimated using rheological oscillatory shear tests." Revue Roumaine de Chimie **55**: 933-940.
- Inukai, S., N. Kurokawa and A. Hotta (2018). "Annealing and saponification of electrospun cellulose-acetate nanofibers used as reinforcement materials for composites." Composites Part A: Applied Science and Manufacturing **113**: 158-165.

- Jiang, W., P. Zhao, W. Song, M. Wang and D.-G. Yu (2022) "Electrospun Zein/Polyoxyethylene Core-Sheath Ultrathin Fibers and Their Antibacterial Food Packaging Applications." Biomolecules **12** DOI: 10.3390/biom12081110.
- Kabir, M., K. Rasool, W.-H. Lee, S.-I. Cho and S.-O. Chung (2020). "Influence of delayed cooling on the quality of tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) stored in a controlled chamber." AIMS Agriculture and Food **5**: 272-285.
- Kalouta, K., P. Eleni, C. Boukouvalas, K. Vassilatou and M. Krokida (2020). "Dynamic mechanical analysis of novel cosmeceutical facial creams containing nano-encapsulated natural plant and fruit extracts." Journal of Cosmetic Dermatology **19**(5): 1146-1154.
- Karastogianni S., Girousi S. and S. S. (2016). pH: Principles and Measurement. The Encyclopedia of Food and Health. B. Caballero, P. Finglas and F. Toldrá. Oxford, Academic Press. **4**: 333-338.
- Kuo, S.-H., C.-J. Shen, C.-F. Shen and C.-M. Cheng (2020) "Role of pH Value in Clinically Relevant Diagnosis." Diagnostics **10** DOI: 10.3390/diagnostics10020107.
- Leceta, I., P. Guerrero and K. de la Caba (2013). "Functional properties of chitosan-based films." Carbohydrate Polymers **93**(1): 339-346.
- Lin, H., Q. Xie, X. Huang, J. Ban, B. Wang, X. Wei, Y. Chen and Z. Lu (2018). "Increased skin permeation efficiency of imperatorin via charged ultradeformable lipid vesicles for transdermal delivery." International Journal of Nanomedicine **13**: 831-842.
- Luebberding, S., N. Krueger and M. Kerscher (2013). "Skin physiology in men and women: in vivo evaluation of 300 people including TEWL, SC hydration, sebum content and skin surface pH." International Journal of Cosmetic Science **35**(5): 477-483.
- Moreno, M. A., M. E. Orqueda, L. G. Gómez-Mascaraque, M. I. Isla and A. López-Rubio (2019). "Crosslinked electrospun zein-based food packaging coatings containing bioactive chito fruit extracts." Food Hydrocolloids **95**: 496-505.
- Morganti, P., G. Tishchenko, M. Palombo, I. Kelnar, L. Brozová, M. Špírková, E. Pavlova, L. Kobera and C. Francesco (2013). "Chitin nanofibrils for biomimetic products: nanoparticles and nanocomposite chitosan films in health care." Marine Biomaterials. Characterization, Isolation and Application: 673-680.
- Munteanu, B. S. and C. Vasile (2021) "Encapsulation of Natural Bioactive Compounds by Electrospinning—Applications in Food Storage and Safety." Polymers **13** DOI: 10.3390/polym13213771.
- Munteanu, S. B. and C. Vasile (2020) "Vegetable Additives in Food Packaging Polymeric Materials." Polymers **12** DOI: 10.3390/polym12010028.
- Paniagua, C., S. Posé, V. J. Morris, A. R. Kirby, M. A. Quesada and J. A. Mercado (2014). "Fruit softening and pectin disassembly: an overview of nanostructural pectin modifications assessed by atomic force microscopy." Annals of Botany **114**(6): 1375-1383.
- Paresh, K. and P. Sarma (2018). "Postharvest Losses of Tomato: A Value Chain Context of Bangladesh." **4**.

- Rodrigues, M., S. Quevedo, J. Souza and J. Farias (2020). "Waste Recycling in Biaxially Oriented Polypropylene -BOPP." **10**: 11-15.
- Salvioni, L., L. Morelli, E. Ochoa, M. Labra, L. Fiandra, L. Palugan, D. Prospero and M. Colombo (2021). "The emerging role of nanotechnology in skincare." Advances in Colloid and Interface Science **293**: 102437.
- Schmid-Wendtner, M. H. and H. C. Korting (2006). "The pH of the Skin Surface and Its Impact on the Barrier Function." Skin Pharmacology and Physiology **19**(6): 296-302.
- Simões, A., M. Miranda, C. Cardoso, F. Veiga and C. Vitorino (2020). "Rheology by Design: A Regulatory Tutorial for Analytical Method Validation." Pharmaceutics **12**(9).
- Tijing, L., Y. C. Woo, M. Yao, J. Ren and H. K. Shon (2017). *Electrospinning for Membrane Fabrication: Strategies and Applications*.
- Vasile, C. and M. Baican (2021) "Progresses in Food Packaging, Food Quality, and Safety—Controlled-Release Antioxidant and/or Antimicrobial Packaging." Molecules **26** DOI: 10.3390/molecules26051263.
- Yap, A. U., C. P. Sim, W. L. Loh and J. H. Teo (1999). "Human-eye versus computerized color matching." Operative dentistry **24**(6): 358-363.
- Zhou, L. and Y. Wang (2021). "Physical and antimicrobial properties of zein and methyl cellulose composite films with plasticizers of oleic acid and polyethylene glycol." LWT **140**: 110811.

5 Ανάλυση κύκλου ζωής και οικονομοτεχνική μελέτη των διεργασιών

5.1 Εισαγωγή

Η Ανάλυση κύκλου ζωής (ΑΚΖ) συνιστά ένα σύνολο εργαλείων που στόχο έχουν την εκτίμηση της περιβαλλοντικής υποβάθμισης που επιφέρει μια παραγωγική διαδικασία για την παραγωγή ενός προϊόντος και τη σύγκριση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων πολλών προϊόντων, διαδικασιών ή / και υπηρεσιών, όσον αφορά σε ολόκληρο τον κύκλο ζωής τους (cradle-to-grave) δηλαδή από την εκχύλιση πρώτων υλών, την επεξεργασία, την παρασκευή, τη διανομή μέχρι και τη χρήση του ή ένα συγκεκριμένο μέρος του κύκλου ζωής τους (cradle-to-gate, gate-to-gate or gate-to-grave). Η ΑΚΖ μπορεί να προσδιορίσει τα στάδια του κύκλου ζωής ενός προϊόντος ή μιας γραμμής παραγωγής που προκαλούν το μεγαλύτερο αντίκτυπο στο περιβάλλον (hot spots) και τον τύπο αυτού του αντίκτυπου. Τα αποτελέσματα της ΑΚΖ μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας μιας διεργασίας, την εφαρμογή πιο αποτελεσματικών μέτρων και την ιεράρχηση αυτών των μέτρων. Οι βασικοί παράγοντες περιβαλλοντικής διαχείρισης μιας διεργασίας είναι οι ίδιοι, ανεξάρτητα από το είδος της βιομηχανίας, της δραστηριότητας, της διεργασίας, του εξοπλισμού ή της υπηρεσίας. Περιλαμβάνουν τη χρήση λιγότερης ενέργειας και νερού, τη δημιουργία λιγότερων αποβλήτων και τη μείωση των εκπομπών στον αέρα, το έδαφος και το νερό. Η ΑΚΖ μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως κεντρικό εργαλείο για:

- Την επισκόπηση των συνολικών επιπτώσεων, τον εντοπισμό σημείων εστίασης και περιοχών για βελτιώσεις στον κύκλο ζωής των προϊόντων
- Τη μέτρηση και παρακολούθηση των περιβαλλοντικών επιδόσεων των προϊόντων για ολόκληρο τον κύκλο ζωής ή/και τμήματα του κύκλου ζωής τους
- Τη λήψη αποφάσεων σχετικά με το πού θα επικεντρωθούν οι προσπάθειες και οι επενδύσεις για βέλτιστη απόδοση.
- Τη σύγκριση ανταγωνιστικών μεθοδολογιών

Υπάρχει ένα ευρύ φάσμα εμπορικών πακέτων για τη διεξαγωγή μελετών ΑΚΖ ή για την υποστήριξη των διαφόρων φάσεων και εφαρμογών μίας ΑΚΖ. Ορισμένα από αυτά τα εργαλεία έχουν αναπτυχθεί για συγκεκριμένους τομείς της βιομηχανίας (π.χ. κατασκευές, διαχείριση απορριμμάτων, γεωργία, ενέργεια, ανακύκλωση κ.λπ.), ενώ άλλα προορίζονται για τη συντριπτική πλειοψηφία των βιομηχανιών. Τα περισσότερα από αυτά τα εργαλεία είναι προσαρμοσμένα για ειδικούς και μόνο λίγα για μη ειδικούς. Το GaBi είναι σήμερα το πιο διαδεδομένο λογισμικό ΑΚΖ στην Ευρώπη και τις ΗΠΑ και είναι αποδεκτό από την κοινότητα ως μία αξιόπιστη και κυρίαρχη

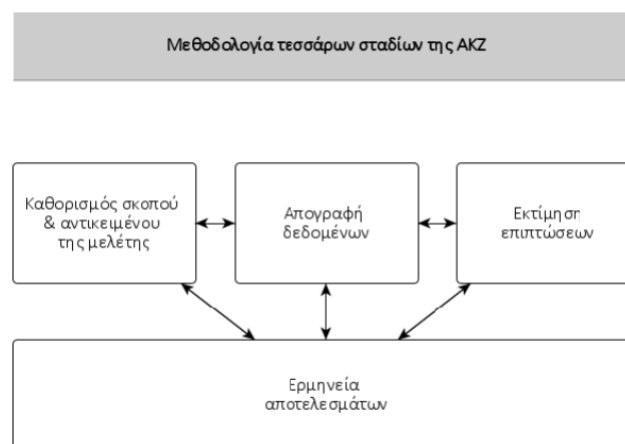
επιλογή. Αυτό το λογισμικό περιλαμβάνει πολλές βάσεις δεδομένων, καθώς και τις σημαντικότερες μεθόδους εκτίμησης επιπτώσεων. Το GaBi είναι χρήσιμο για τη συλλογή, ανάλυση και παρακολούθηση της περιβαλλοντικής απόδοσης των εξεταζόμενων διεργασιών.

5.1.1 Μεθοδολογία AKZ

Η AKZ πρέπει να πραγματοποιείται με αναπαραγωγίσιμο και τυποποιημένο τρόπο. Τα πρότυπα *ISO 14040: 2006 Περιβαλλοντική διαχείριση - Αξιολόγηση κύκλου ζωής - Αρχές και πλαίσιο* και *ISO 14044: 2006 Περιβαλλοντική διαχείριση - Αξιολόγηση κύκλου ζωής - Απαιτήσεις και κατευθυντήριες γραμμές (Finkbeiner 2014)*, περιγράφουν τις αρχές και το πλαίσιο για την εφαρμογή της AKZ.

Μία AKZ πραγματοποιείται σε τέσσερα βήματα:

- 1) καθορισμός του στόχου και πλαισίου της μελέτης,
- 2) απογραφή δεδομένων κύκλου ζωής,
- 3) εκτίμηση επιπτώσεων κύκλου ζωής και
- 4) ερμηνεία των αποτελεσμάτων



Σχήμα 39 Τα τέσσερα στάδια της μεθοδολογίας AKZ με βάση το πρότυπο ISO 14040:2006.

5.1.1.1 Ορισμός στόχου και πλαισίου μελέτης

Το πρώτο και καθοριστικής σημασίας στάδιο σε μια AKZ αφορά τον καθορισμό σκοπού και πεδίου εφαρμογής (Goal and scope definition) της μελέτης. Σε αυτό το στάδιο είναι που χρειάζεται να απαντηθούν όλα τα καίρια ερωτήματα έτσι ώστε τα αποτελέσματα που θα προκύψουν τελικά να είναι τόσο χρήσιμα όσο και έγκυρα. Εδώ τα ερωτήματα που τίθενται αφορούν στην μονάδα μέτρησης που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί, τα υλικά και τις πρώτες ύλες, τις διεργασίες που θα εξεταστούν καθώς και το εύρος και η έκταση της μελέτης που θα πραγματοποιηθεί. Όλα αυτά τα ερωτήματα θα καθορίσουν τον σκοπό της μελέτης.

Είναι αυτό το στάδιο μιας ΑΚΖ από το οποίο και θα εξαρτηθεί το γιατί διενεργείται η μελέτη αυτή, τι θέλει να υπολογίσει και σε τι έκταση. Έξι είναι τα βασικά ζητήματα που συνδέονται με τον καθορισμό του σκοπού και του πεδίου εφαρμογής μια ΑΚΖ, και είναι τα εξής:

- Η σαφής και ακριβής αποτύπωση του σκοπού για τον οποίο διεξάγεται η ΑΚΖ
- Ο λεπτομερής καθορισμός του κύκλου ζωής και της χρήσης του προϊόντος
- Ο καθορισμός της λειτουργικής μονάδας (functional unit)
- Ο ορισμός και περιγραφή των ορίων του συστήματος
- Ο καθορισμός των ποιοτικών προδιαγραφών για τα στοιχεία που θα χρησιμοποιηθούν
- Οι υποθέσεις, οι περιορισμοί και οι απαιτήσεις για την ερμηνεία που θα επακολουθήσει

5.1.1.2 Απογραφή δεδομένων κύκλου ζωής

Το δεύτερο στάδιο μιας ΑΚΖ είναι η απογραφή των δεδομένων (Life Cycle Inventory Analysis). Το στάδιο αυτό αφορά στην συλλογή δεδομένων και την διαδικασία υπολογισμού έτσι ώστε να εξαχθούν ποσοτικά δεδομένα για τις σχετικές εισροές και εκροές των εκάστοτε υποσυστημάτων. Η χρησιμότητα και η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων μιας μελέτης ΑΚΖ εξαρτάται από την ποιότητα των δεδομένων που χρησιμοποιούνται ως βάση, δηλαδή τα δεδομένα που περιγράφουν τις συμπεριλαμβανόμενες διεργασίες στα διάφορα μέρη του συστήματος. Ως εκ τούτου, είναι σημαντικό να καθοριστούν οι απαιτήσεις ποιότητας των δεδομένων, δηλαδή το επίπεδο ποιότητας δεδομένων που απαιτείται για την επίτευξη του στόχου της μελέτης. Πρέπει να καθοριστεί ποια δεδομένα πρέπει να συλλέγονται, καθώς και πώς και πού πρέπει να συλλέγονται. Όλα τα υλικά και οι εισροές ενέργειας, καθώς και όλες οι εκπομπές στον αέρα, το νερό και το έδαφος καταγράφονται.

Η συλλογή δεδομένων αποδεικνύεται συχνά δύσκολη καθώς απαιτεί σε βάθος γνώση όλων των διαδικασιών προκειμένου να καταγραφούν, ποσοτικά και ποιοτικά, όλες οι εισροές και τα αποτελέσματα. Το σύστημα πρέπει να θεωρηθεί ως μια σειρά υποσυστημάτων ή μονάδων διεργασιών. Ο χειρισμός δεδομένων είναι ένα ουσιαστικό βήμα που χρησιμοποιείται για τη δημιουργία δεδομένων απογραφής κατά τη φάση του LCI. Τα δεδομένα πρέπει να τροποποιηθούν ώστε να ταιριάζουν στο σκοπό της μελέτης. Τα δεδομένα πρέπει να σχετίζονται με τη λειτουργική μονάδα όπως ορίζεται στο πρώτο βήμα. Τα συλλεγόμενα δεδομένα χρησιμοποιούνται στη συνέχεια για τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων της απογραφής.

5.1.1.3 Εκτίμηση Επιπτώσεων Κύκλου Ζωής

Η εκτίμηση επιπτώσεων του κύκλου ζωής (Life Cycle Impact Assessment) προσδιορίζει και αξιολογεί την ποσότητα και τη σημασία των πιθανών περιβαλλοντικών επιπτώσεων που προκύπτουν από το LCI. Οι εισροές και οι εκροές κατανέμονται σε κατηγορίες επιπτώσεων και οι πιθανές επιπτώσεις τους ποσοτικοποιούνται σύμφωνα με παράγοντες χαρακτηρισμού. Οι μέθοδοι εκτίμησης επιπτώσεων στην ΑΚΖ χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: τις μεθόδους upstream που επικεντρώνονται στην ποσότητα των πόρων που χρησιμοποιούνται και τις μεθόδους downstream που εκτιμούν τις εκπομπές του συστήματος. Η εκτίμηση επιπτώσεων αποτελείται από δύο υποχρεωτικά στοιχεία: την ταξινόμηση και τον χαρακτηρισμό, και δύο προαιρετικά: την κανονικοποίηση και τη στάθμιση. Σε πρώτη φάση καθορίζονται οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις που σχετίζονται με τη μελέτη. Τα περιβαλλοντικά βάρη με τον ίδιο περιβαλλοντικό αντίκτυπο ομαδοποιούνται (ταξινόμηση). Στη συνέχεια, πραγματοποιείται εκτίμηση της συμβολής τους σε συγκεκριμένο περιβαλλοντικό αντίκτυπο (χαρακτηρισμός). Αυτό το βήμα επιτρέπει τον εντοπισμό των σημαντικότερων επιβαρύνσεων. Στη φάση της κανονικοποίησης, οι δείκτες επιπτώσεων σχετίζονται με μια κοινή αναφορά, ενώ κατά τη στάθμιση ταξινομούνται οι διαφορετικές κατηγορίες περιβαλλοντικών επιπτώσεων. Ένα ουσιαστικό βήμα στη μελέτη ΑΚΖ είναι η επιλογή των κατηγοριών επιπτώσεων. Οι πιο σημαντικές κατηγορίες επιπτώσεων παρουσιάζονται στον πίνακα (Baumann and Tillman 2004):

Πίνακας 42 Συνηθέστερες κατηγορίες περιβαλλοντικών επιπτώσεων

Κατηγορία επίπτωσης	Συνοτομογραφία	Αναφορά κανονικοποίησης	Μονάδα χαρακτηρισμού
Κλιματική αλλαγή	CC	Global warming potential (GWP100)	kg CO ₂ -Eq
Καταστροφή της στιβάδας του όζοντος	ODP	Ozone depletion potential (ODP)	kg CFC-11-Eq
Τοξικότητα στον άνθρωπο, καρκινική	HTP	Comparative toxic unit for human (CTUh)	CTUh
Τοξικότητα στον άνθρωπο, μη καρκινική	HTP-NC	Comparative toxic unit for human (CTUh)	CTUh
Αιωρούμενα σωματίδια	PM	Impact on human health	disease incidence
Ιονίζουσα ακτινοβολία, ανθρώπινη υγεία	IR-HH	Human exposure efficiency relative to u235	kBq U235-Eq
Σχηματισμός όζοντος λόγω φωτοχημικής οξειδωσης, ανθρώπινη υγεία (φωτοχημική ρύπανση)	POCP-HH	Tropospheric ozone concentration increase	kg NMVOC-Eq
Οξίνιση	AC	Accumulated exceedance	mol H ⁺ -Eq

		(AE)	
Ευτροφισμός στο έδαφος	EuT	Accumulated exceedance	mol N-Eq
		(AE)	
Ευτροφισμός στο γλυκό νερό	EuF	Fraction of nutrients reaching freshwater end compartment	kg P-Eq
		(P)	
Θαλάσσιος ευτροφισμός	EuM	Fraction of nutrients reaching marine end compartment (N)	kg N-Eq
Οικοτοξικότητα στο γλυκό νερό	EcF	Comparative toxic unit for ecosystems (CTUe)	CTUe
Χρήση γης	LU	Soil quality index	Dimensionless
Χρήση νερού	WU	User deprivation potential (deprivation-weighted water consumption)	m ³ world eq. deprived.
Χρήση πόρων, ορυκτών και μετάλλων	RUf	Abiotic depletion potential (ADP): elements (ultimate reserves)	MJ
Χρήση πόρων, ορυκτών και μετάλλων	RUmm	Abiotic depletion potential (ADP): elements (ultimate reserves)	kg Sb-Eq

Μερικές από τις κατηγορίες επιπτώσεων όπως η κλιματική αλλαγή και η καταστροφή της στιβάδας του όζοντος έχουν παγκόσμιο αντίκτυπο, ενώ άλλες όπως η οξίνιση, ο ευτροφισμός και η τοξικότητα στον άνθρωπο έχουν περιφερειακές και τοπικές επιπτώσεις. Οι ροές υλικών και η ενέργεια συνδέονται με επιλεγμένες κατηγορίες επιπτώσεων και οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις ποσοτικοποιούνται με βάση παράγοντες χαρακτηρισμού.

Εργαλεία Λογισμικού και μέθοδοι αξιολόγησης περιβαλλοντικών επιπτώσεων

-SimaPro: έχει αναπτυχθεί από την PRé Consultant. Το φιλικό προς το χρήστη περιβάλλον του και τα ισχυρά χαρακτηριστικά του επιτρέπουν τη συστηματική μοντελοποίηση πολύπλοκων κύκλων ζωής, επιτρέποντας ακριβείς υπολογισμούς του περιβαλλοντικού αποτυπώματος σε κάθε στάδιο του κύκλου ζωής ενός προϊόντος.

-GaBi ts: προσφέρει πλήρες πακέτο λογισμικού, που διευκολύνει τη διαδικασία επιλογής του καλύτερου συνόλου δεδομένων απογραφής με χρήση βάσεων δεδομένων ενώ συμβάλει στο σχεδιασμό των διαγραμμάτων ροής μιας διεργασίας (Senusi and Mahmood 2022).

CML: Η μέθοδος CML είναι η μεθοδολογία του Κέντρου Περιβαλλοντικών Μελετών (CML) του Πανεπιστημίου του Leiden, 2001, και επικεντρώνεται σε μια σειρά κατηγοριών περιβαλλοντικών

επιπτώσεων που εκφράζονται ως προς τις εκπομπές στο περιβάλλον. Η μέθοδος CML περιλαμβάνει ταξινόμηση, χαρακτηρισμό και κανονικοποίηση.

ReCiPe: Η μεθοδολογία ReCiPe λειτουργεί τόσο με μεσαίες όσο και με τελικές προσεγγίσεις. Δημιουργήθηκε από τους RIVM, CML, PRé Consultants, Radboud Universiteit Nijmegen και CE Delft. Η ReCiPe μπορεί να θεωρηθεί ως συγχώνευση των δύο μεθοδολογιών, λαμβάνοντας τους δείκτες μέσου σημείου από τη CML και τους δείκτες τελικού σημείου από την Ecoindicator.

USEtox: Το USEtox είναι ένα επιστημονικό μοντέλο συναίνεσης που παρέχει συνιστώμενους και ενδιάμεσους παράγοντες χαρακτηρισμού για την ανθρώπινη υγεία και τις επιπτώσεις της οικοτοξικότητας του γλυκού νερού σε τρία βήματα: περιβαλλοντική μοίρα, έκθεση και επιπτώσεις. Αναπτύχθηκε από μια ομάδα ερευνητών από την Ομάδα Εργασίας για τις Τοξικές Επιπτώσεις στο πλαίσιο της Πρωτοβουλίας Κύκλου Ζωής UNEP-SETAC.

5.1.1.4 Εκτίμηση βελτιώσεων και ερμηνείας των αποτελεσμάτων

Στο στάδιο της ερμηνείας, το πεδίο της μελέτης επανεξετάζεται και, εάν είναι απαραίτητο, αναθεωρείται λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την ανάλυση απογραφής και την εκτίμηση επιπτώσεων. Αυτό το βήμα μπορεί να είναι επαναληπτικό και να εντοπίσει ζητήματα ποιότητας δεδομένων, π.χ. κενά δεδομένων, τα οποία πρέπει να αντιμετωπιστούν ή προτείνουν να τροποποιηθεί το πεδίο εφαρμογής της ΑΚΖ για να ακολουθηθεί μια διαφορετική προσέγγιση.

Στο πλαίσιο της διδακτορικής διατριβής πραγματοποιήθηκε μία προσπάθεια εκτίμησης των περιβαλλοντικών επιπτώσεων των διεργασιών που μελετήθηκαν. Στην περίπτωση του καλλυντικού σκευάσματος η μελέτη περιορίζεται στη δημιουργία της κρέμας και την ενσωμάτωση του ενθυλακωμένου συστατικού ενώ στην περίπτωση του φιλμ, η μελέτη περιλαμβάνει περισσότερα στάδια, από τη συγκομιδή των φύλλων της τομάτας, μέχρι και τη χρήση του φιλμ για συσκευασία.

Η μελέτη LCA διεξήχθη σύμφωνα με τις συστάσεις της σειράς ISO 14040 (14040:2006 και 14044:2006). Για την εκτίμηση επιπτώσεων χρησιμοποιήθηκε η μεθοδολογία ReCiPe 2016 (H) ενώ το λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη ήταν το GABI ts (v8.7.0.18).

5.2 Ανάλυση κύκλου ζωής καλλυντικής κρέμας με ενθυλακωμένο δεοξυχολικό οξύ

Η αξιοποίηση βιοδραστικών συστατικών μετά από νανοενθυλάκωσή τους αποτελεί, ιδιαίτερα τα τελευταία χρόνια, μία από τις πιο δημοφιλείς τεχνολογίες στον κλάδο της κοσμετολογίας. Οι παραγόμενες νανοδομές, έρχονται να προσφέρουν μειωμένο μέγεθος, στοχευμένη δράση, αυξημένη σταθερότητα και προστασία καθώς και ελεγχόμενη απελευθέρωση των δραστικών συστατικών. Κατά συνέπεια τα προϊόντα νανοενθυλάκωσης που ενσωματώνονται στα καλλυντικά στοχεύουν σε αυξημένη αποτελεσματικότητα του σκευάσματος.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η αξιολόγηση του περιβαλλοντικού αποτυπώματος καλλυντικής κρέμας με ενσωματωμένη σκόνη εγκλεισμένο σε νανοσωματίδια ζεΐνης, δεοξυχολικού οξέος. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν οι διεργασίες που περιλαμβάνονται στην παραγωγή του καλλυντικού σκευάσματος αλλά και στην παρασκευή του ενθυλακωμένου βιοδραστικού συστατικού και η ενσωμάτωσή του στην κρέμα.

5.2.1 Λειτουργική μονάδα

Η λειτουργική μονάδα ορίζεται ως η ποσότητα κρέμας που παρασκευάζεται, και τέθηκε ίση με 10^3 kg. Οι ροές αναφοράς εκτιμήθηκαν για την απαιτούμενη ποσότητα ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος που απαιτείται για την παραγωγή τελικού καλλυντικού σκευάσματος.

5.2.2 Όρια συστήματος

Στη συγκεκριμένη περίπτωση το σύστημα περιλαμβάνει, τις διεργασίες διαχείρισης του βιοδραστικού συστατικού ενδιαφέροντος, τη δημιουργία της καλλυντικής κρέμας βάσης και την τελική ενσωμάτωσή του προϊόντος ενθυλάκωσης στο γαλάκτωμα για τη διαμόρφωση του τελικού καλλυντικού σκευάσματος.

5.2.3 Παραδοχές-Παρατηρήσεις

Στον πίνακα που ακολουθεί επισημαίνονται οι βασικές παραδοχές που χρησιμοποιήθηκαν ως προς τις εισροές του συστήματος.

Πίνακας 43 Παραδοχές της ΑΚΖ για τη μελέτη του καλλυντικού σκευάσματος

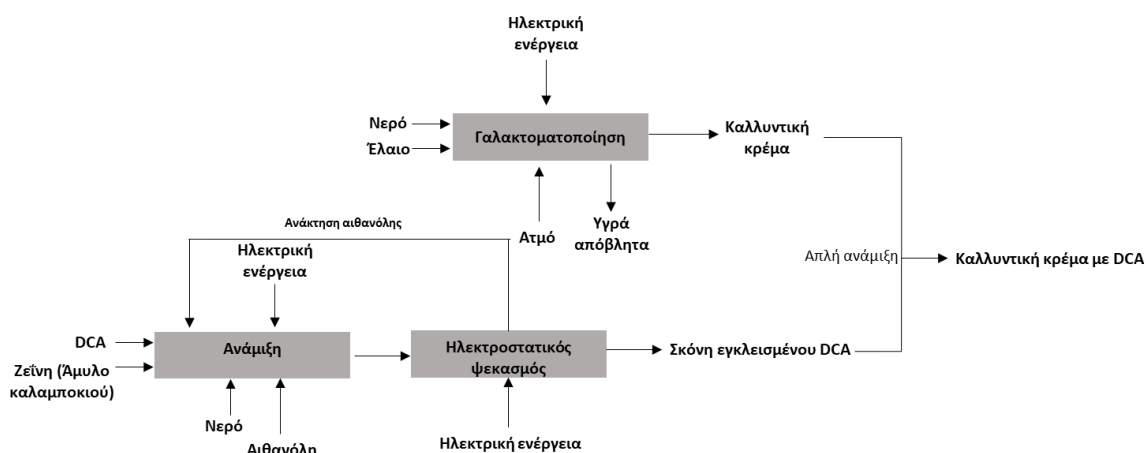
Στάδιο	Παραδοχές
Παραγωγή καλλυντικής κρέμας	Έγινε παραδοχή απλής δημιουργίας γαλακτώματος τύπου o/w με επιλογή Palm oil ως εισροή για την ελαιώδη φάση καθώς δεν υπήρχαν διαθέσιμα δεδομένα που να ανταποκρίνονται στα συστατικά της κρέμας με μεγαλύτερη ακρίβεια
Δεοξυχολικό οξύ	Λόγω έλλειψης δεδομένων για το εμπορικό σκεύασμα χρησιμοποιήθηκε αποτύπωμα από άλλο πρόσθετο αλλά λόγω της μεγάλης επίδρασης στο περιβαλλοντικό αποτύπωμα των διεργασιών προτείνεται να επιλυθεί στην επόμενη έκδοση του LCA
Παραγωγή τελικού σκευάσματος	Θεωρήθηκε αμελητέα η κατανάλωση ενέργειας για την ανάμιξη της σκόνης του ενθυλακωμένου βιοδραστικού με τη κρέμα.

5.2.4 Απογραφή δεδομένων

Στη συνέχεια παρατίθενται τα δεδομένα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη και το αντίστοιχο διάγραμμα ροής.

Πίνακας 44 Απογραφή δεδομένων της ΑΚΖ για τη μελέτη του καλλυντικού σκευάσματος

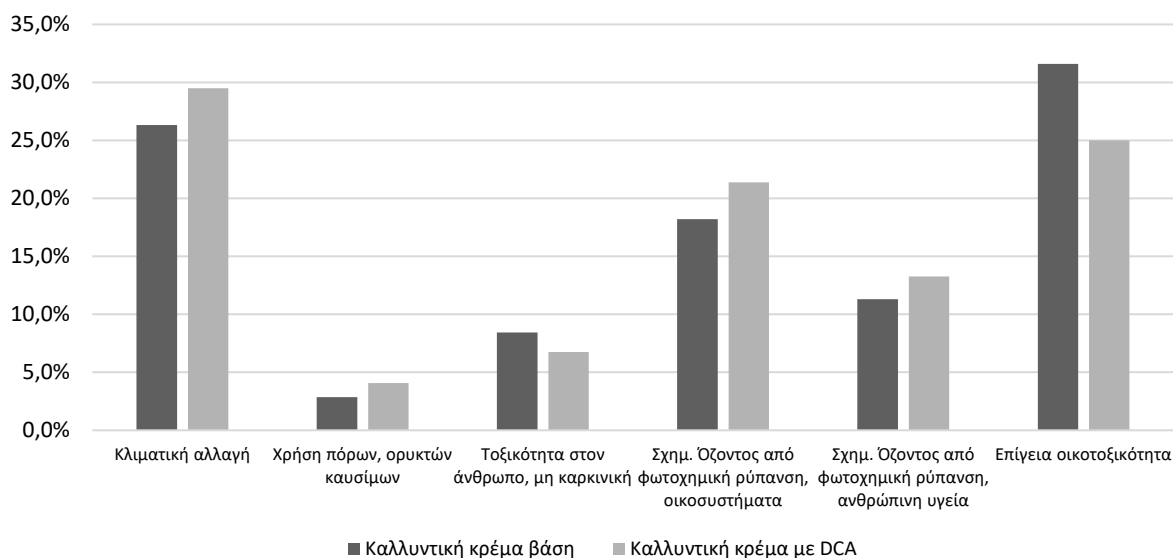
Στάδιο		Μονάδα	Ποσότητα
Παραγωγή καλλυντικής κρέμας βάσης	Απεσταγμένο νερό	kg	800
	Παραγωγή ελαίου (Palm oil)	kg	200
	Κατανάλωση ατμού	kg	85
	Ηλεκτρική ενέργεια	MJ	21,6
Ενθυλάκωση δεοξυχολικού οξέος	Δεοξυχολικό οξύ (DCA)	kg	1
	Παραγωγή αιθανόλης	kg	0,8
	Άμυλο καλαμποκιού	mg	10
	Ηλεκτρική ενέργεια	MJ	118
Απόβλητα	Υγρά απόβλητα (Διαχείριση μέσω αερόβιας ή αναερόβιας χώνευσης)	kg	80
	Αιθανόλη	kg	0,8



Εικόνα 28 Διάγραμμα ροής διεργασιών για την ΑΚΖ της κρέμας.

5.2.5 Εκτίμηση των επιπτώσεων & ερμηνεία των αποτελεσμάτων

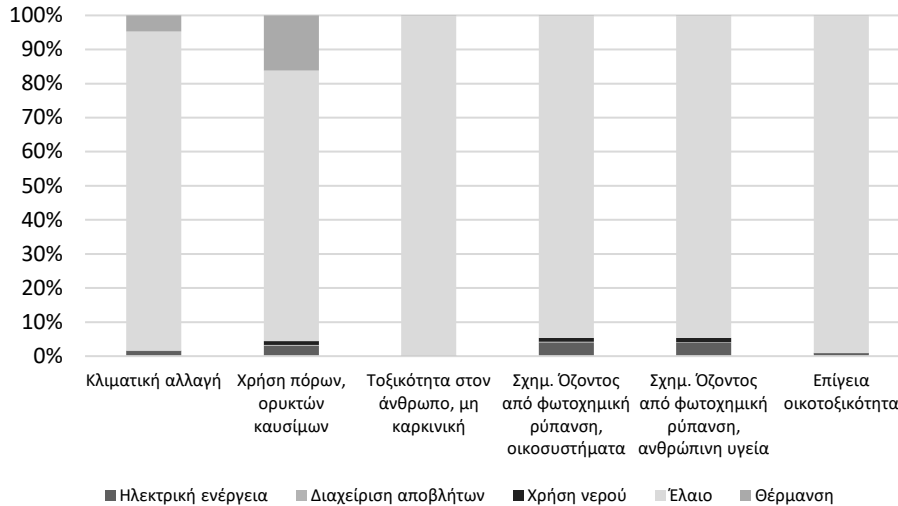
Από την ΑΚΖ που διενεργήθηκε για την παραγωγή του καλλυντικού σκευάσματος με και χωρίς το δεοξυχολικό οξύ, προέκυψαν τιμές για το σύνολο των περιβαλλοντικών επιπτώσεων του πίνακα **Σφάλμα! Το αρχείο προέλευσης της αναφοράς δεν βρέθηκε.** Από αυτές, επιλέχθηκαν εκείνες που αθροιστικά συνέβαλαν σε ποσοστό μεγαλύτερο του 80% στο συνολικό περιβαλλοντικό αποτύπωμα των διεργασιών. Στο ακόλουθο γράφημα απεικονίζονται οι συνολικές τιμές για τις επιλεγμένες κατηγορίες περιβαλλοντικών επιπτώσεων για τις δύο περιπτώσεις της μελέτης: παραγωγή απλής κρέμας βάσης και παραγωγή κρέμας με ενσωμάτωση ενθυλακωμένου DCA.



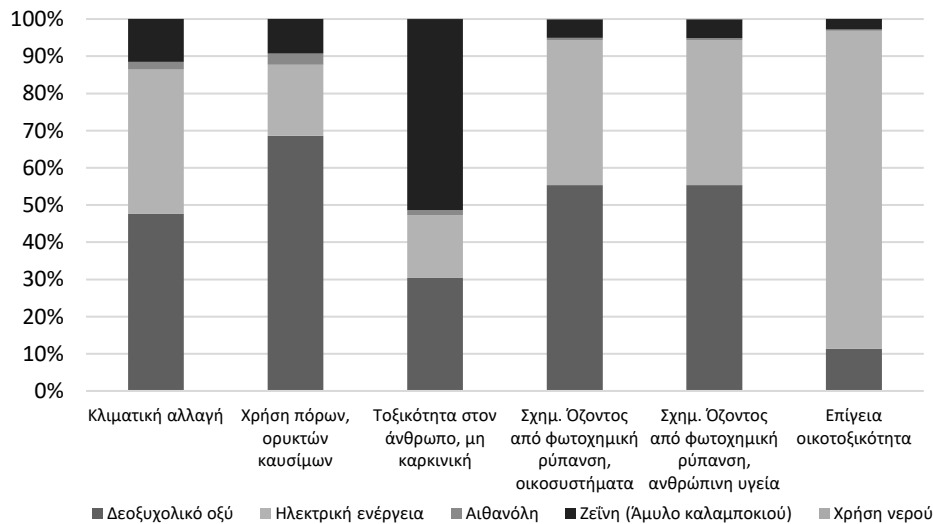
Σχήμα 40 Συγκριτική απεικόνιση περιβαλλοντικών επιπτώσεων μεταξύ της παραγωγής καλλυντικής κρέμας χωρίς και με το ενθυλακωμένο DCA.

Από τα αποτελέσματα της μελέτης, παρατηρείται ότι η προσθήκη του ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος στο καλλυντικό σκεύασμα αυξάνει συνολικά το περιβαλλοντικό αποτύπωμα της κρέμας σε χωρίς ωστόσο πολύ μεγάλες διαφοροποιήσεις. Πιο συγκεκριμένα, για την κρέμα χωρίς το ενθυλακωμένο βιοδραστικό, οι κατηγορίες επιπτώσεων με το μεγαλύτερο ποσοστό είναι η επίγεια οικοτοξικότητα και η κλιματική αλλαγή. Η προσθήκη της ενθυλάκωσης, φαίνεται να ενισχύει την επιβάρυνση σε σχέση με την κατηγορία Κλιματική αλλαγή κατά 3,2% ενώ περιορίστηκε το μερίδιο του περιβαλλοντικού αποτυπώματος για την κατηγορία Επίγεια οικοτοξικότητα κατά 6,6%. Το γεγονός αυτό οφείλεται στη συνολική αύξηση των ποσοστών των άλλων κατηγοριών επιπτώσεων λόγω της επιπλέον διεργασίας, όπως η ενίσχυση κατά 2,8% της επιβάρυνσης για την κατηγορία τη φωτοχημικής ρύπανσης στα οικοσυστήματα που οδήγησε σε ανακατανομή των μεριδίων επιβάρυνση για τις κατηγορίες ελέγχου.

Στη συνέχεια απεικονίζεται η συμβολή των διαφορετικών ροών της διεργασίας παραγωγής της κρέμας και της ενθυλάκωσης στις κατηγορίες επιπτώσεων.



Σχήμα 41 Συμβολή των διαφορετικών ροών της διεργασίας παραγωγής καλλυντικής κρέμας βάσης σε κάθε μία από τις κατηγορίες επιπτώσεων.



Σχήμα 42 Συμβολή των διαφορετικών ροών της διεργασίας παραγωγής του ενθυλακωμένου DCA σε κάθε μία από τις κατηγορίες επιπτώσεων.

Από την ανάλυση των ροών παραγωγής του καλλυντικού σκευάσματος, παρατηρήθηκε ότι η παραγωγή του ελαίου κατέχει το μεγαλύτερο μερίδιο στη συνολική περιβαλλοντική επιβάρυνση της διεργασίας για όλες τις κατηγορίες επιβάρυνσης ενώ αντίστοιχα για τη διεργασία ενθυλάκωσης, οι απαιτήσεις σε ηλεκτρική ενέργεια και η παραλαβή του βιοδραστικού κατέχουν το μεγαλύτερο μερίδιο. Ωστόσο για την περίπτωση του δεοξυχολικού οξέος, όπως αναφέρθηκε και στις παραδοχές, χρησιμοποιήθηκε αποτύπωμα άλλου πρόσθετου, συνεπώς οι τιμές αυτές θα ήταν σημαντικά μικρότερες για το ακριβές συστατικό.

5.2.6 Οικονομική αξιολόγηση για την παραγωγή καλλυντικής κρέμας με ενθυλακωμένο δεοξυχολικό οξύ

Πίνακας 45 Αξιολόγηση του κόστους παραγωγής καλλυντικής κρέμας με ενθυλακωμένο δεοξυχολικό οξύ σε μορφή νανοσωματιδίων.

Καλλυντικό σκεύασμα	Τιμή (EUR /kg)	Ποσότητα (kg) /συσκευασία κρέμας	Τιμή (EUR /σκεύασμα	Πηγή
Κρέμα βάση	4,05	0,05	0,202	Βιομηχανικά δεδομένα
Κρέμα με νανοσωματίδια ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος	Τιμή (EUR /kg)	Ποσότητα (kg) /συσκευασία κρέμας	Τιμή (EUR /συσκευασία κρέμας	
Α' ύλες για την ενθυλάκωση (ζεϊνη, δεοξυχολικό οξύ, αιθανόλη)	82,1	0,00055	0,045	Εμπορική τιμή για βιομηχανική κλίμακα
Ηλεκτρική ενέργεια για electrospraying και ενσωμάτωση στην κρέμα	$2,73 \cdot 10^{-2}$		$0,15 \cdot 10^{-3}$	Δεδομένα ΔΕΗ με βάση τις καταναλώσεις των μηχανημάτων που χρησιμοποιούνται
Συνολικό κόστος			0,045	

Για μία καλλυντική κρέμα 50 g, το κόστος παραγωγής εκτιμήθηκε στα 0,202 € ενώ η ενθυλάκωση του δεοξυχολικού οξέος και η ενσωμάτωση του προϊόντος ενθυλάκωσης στην κρέμα βάση αναμένεται να επιβαρύνει το κόστος παραγωγής κατά 0,045 €. Η τιμή θα αντισταθμιστεί από την αποτελεσματικότητα του προϊόντος και την αυξημένη τιμή πώλησης που θα οριστεί σε σχέση με την απλή κρέμα. Συγκεκριμένα, αξίζει να πραγματοποιηθεί εκτίμηση της λιποδιαλυτικής ικανότητας της κρέμας ώστε να ληφθεί υπόψη και ο παράγοντας αυτός στην τιμολόγηση του προϊόντος. Αναφέρεται ότι στον υπολογισμό δεν συμπεριλήφθηκε το κόστος εργασίας (labor cost).

5.3 Ανάλυση κύκλου ζωής και οικονομική αξιολόγηση του φιλμ με επικάλυψη νανοϊνών ενθουλακωμένου εκχυλίσματος φύλλων τομάτας

Οι λειτουργικές μεμβράνες συσκευασίας τροφίμων ενισχυμένες με αντιοξειδωτικούς/αντιμικροβιακούς παράγοντες είναι ένας καινοτόμος τύπος υλικού συσκευασίας ειδικά σχεδιασμένος για να προστατεύει τα τρόφιμα από τη μόλυνση και την αλλοίωση (Giannakourou and Tsigoni 2021). Αυτή η συσκευασία αιχμής αποτελείται από λεπτά φιλμ που είναι ενισχυμένα με δραστικούς παράγοντες που αναστέλλουν αποτελεσματικά την ανάπτυξη επιβλαβών μικροοργανισμών, που ευθύνονται για τροφιμογενείς ασθένειες και αυξάνουν τη σταθερότητα του προϊόντος.

Οι μεμβράνες συσκευασίας τροφίμων εμπλουτισμένες με αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ενώσεις προσφέρουν πολλά πλεονεκτήματα πέρα από την άμυνα στα μικρόβια. Παρουσιάζουν αυξημένη ανθεκτικότητα, αντοχή και ευελιξία, ενώ ταυτόχρονα βελτιώνουν τις ιδιότητες φραγμού έναντι της υγρασίας, του οξυγόνου και άλλων περιβαλλοντικών παραγόντων που μπορούν να επηρεάσουν αρνητικά την ποιότητα του συσκευασμένου τροφίμου. Αυτός ο τύπος υλικού συσκευασίας βρίσκει εκτεταμένη εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων, καθώς αποτελεί αξιόπιστη λύση για τη συσκευασία διαφόρων ειδών διατροφής, συμπεριλαμβανομένων των φρέσκων προϊόντων, του κρέατος, των πουλερικών, των θαλασσινών και των γαλακτοκομικών προϊόντων. Η αποτελεσματικότητά του είναι ιδιαίτερα πολύτιμη για τα ευπαθή προϊόντα που απαιτούν παρατεταμένη διάρκεια ζωής, όπως τα φρέσκα φρούτα και λαχανικά, καθώς και τα έτοιμα προς κατανάλωση γεύματα και σνακ (Khan, Tango et al. 2017). Συνοπτικά, η εμφάνιση των συγκεκριμένων μεμβρανών αποτελεί καίρια πρόοδο στη βιομηχανία συσκευασίας τροφίμων. Με την εγγύηση της ασφάλειας των τροφίμων, τη διατήρηση της ποιότητας και την αύξηση της διάρκειας ζωής στο ράφι, αυτή η καινοτόμος λύση συσκευασίας αντιμετωπίζει κρίσιμες ανησυχίες, ενώ ταυτόχρονα ενισχύει την ανθεκτικότητα και τη βιωσιμότητα (Rawdkuen, Punbusayakul et al. 2016).

5.3.1 Σενάρια

Μια αξιοσημείωτη εφαρμογή αυτής της τεχνολογίας μελετήθηκε στην παρούσα διατριβή, κατά την οποία λήφθηκε υπόψη η παράταση της διάρκειας ζωής των τοματών μέσω της χρήσης των συγκεκριμένων μεμβρανών. Ειδικότερα, στο συγκεκριμένο πλαίσιο, εκχύλισμα προερχόμενο από υπολείμματα τομάτας, εξετάστηκε ως μια βιώσιμη προσέγγιση στη συσκευασία τροφίμων. Χρησιμοποιώντας μεμβράνες ενισχυμένες με τα βιοδραστικά συστατικά του εκχυλίσματος, η διάρκεια ζωής των τοματών μπορεί να παραταθεί σημαντικά, εξασφαλίζοντας τη φρεσκάδα τους και μειώνοντας τα απορρίμματα τροφίμων.

Τα σενάρια που διαμορφώθηκαν στην συγκεκριμένη περίπτωση μελέτης ήταν τα εξής:

- Σενάριο α: Το πρώτο σενάριο αναφέρεται στην συμβατική μεμβράνη κατασκευασμένη από πολυπροπυλένιο.

- Σενάριο β: Το εναλλακτικό σενάριο, αναφέρεται σε μία λειτουργική μεμβράνη τροφίμων, η οποία είναι επικαλυμμένη με νανοϊνες ζεΐνης που περιέχουν ενσωματωμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας μέσω ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας.

Σκοπός ήταν να εξεταστούν οι συνολικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις της λειτουργικής μεμβράνης συσκευασίας τροφίμων εμπλουτισμένης με αντιοξειδωτικούς και αντιμικροβιακούς παράγοντες, οι οποίοι έχει διαπιστωθεί ότι παρατείνουν τη διάρκεια ζωής των φρέσκων λαχανικών και να συγκριθούν με μια συμβατική μεμβράνη συσκευασίας από πολυπροπυλένιο.

Η επιμήκυνση της διάρκειας ζωής της φρέσκιας τομάτας μέσω της χρήσης των λειτουργικών μεμβρανών συσκευασίας αναμένεται να οδηγήσει σε μείωση τόσο των αποβλήτων τροφίμων και συσκευασιών, όσο και των συναφών αποβλήτων στο στάδιο της λιανικής πώλησης και του τελικού καταναλωτή. Επιπλέον, η επίδραση του βελτιωμένου χρόνου ζωής στη μείωση των παραγόμενων αποβλήτων φρέσκια τομάτας είναι δυνατό να επιφέρει μείωση των απαιτήσεων που σχετίζονται με την καλλιέργεια του προϊόντος, αλλά και με τις ανάγκες μεταφοράς του στο σύνολο της αλυσίδας εφοδιασμού.

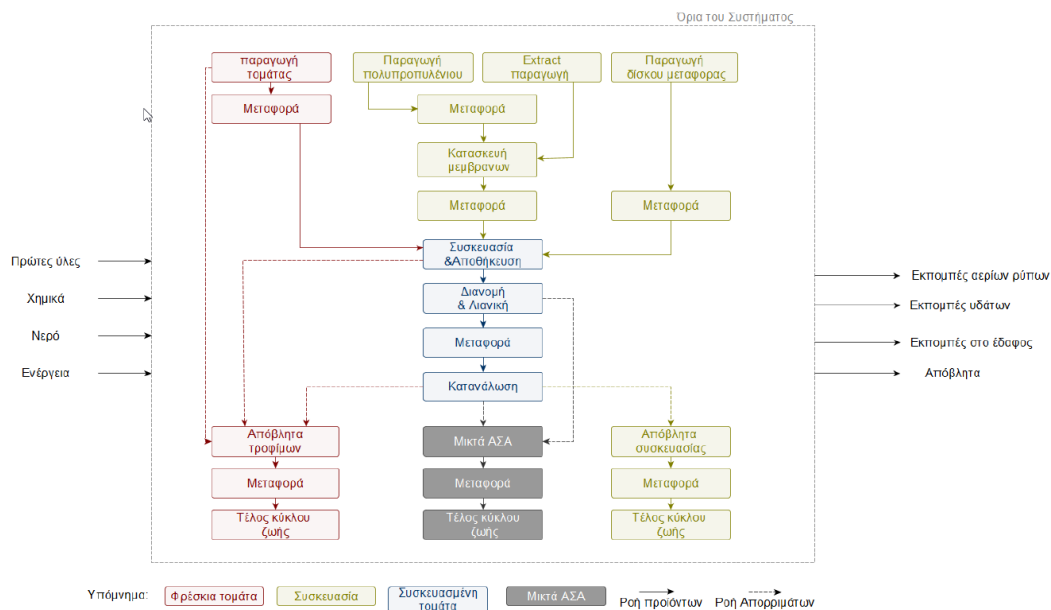
5.3.2 Λειτουργική μονάδα

Η λειτουργική μονάδα ορίζεται ως η ποσότητα τομάτας που καταναλώνεται από τον τελικό καταναλωτή, και ορίζεται ίση με 1 kg, κατά τη διάρκεια ζωής της τομάτας. Οι ροές αναφοράς εκτιμώνται για την ποσότητα των παραγόμενων τοματών που απαιτούνται για την εκπλήρωση της λειτουργικής μονάδας, συμπεριλαμβανομένης της ποσότητας των τοματών που χάνεται ή και σπαταλάται. Με βάση αυτό, εκτιμάται επίσης η ποσότητα του υλικού συσκευασίας που απαιτείται για την κάλυψη της λειτουργικής μονάδας.

5.3.3 Όρια του συστήματος

Τα όρια του συστήματος που επιλέχθηκαν για την παρούσα ανάλυση υιοθετούν την προοπτική της αλυσίδας εφοδιασμού, καλύπτοντας κάθε στάδιο του κύκλου ζωής τόσο των υλικών συσκευασίας όσο και της φρέσκιας τομάτας, από την εξόρυξη των πρώτων υλών έως τη διάθεση στο τέλος του κύκλου ζωής τους, ακολουθώντας την προσέγγιση "cradle to grave". Συγκεκριμένα, τα όρια της ανάλυσης ξεκινούν από την κατασκευή του υλικού συσκευασίας και τη γεωργική παραγωγή, την επεξεργασία και τη συσκευασία των τοματών. Συνεχίζονται με τη διανομή τους στα σημεία λιανικής πώλησης, την κατανάλωση από τον τελικό χρήστη και τη διάθεση των σχετικών αποβλήτων. Επιπλέον, τα όρια του συστήματος περιλαμβάνουν όλες τις απαραίτητες μεταφορές για τη

μετακίνηση των πρώτων υλών και των ενδιάμεσων προϊόντων μεταξύ των σταδίων παραγωγής, καθώς και τη μεταφορά των τελικών προϊόντων στο στάδιο της λιανικής πώλησης και στον καταναλωτή, αλλά και τη μεταφορά προς επεξεργασία των αποβλήτων που παράγονται σε όλα τα στάδια της εφοδιαστικής αλυσίδας. Τέλος, το γεωγραφικό πλαίσιο ορίστηκε να αναφέρεται στη μέση κατάσταση στην Ευρώπη, ώστε τα αποτελέσματα της μελέτης να είναι εύκολα εφαρμόσιμα σε άλλες παρόμοιες περιπτώσεις στην Ευρώπη.



Εικόνα 29 Όρια του συστήματος για την μελέτη της παραγωγής και χρήσης των φιλμ.

5.3.4 Παραδοχές και περιορισμοί

Κατά την εκπόνηση της παρούσας μελέτης χρειάστηκε να γίνουν κάποιες παραδοχές προκειμένου να αντιμετωπιστεί η έλλειψη δεδομένων σε κάποια από τα στάδια του συστήματος που μελετήθηκε. Οι παραδοχές αυτές παρουσιάζονται συνοπτικά στον ακόλουθο πίνακα.

Πίνακας 46 Παραδοχές ΑΚΖ για τη μελέτη.

Στάδιο	Παραδοχές
Παραγωγή φρέσκιας τομάτας	Θεωρήθηκε εγκατάσταση μη θερμαινόμενου θερμοκηπίου για την παραγωγή των φρέσκων τοματών.
Παραγωγή δίσκου μεταφοράς	Ο δίσκος στον οποίο τοποθετούνται οι φρέσκιες τομάτες και καλύπτονται με λεπτό υμένιο θεωρήθηκε ότι κατασκευάζεται από λεπτό λευκό χαρτόνι.
Κατανάλωση	Θεωρήθηκε ότι ο όγκος του προϊόντος μειώνεται σταδιακά με βάση σταθερό ημερήσιο ρυθμό κατανάλωσης.
Μεταφορές	Θεωρήθηκε ότι οι απαιτούμενες μεταφορές πραγματοποιούνται κυρίως σε περιφερειακό επίπεδο (NUTS2). Η μόνη εξαίρεση αφορά την παραγωγή των βιοδραστικών ουσιών, η οποία θεωρήθηκε ότι βρίσκεται εντός των εγκαταστάσεων παραγωγής του λεπτού υμενίου. Τέλος, για τη μεταφορά του προϊόντος από το κατάστημα λιανικής πώλησης στο νοικοκυριό, η μεταφορά με αυτοκίνητο θεωρήθηκε σε ποσοστό 70% (το υπόλοιπο 30% θεωρήθηκε ότι μεταφέρεται με τα πόδια).
Διαχείριση αποβλήτων	Οι παραδοχές σχετικά με την διαχείριση των παραγόμενων αποβλήτων έγιναν με βάση στοιχεία της Eurostat 2023:

	<p>Σχετικά με τα στάδια παραγωγή φρέσκιας τομάτας, συσκευασία, παραγωγή βιοδραστικών συστατικών θεωρήθηκε κατανομή: 94,32% ανακύκλωση (53% κομποστοποίηση; 47% αναερόβια χώνευση), 3,85% καύση και 1,83% υγειονομική ταφή (EU-27, 2020, Eurostat 2023^b).</p> <p>Σχετικά με τη διανομή και λιανική πώληση θεωρήθηκε κατανομή: 50,5% καύση με ανάκτηση ενέργειας και 49,5% υγειονομική ταφή (EU-27, 2019 (Eurostat 2023^a))</p>
--	--

5.3.5 Απογραφή δεδομένων

Στο υποκεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται αναλυτικά η απογραφή των δεδομένων στην οποία στηρίχτηκε η μοντελοποίηση του προς μελέτη συστήματος και για τα οποία προέκυψαν τα αποτελέσματα, όπως αυτά θα παρουσιαστούν στο επόμενο υποκεφάλαιο.

Αρχικά, τα πρωτογενή δεδομένα σχετικά με την εξαγωγή των βιοδραστικών παραγόντων από απόβλητα τομάτας ελήφθησαν από τα αποτελέσματα των εργαστηριακών πειραμάτων που έδειξαν ότι με την χρήση της μεμβράνης με το ενθυλακωμένο εκχύλισμα επιτυγχάνεται επέκταση του χρόνου ζωής της φρέσκιας τομάτας έως και 3 ημέρες, σε σχέση με την συμβατική μεμβράνη συσκευασίας. Τα πειραματικά αυτά αποτελέσματα αξιοποιήθηκαν για τον υπολογισμό των ροών αναφοράς της μελέτης. Η συσχέτιση μεταξύ της μείωσης των αποβλήτων τροφίμων και της παράτασης της διάρκειας ζωής των συσκευασμένων φρέσκων τοματών λόγω των εναλλακτικών επιλογών συσκευασίας ενσωματώθηκε στην ανάλυση AKZ. Η ποσοτικοποίηση των αποβλήτων τροφίμων σε ολόκληρη την εφοδιαστική αλυσίδα της φρέσκιας τομάτας, αλλά και των τροφίμων γενικότερα, είναι ένα μάλλον πολύπλοκο ζήτημα, το οποίο επηρεάζεται από διάφορες παραμέτρους. Στην παρούσα μελέτη, η ποσοτικοποίηση της σπατάλης τροφίμων σε ολόκληρη την αλυσίδα εφοδιασμού τροφίμων βασίστηκε στις μελέτες των Caldeira et al. και Mena et al. (Mena, Terry et al. 2014, Caldeira, De Laurentiis et al. 2019). Με βάση τα αποτελέσματά τους, η σπατάλη τροφίμων υπολογίστηκε ως ποσοστό της συνολικής γεωργικής παραγωγής τομάτας, λαμβάνοντας υπόψη ότι δεν πραγματοποιείται μεταποίηση και εξαιρώντας τον τομέα της εστίασης από το στάδιο της κατανάλωσης, αφήνοντας τα νοικοκυριά ως τον μοναδικό παραγωγό αποβλήτων τροφίμων στο στάδιο της κατανάλωσης. Τα αποτελέσματα σχετικά με την κατανομή των αποβλήτων τροφίμων από τομάτες στα κύρια στάδια της αλυσίδας εφοδιασμού συσκευασμένων τοματών (γεωργική παραγωγή, αποθήκευση, διανομή και κατανάλωση) παρουσιάζονται στον Πίνακα 47 και για τα δύο σενάρια που εξετάστηκαν.

Πίνακας 47 Κατανομή των αποβλήτων τροφίμων στα κύρια στάδια της αλυσίδας εφοδιασμού.

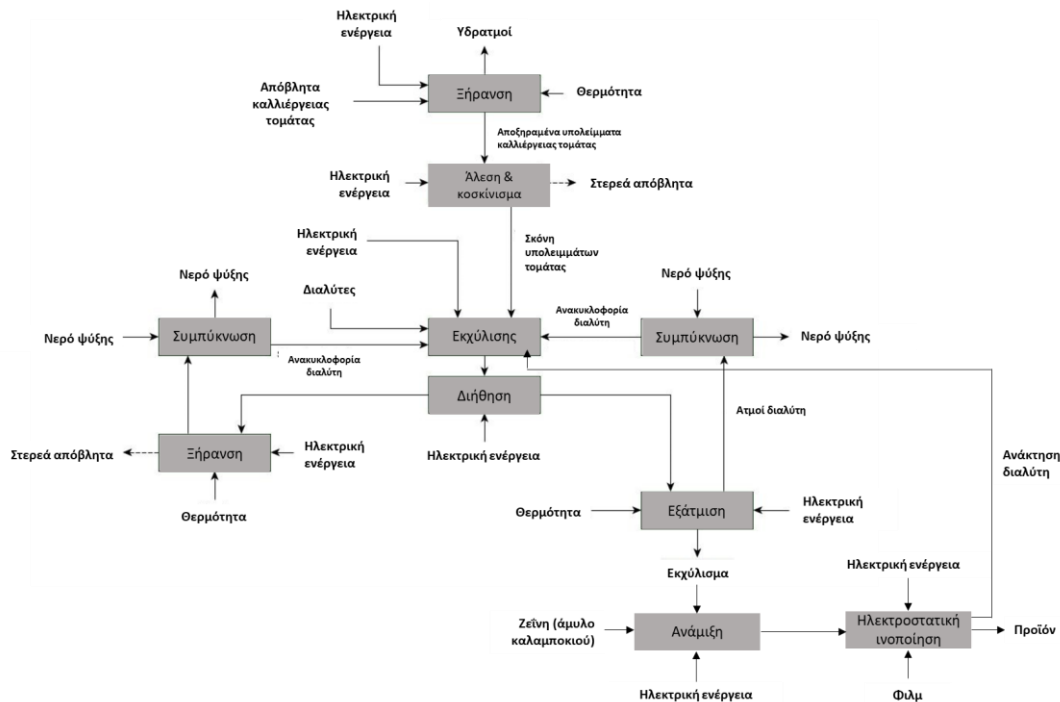
Στάδιο αλυσίδας εφοδιασμού	Απόβλητα τροφίμων (% της συνολικής παραγωγής τομάτας)		
	Σενάριο α	Σενάριο β	Πηγή
Αγροτική παραγωγή	23%	23%	(Mena, Terry et al. 2014, Caldeira, De Laurentiis et al. 2019)
Συσκευασία & αποθήκευση	4,5%	4,5%	
Διανομή & λιανική πώληση	1,5%	1,0%	*Υπολογισμοί με βάση τους (Casson, Giovenzana et al. 2022)
Κατανάλωση	21%	13%	

Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζεται αναλυτικά η απογραφή των δεδομένων για τα δύο μελετούμενα Σενάρια.

Πίνακας 48 Απογραφή δεδομένων για τα Σενάρια α, β.

Στάδιο		Μονάδα μέτρησης	Σενάριο α	Σενάριο β
Παραγωγή τομάτας	Παραγωγή καρπών τομάτας	kg	1,98	1,7
Παραγωγή συσκευασίας	Παραγωγή μεμβράνης	g	6	5,3
	Παραγωγή δίσκου μεταφοράς	g	27	23
	Ηλεκτρισμός μέσης τάσης			
	Άμυλο καλαμποκιού	mg	-	605,9
	Κατανάλωση ηλεκτρισμού		350,6	347
Παραγωγή αντιοξειδωτικών/ αντιμικροβιακών εκχυλισμάτων	Παραγωγή εκχυλισμάτων	Mg	-	60,8
	Παραγωγή αιθανόλης	mg	-	23
	Παραγωγή οξικού οξέος	mg	-	1,2
	Κατανάλωση ηλεκτρισμού	kJ	-	3,1
	Κατανάλωση θερμότητας	kJ	-	8,7
Χρήση νερού	Μαλακό νερό	g	121,6	104,8
Μεταφορές	Μεταφορές	Kgkm	500	390
Διαχείριση αποβλήτων	Διαχείριση βιοαποβλήτων μέσω καύσης	g	219	183
	Διαχείριση βιοαποβλήτων μέσω κομποστοποίησης	g	299	257
	Διαχείριση βιοαποβλήτων μέσω αναερόβιας χώνευσης	g	265	228
	Διαχείριση βιοαποβλήτων μέσω υγειονομικής ταφής	g	196	163,5
	Διαχείριση απόβλητου φιλμ σε μονάδα διαλογής ανακυκλώσιμων υλικών	mg	517	517
	Διαχείριση απόβλητου φιλμ μέσω καύσης	g	2,9	2,9
	Διαχείριση απόβλητου φιλμ μέσω ταφής	g	2,7	2,7
	Διαχείριση απόβλητου χαρτονιού σε μονάδα διαλογής ανακυκλώσιμων υλικών	g	9,3	8,2
	Διαχείριση απόβλητου χαρτονιού μέσω καύσης	g	9	7,9

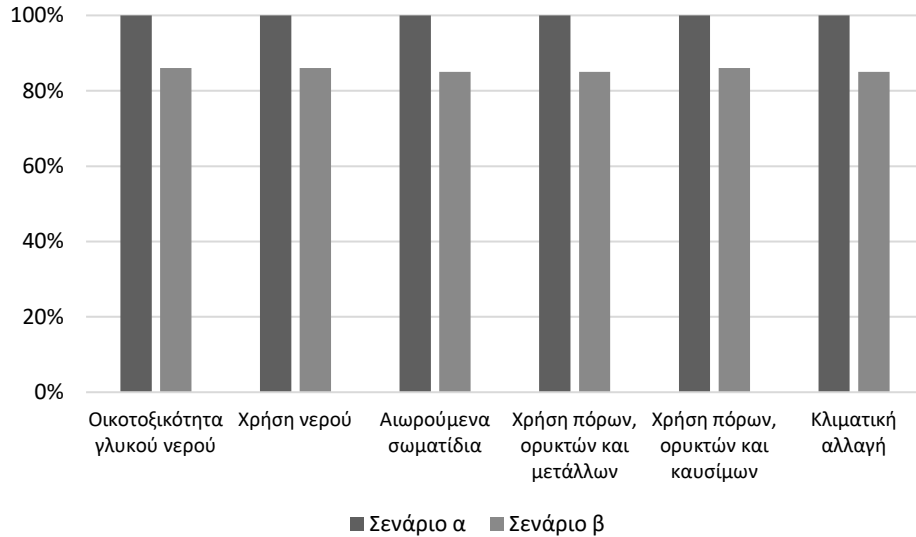
	Διαχείριση απόβλητου χαρτονιού μέσω ταφής	g	8,4	7,3
	Διαχείριση λυμάτων	cm ³	122	122



Εικόνα 30 Διάγραμμα ροής των διεργασιών διαχείρισης των φύλλων τομάτας και συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη ΑΚΖ.

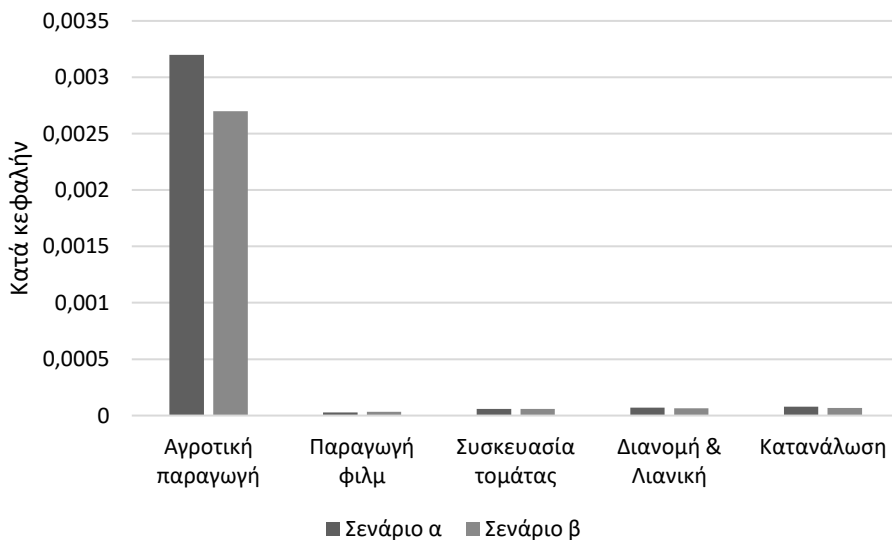
5.3.6 Εκτίμηση των επιπτώσεων & ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Η ανάλυση που ακολουθεί αφορά σε έξι επιπτώσεις οι οποίες επιλέχθηκαν μετά από την αξιολόγηση των συνολικών σταθμισμένων περιβαλλοντικών επιπτώσεων για κάθε σενάριο. Πιο συγκεκριμένα, εξετάστηκαν μόνο οι κατηγορίες επιπτώσεων που συμβάλλουν αθροιστικά στο 82% των συνολικών σταθμισμένων αποτελεσμάτων. Οι επιπτώσεις αυτές είναι: η οικοτοξικότητα στο γλυκό νερό (Ecotoxicity - freshwater, EcF), η κλιματική αλλαγή (Climate Change, CC), η χρήση νερού (Water use, WU), τα αιωρούμενα σωματίδια (Particulate matter, PM), η χρήση πόρων, ορυκτών καυσίμων (Resource use, fossils RUf) και η χρήση πόρων, ορυκτών και μετάλλων (Resource use, minerals and metals, RUmm). Στο γράφημα που ακολουθεί παρουσιάζεται μια συγκριτική επισκόπηση των συνολικών περιβαλλοντικών επιπτώσεων για τα τρία σενάρια που μελετήθηκαν για τις 6 επιλεγμένες κατηγορίες επιπτώσεων. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως ποσοστά του Σεναρίου α, το οποίο αποτελεί την περίπτωση αναφοράς και ορίζεται ως 100%. Όπως φαίνεται, και λαμβάνοντας υπόψη ολόκληρη την αλυσίδα εφοδιασμού του μελετώμενου προϊόντος, η εφαρμογή του νέου φιλμ (Σενάριο β) οδηγεί σε βελτιωμένη περιβαλλοντική επίδοση σε όλες τις κατηγορίες επιπτώσεων σε σύγκριση με την απλή μεμβράνη PP. Αναλυτικότερα, το Σενάριο β παρουσιάζει μείωση κατά 14-15% για κάθε κατηγορία επίπτωσης σε σύγκριση με το Σενάριο α.



Σχήμα 43 Συγκριτική απεικόνιση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων του σεναρίου β που μελετήθηκε σε σχέση με το Σενάριο α.

Στην εικόνα που ακολουθεί παρουσιάζονται οι συνολικές κανονικοποιημένες περιβαλλοντικές επιπτώσεις για κάθε στάδιο της αλυσίδας εφοδιασμού, συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής των φιλμ, για τα δύο σεναρία. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η γεωργική παραγωγή τομάτας είναι ο κύριος συντελεστής της περιβαλλοντικής επιβάρυνσης, αντιπροσωπεύοντας περίπου το 90% των συνολικών επιπτώσεων. Ωστόσο, το Σενάριο β επιδεικνύει βελτιωμένες περιβαλλοντικές επιδόσεις σε σύγκριση με το βασικό σενάριο του απλού φιλμ για όλα τα στάδια της αλυσίδας εφοδιασμού εκτός από την παραγωγή των μεμβρανών.



Σχήμα 44 Συνολικά κανονικοποιημένα αποτελέσματα ανά σεναριο για τα στάδια της αλυσίδας εφοδιασμού, συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής ταινιών.

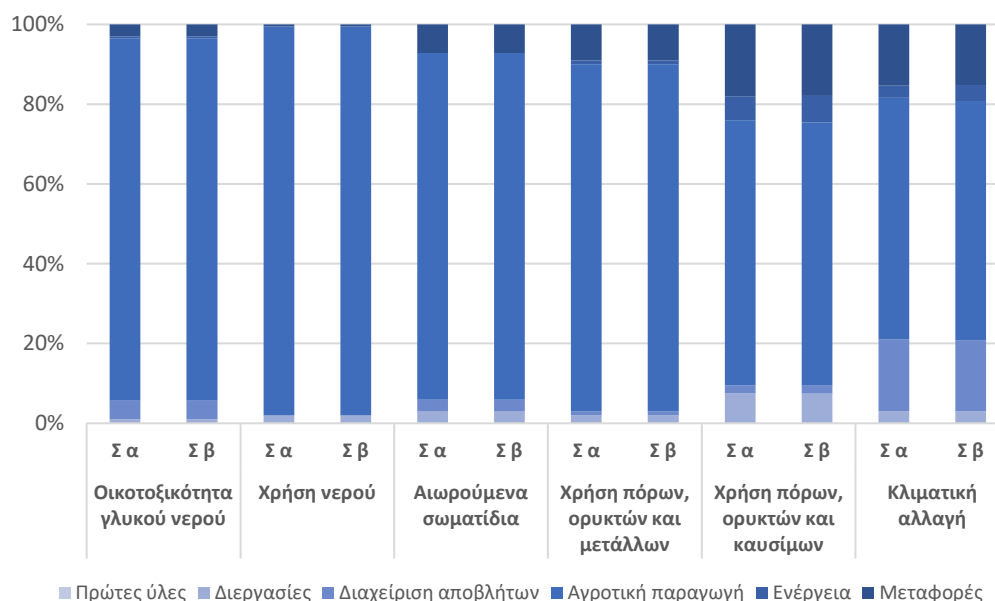
Είναι ενδιαφέρον ότι το καινοτόμο φιλμ που παράγεται με την αξιοποίηση βιοδραστικών συστατικών από φύλλα τομάτας, παρουσιάζει αυξημένες περιβαλλοντικές επιπτώσεις της τάξης του 18% σε σύγκριση με την συμβατική μεμβράνη σε ότι αφορά το στάδιο της παραγωγής. Αυτό μπορεί

να αποδοθεί στις πρόσθετες διεργασίες και τα βοηθητικά υλικά που απαιτούνται για την εξαγωγή των βιοδραστικών ενώσεων. Οι μειωμένες περιβαλλοντικές επιβαρύνσεις του Σεναρίου β οφείλονται στην παρατεταμένη διάρκεια ζωής που επιτυγχάνεται με τη χρήση ενεργής συσκευασίας, γεγονός που οδηγεί σε μειωμένη παραγωγή αποβλήτων και μειωμένες δραστηριότητες επεξεργασίας διαχείρισης αποβλήτων σε όλα τα στάδια της αλυσίδας εφοδιασμού. Αυτό, με τη σειρά του, μειώνει την παραγωγή φρέσκων τοματών και υλικών συσκευασίας, με αποτέλεσμα μειωμένες ανάγκες μεταφοράς πρώτων υλών και αποβλήτων. Ωστόσο, η γραμμή παραγωγής των νέων υλικών παρουσιάζει επιδεινωμένο συνολικό αντίκτυπο σε σύγκριση με τη γραμμή παραγωγής του βασικού υλικού συσκευασίας. Αυτό αποδίδεται στις πρόσθετες περιβαλλοντικές επιβαρύνσεις που προκαλούνται από τις διαδικασίες εκχύλισης που απαιτούνται για την απομόνωση και την ενσωμάτωση των βιοδραστικών ενώσεων, καθώς και από την επεξεργασία των ειδικών για τη διαδικασία ρευμάτων αποβλήτων, όπως τα βιοαπόβλητα και ο χρησιμοποιημένος διαλύτης.

Προκειμένου να γίνει πιο κατανοητή η παρουσίαση των αποτελεσμάτων της AKZ, τα στάδια που περιλαμβάνονται στα Σενάρια α και β ομαδοποιήθηκαν διαμορφώνοντας τις εξής κατηγορίες:

- Αγροτική παραγωγή
- Πρώτες ύλες
- Διεργασίες
- Ενέργεια
- Μεταφορές
- Διαχείριση αποβλήτων

Η συνεισφορά των ομάδων στις συνολικές επιπτώσεις ακολουθεί παρόμοια τάση μεταξύ των επιλεγμένων κατηγοριών επιπτώσεων στα Σενάρια α και β. Στο ακόλουθο σχήμα παρουσιάζεται η κατανομή των επιπτώσεων των διαφόρων ομάδων δραστηριοτήτων στις επιλεγμένες κατηγορίες επιπτώσεων για τα Σενάρια α και β.



Σχήμα 45 Συμβολή των ομαδοποιημένων σταδίων ανά κατηγορία επιπτώσεων για τα Σενάρια α (Σ α) και β (Σ β).

Στις περισσότερες κατηγορίες επιπτώσεων, η ομάδα της Αγροτικής παραγωγής έχει το υψηλότερο μερίδιο επιπτώσεων, ακολουθούμενη από τις ομάδες Μεταφορές και Διαχείριση αποβλήτων. Εστιάζοντας στις προαναφερθείσες ομάδες, για την ομάδα Διεργασίες, οι διαδικασίες παραγωγής του απλού φιλμ και του δίσκου μεταφοράς έχουν τη μεγαλύτερη συνεισφορά, ενώ στην ομάδα Μεταφορές, οι περισσότερες επιπτώσεις προκύπτουν από τη μεταφορά των συσκευασμένων φρέσκων τοματών με ψυγεία στο λιανικό εμπόριο και τη μεταφορά με επιβατικά αυτοκίνητα. Επιπλέον, οι περισσότερες επιπτώσεις στην ομάδα Ενέργεια συνδέονται με την κατανάλωση ηλεκτρικής ενέργειας για την παραγωγή φιλμ και τη λειτουργία των εγκαταστάσεων συσκευασίας. Το Σενάριο β ακολουθεί το ίδιο μοτίβο όσον αφορά τη συνολική συνεισφορά στις επιπτώσεις ανά ομάδα. Εστιάζοντας σε κάθε κατηγορία επίπτωσης ξεχωριστά, για την κατηγορία επίπτωσης της Κλιματικής αλλαγής παρατηρείται ότι η Αγροτική παραγωγή συνεισφέρει κατά 59,6% στις συνολικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις, ακολουθούμενη από τις ομάδες Διαχείριση αποβλήτων (17,7%) - κυρίως λόγω της υγειονομικής ταφής των παραγόμενων αποβλήτων - και Μεταφορές (15,1%). Για την κατηγορία επιπτώσεων Χρήση πόρων, ορυκτά καύσιμα, η Αγροτική παραγωγή συμβάλλει κατά 66,4% στις συνολικές επιπτώσεις, ακολουθούμενη από τις ομάδες Μεταφορές (18%), Διεργασίες (7,5%) και Ενέργεια (6%). Στις κατηγορίες επιπτώσεων Αιωρούμενα Σωματίδια και Χρήση πόρων, ορυκτά και μέταλλα, η Αγροτική παραγωγή συμβάλλει κατά σχεδόν 88% και στις δύο κατηγορίες, γεγονός που συνδέεται άμεσα με τη χρήση λιπασμάτων, και ακολουθεί η ομάδα Μεταφορές με συνεισφορά περίπου 7,3% και 9,1% αντίστοιχα ανά κατηγορία επιπτώσεων. Το υψηλότερο μερίδιο των επιπτώσεων στην κατηγορία Χρήση νερού προέρχεται από την Αγροτική παραγωγή (97,5%), το οποίο οφείλεται στην άρδευση που απαιτείται για την παραγωγή ντομάτας. Οι επιπτώσεις στην Οικοτοξικότητα, γλυκού νερού, από την Αγροτική παραγωγή (90,8%)

προέρχονται κυρίως από τη χρήση λιπασμάτων και πλαστικών δομικών υλικών που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή θερμοκηπίων, ενώ οι επιπτώσεις από την ομάδα Διαχείριση αποβλήτων (4,7%) προκαλούνται από την διαχείριση των παραγόμενων βιοαποβλήτων μέσω κομποστοποίησης.

5.3.7 Οικονομική αξιολόγηση για την παραγωγή επικαλυμμένου φιλμ με ενθυλακωμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας

Για την οικονομική αξιολόγηση του καινοτόμου φιλμ χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από τη βιβλιογραφία και την εταιρία Αχαϊκά πλαστικά Α.Ε. Θεωρήθηκε ότι η παραγωγική διαδικασία του φιλμ λεπτού υμενίου δεν απαιτεί επένδυση σε νέο εξοπλισμό και ανθρώπινο δυναμικό για μια επιχείρηση. Μπορεί να γίνει απλή υποκατάσταση της παραγωγής κάποιου άλλου προϊόντος ή παραγωγή σε μεγαλύτερη δυναμικότητα για την κάλυψη της ζήτησης του εν λόγω προϊόντος.

Πίνακας 49 Αξιολόγηση κόστους παραγωγής φιλμ με επικάλυψη ναοϊνών ενθυλακωμένου εκχυλίσματος

Συμβατικό φιλμ λεπτού υμενίου	Τιμή (EUR /kg)			Πηγή
Φιλμ PP	0,14			Βιομηχανικά δεδομένα ΑΧΑΪΚΑ ΠΛΑΣΤΙΚΑ Α.Ε.
Φιλμ με ενθυλακωμένο εκχ. φύλλων τομάτας	Τιμή (EUR /kg)	Ποσότητα (kg) φιλμ /kg	Τιμή (EUR /kg φιλμ)	
Α' ύλες για το φιλμ αντιοξειδωτικών (ζείνη, αιθανόλη)	3,15	0,113	0,356	Εμπορική τιμή για βιομηχανική κλίμακα
Ηλεκτρική ενέργεια για εκχύλιση, electrospinning και μετεπεξεργασία	$2,79 \cdot 10^{-2}$		$4,19 \cdot 10^{-3}$	Δεδομένα ΔΕΗ με βάση τις καταναλώσεις των μηχανημάτων που χρησιμοποιούνται
Συνολικό κόστος			0,36	

Όπως φαίνεται από τις εκτιμήσεις για το κόστος παραγωγής, η παρασκευή της επικάλυψης του καινοτόμου φιλμ με τα ενθυλακωμένα βιοδραστικά συστατικά θα επιβαρύνει την βιομηχανία με ένα επιπλέον κόστος της τάξης των 0,361€/kg. Η διαφορά, σε σχέση με το απλό φιλμ οφείλεται στις επιπλέον διεργασίες που απαιτούνται για την εκχύλιση και ισοποίηση, ωστόσο αναμένεται αυτό να αντισταθμιστεί από μία αυξημένη τιμή αγοράς. Η αύξηση της τιμής αγοράς θα στηρίζεται αφενός στην αξιοποίηση παραπροϊόντων του αγρού και αφετέρου στο ότι με τη χρήση της νέας συσκευασίας τα προϊόντα θα διατηρούνται περισσότερο. Αυτή η παράταση του χρόνου ζωής και η

μείωση της σπατάλης τροφίμων μπορεί να αντισταθμίσει αυτή τη διαφορά της τιμής. Αναφέρεται ότι στον υπολογισμό δεν συμπεριλήφθηκε το κόστος εργασίας (labor cost).

5.4 Συμπεράσματα

Στο παρόν κεφάλαιο, πραγματοποιήθηκε ΑΚΖ και εκτίμηση του κόστους παραγωγής για τα προϊόντα της συγκεκριμένης διατριβής.

Αναφορικά με το καλλυντικό σκεύασμα με το ενθυλακωμένο δεοξυχολικό οξύ, πραγματοποιήθηκε ΑΚΖ εστιασμένη στη παραγωγή της κρέμας και την ενθυλάκωση καθώς στην παρούσα μελέτη δεν εξετάστηκαν άλλες διεργασίες. Από την επεξεργασία των δεδομένων προέκυψε ότι η διεργασία της ενθυλάκωσης οδηγεί σε αύξηση του περιβαλλοντικού αποτυπώματος του τελικού προϊόντος ενώ εκτιμάται ότι θα οδηγήσει και σε αύξηση του κόστους παραγωγής. Ωστόσο, για την πραγματοποίηση της μελέτης έγιναν αρκετές παραδοχές. Επιπλέον δεν λήφθηκε υπόψη η τελική χρήση της κρέμας, χαρακτηριστικό στο οποίο και στοχεύει η ενσωμάτωση του δραστικού συστατικού. Με την επιβεβαίωση της λιποδιαλυτικής δράση της κρέμας σε βάθος χρόνου, λόγω του μεγέθους, της σταθερότητας των νανοδομών και της ελεγχόμενης απελευθέρωσης του δεοξυχολικού οξέος θα υπάρξει σημαντική διαφοροποίηση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων ενώ το τελικό προϊόν θα πωλείται και σε υψηλότερη τιμή σε σχέση με άλλα πιο συμβατικά προϊόντα, υπερκαλύπτοντας το κόστος παραγωγής. Το νέο προϊόν με το ενθυλακωμένο δεοξυχολικό οξύ θα έρθει στην αγορά για να ανταγωνιστεί το εμπορικό προϊόν Kybella, που αποτελεί ενέσιμο σκεύασμα για την περιοχή κάτω από το σαγόκι όπου εντοπίζεται συσσωρευμένο λίπος. Η αποτελεσματικότητα, λοιπόν, της νέας κρέμας θα απαλλάξει από την ανάγκη εξειδικευμένου προσωπικού για τη χορήγηση των ενέσεων και κατά συνέπεια θα μειώσει το κόστος και οι πιθανές παρενέργειες των ενέσεων. Σε επόμενη φάση, θα μπορούσε ευκολότερα να δοκιμαστεί η παραγωγή κρέμας με το συστατικό για άλλα μέρη του σώματος όπου παρατηρείται συσσώρευση λίπους και που δεν θα ήταν το ίδιο εύκολη η χρήση ενέσιμου σκευάσματος, προσθέτοντας ακόμα μεγαλύτερη δυναμική στο προϊόν.

Αναφορικά με το φιλμ λεπτού υμενίου, η συγκεκριμένη ανάλυση παρουσίασε ότι το Σενάριο β επιδεικνύει καλύτερες περιβαλλοντικές επιδόσεις από το σενάριο αναφοράς α σε όλα τα στάδια της αλυσίδας εφοδιασμού εκτός από την παραγωγή των μεμβρανών. Εστιάζοντας μόνο στην παραγωγική διαδικασία των λειτουργικών μεμβρανών συσκευασίας παρατηρήθηκε ότι η λειτουργική μεμβράνη που παράχθηκε με αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ενώσεις παρουσίασε αυξημένες περιβαλλοντικές επιπτώσεις της τάξης του 18% σε σύγκριση με την συμβατική μεμβράνη PP. Αντιθέτως, λαμβάνοντας υπόψιν ολόκληρη την αλυσίδα εφοδιασμού της φρέσκιας συσκευασμένης τομάτας, η γεωργική παραγωγή τομάτας είναι το κυρίαρχο επιβαρυντικό

στάδιο σε όλες τις κατηγορίες επιπτώσεων, συμβάλλοντας σχεδόν κατά 88% επί των συνολικών επιπτώσεων και σε ποσοστό άνω του 90% στις κατηγορίες επιπτώσεων Οικοτοξικότητα στο γλυκό νερό και Χρήση νερού. Συνοπτικά, η μελέτη υπογραμμίζει ότι η βελτίωση των περιβαλλοντικών επιδόσεων της αλυσίδας εφοδιασμού της συσκευασμένης φρέσκιας τομάτας απαιτεί μια ολοκληρωμένη προσέγγιση που αφορά πολλαπλά στάδια, συμπεριλαμβανομένης της γεωργικής παραγωγής, της μεταφοράς, της διαχείρισης αποβλήτων και της παραγωγής ταινιών. Η ενσωμάτωση των αντιμικροβιακών παραγόντων στις μεμβράνες συσκευασίας είναι δυνατό να οδηγήσει σε μειωμένη παραγωγή αποβλήτων και μειωμένες ανάγκες μεταφοράς, αλλά και στην μείωση των απαιτήσεων για την καλλιέργεια της τομάτας, με αποτέλεσμα να παρατηρείται βελτιωμένη περιβαλλοντική απόδοση των λειτουργικών έναντι των συμβατικών μεμβρανών συσκευασίας. Παρόλα αυτά, οι διαδικασίες εξαγωγής των αντιμικροβιακών παραγόντων αυξάνουν την περιβαλλοντική επιβάρυνση κατά το στάδιο παραγωγής των λειτουργικών μεμβρανών. Για τον λόγο αυτό είναι σημαντικό να επιλέγονται προσεκτικά τα όρια μελέτης του συστήματος. Όσον αφορά στην οικονομική αξιολόγηση του καινοτόμου φιλμ, το κόστος παραγωγής εκτιμήθηκε, όπως ήταν αναμενόμενο, αυξημένο σε σχέση με την παραγωγή του συμβατικού φιλμ. Ωστόσο, η στροφή σε πιο φιλικές προς το περιβάλλον λύσεις αποτελεί τον κύριο παράγοντα που δίνει ώθηση στην ζήτηση αυτού του νέου προϊόντος που θα μειώσει τα απόβλητα τροφίμων λόγω της επιμήκυνσης του χρόνου ζωής των συσκευασμένων προϊόντων αλλά και της αξιοποίησης υπολειμμάτων καλλιεργειών.

Βιβλιογραφία

- Baumann, H. and A.-M. Tillman (2004). The hitch hiker's guide to LCA : an orientation in life cycle assessment methodology and application. Lund, Sweden, Studentlitteratur Lund, Sweden.
- Caldeira, C., V. De Laurentiis, S. Corrado, F. van Holsteijn and S. Sala (2019). "Quantification of food waste per product group along the food supply chain in the European Union: a mass flow analysis." Resources, Conservation and Recycling **149**: 479-488.
- Casson, A., V. Giovenzana, V. Frigerio, M. Zambelli, R. Beghi, A. Pampuri, A. Tugnolo, A. Merlini, L. Colombo, S. Limbo and R. Guidetti (2022). "Beyond the eco-design of case-ready beef packaging: The relationship between food waste and shelf-life as a key element in life cycle assessment." Food Packaging and Shelf Life **34**: 100943.
- Eurostat 2023^a, EStatistics | Eurostat. Municipal waste by waste management operations (2023). Available at: https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/ENV_WASMUN__custom_5439304/default/table?lang=en (Τελευταία πρόσβαση: 31 Μαρτίου 2023).
- Eurostat 2023^b, Statistics | Eurostat. Treatment of waste by waste category, hazardousness and waste management operations (2023). Available at: https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/ENV_WASTRT__custom_5443557/default/table?lang=en (Τελευταία πρόσβαση: 31 Μαρτίου 2023).

- Finkbeiner, M. (2014). The International Standards as the Constitution of Life Cycle Assessment: The ISO 14040 Series and its Offspring. Background and Future Prospects in Life Cycle Assessment. W. Klöpffer. Dordrecht, Springer Netherlands: 85-106.
- Giannakourou, M. C. and T. N. Tsironi (2021) "Application of Processing and Packaging Hurdles for Fresh-Cut Fruits and Vegetables Preservation." Foods **10** DOI: 10.3390/foods10040830.
- Khan, I., C. N. Tango, S. Miskeen, B. H. Lee and D.-H. Oh (2017). "Hurdle technology: A novel approach for enhanced food quality and safety – A review." Food Control **73**: 1426-1444.
- Mena, C., L. A. Terry, A. Williams and L. Ellram (2014). "Causes of waste across multi-tier supply networks: Cases in the UK food sector." International Journal of Production Economics **152**: 144-158.
- Rawdkuen, S., N. Punbusayakul and D. S. Lee (2016). Chapter 17 - Antimicrobial Packaging for Meat Products. Antimicrobial Food Packaging. J. Barros-Velázquez. San Diego, Academic Press: 229-241.
- Senusi, F. and S. Mahmood (2022). Application of GaBi software in identifying potential environmental impacts in fabrication of 3D bone tissue engineering.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Αντικείμενο της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν η μελέτη της καινοτόμου ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας για την ενθυλάκωση βιοδραστικών συστατικών. Τα συστατικά ενδιαφέροντος ήταν το δεοξυχολικό οξύ, ένα δευτερογενές χολικό οξύ και το εκχύλισμα από τα παραπροϊόντα υδροπονικής καλλιέργειας τομάτας ενώ τα προϊόντα ενθυλάκωσής τους αξιοποιήθηκαν και με την ενσωμάτωσή τους σε καλλυντικό προϊόν και φιλμ για συσκευασία τροφίμων, αντίστοιχα.

Για την περίπτωση του εκχυλίσματος, όπως αναλύθηκε στο **δεύτερο κεφάλαιο** της διατριβής, φύλλα και βλαστοί από την υδροπονική καλλιέργεια τομάτας αποξηράθηκαν και εκχυλίστηκαν με διάφορες μεθόδους εκχύλισης και στόχο την παραλαβή και αξιολόγηση του βιοδραστικού περιεχομένου τους. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων αυτών υπέδειξαν τα φύλλα, ως το μέρος του φυτού με το υψηλότερο περιεχόμενο σε βιοδραστικά συστατικά για όλες τις μεθόδους εκχύλισης ενώ ο συνδυασμός της ανάδευσης για 72 ώρες με την επακόλουθη χρήση υπερήχων (UAE) για την παραλαβή των εναπομεινάντων εγκλωβισμένων βιοδραστικών έδωσε και τα πιο πλούσια, σε δραστικές ενώσεις, εκχυλίσματα. Το εκχύλισμα αυτό, μελετήθηκε περαιτέρω με χρήση Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Πίεσης για την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των κύριων βιοδραστικών συστατικών του. Η ανάλυση επιβεβαίωσε την ύπαρξη φλαβονοειδών (κυρίως ρουτίνη), καροτενοειδών (κυρίως λουτεΐνη και β-καροτένιο)) που είχαν ήδη εντοπιστεί με τη χρήση φωτόμετρου με τα πρωτόκολλα των ολικών φλαβονοειδών και του DPPH αλλά τώρα έγινε και ανίχνευσή τους ονομαστικά αλλά και των αλκαλοειδών τοματίνη, τοματιδίνη. Το εκχύλισμα αυτό αξιοποιήθηκε στη συνέχεια για ενθυλάκωση.

Στο **τρίτο κεφάλαιο** της διατριβής, μελετήθηκε σε βάθος η ηλεκτρο-υδροδυναμική διεργασία η οποία διακρίνεται στον ηλεκτροστατικό ψεκασμό και την ηλεκτροστατική ινοποίηση. Αρχικά, για την κατανόηση της διεργασίας και την καταγραφή της συμπεριφοράς των υλικών κατά τη χρήση της, εφαρμόστηκαν στη διάταξη διαλύματα διαφορετικών πολυμερών (υδροξυ-προπυλο-β-κυκλοδεξτρίνη, πολυγαλακτικό οξύ, χιτοζάνη και ζεΐνη). Για κάθε πολυμερές, μελετήθηκαν διαφορετικοί συνδυασμοί συνθηκών και ποικίλες συγκεντρώσεις τους και αξιολογήθηκε τόσο η ικανότητά τους να σχηματίσουν προϊόν αλλά και η μορφολογία του προϊόντος αυτού. Από τις παρατηρήσεις αυτές προέκυψαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα για την ικανότητα-ευελιξία της διεργασίας να δίνει προϊόντα με χρήση διαφορετικών υλικών. Μεταξύ των πολυμερών αυτών, η ζεΐνη έδωσε τα πιο ενδιαφέροντα αποτελέσματα για την παρούσα μελέτη. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε, για το πολυμερές αυτό, η ικανότητα σχηματισμού διακριτών σωματιδίων αλλά και ομοιόμορφων ινών με μεταβολή της συγκέντρωσής του. Το PLA ήταν ένα ακόμα υλικό που ενώ οι

μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του οδηγούσαν σε ομοιόμορφες ίνες, μειώνοντας τη συγκέντρωση υπήρξε ορισμένη μεταβολή της δομής, χωρίς ωστόσο να επιτευχθεί η δημιουργία διακριτών σωματιδίων παρα συσσωματωμάτων ακανόνιστου σχήματος. Κατά συνέπεια η ζεΐνη επιλέχθηκε για διεξοδικότερη μελέτη.

Όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, στην παρούσα διατριβή τα βιοδραστικά συστατικά ενδιαφέροντος θα προορίζονταν για μια τελική εφαρμογή που στην περίπτωση του δεοξυχολικού οξέος που διαθέτει λιποδιαλυτική δράση, αυτή θα ήταν μία καλλυντική κρέμα ενώ για το εκχύλισμα των φύλλων της τομάτας με την αντιμικροβιακή-αντιοξειδωτική δράση θα ήταν η παραγωγή φιλμ συσκευασίας. Με γνώμονα, λοιπόν, αυτό το τελικό στάδιο, διαμορφώθηκε η απαίτηση για παραλαβή του ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος σε μορφή σκόνης και του ενθυλακωμένου εκχυλίσματος φύλλων σε μορφή μεμβράνης. Κατά συνέπεια, μετά την επιλογή της ζεΐνης ως φορέα ενθυλάκωσης, έγινε νέα μελέτη για να επιλεγεί η βέλτιστη αναλογία διαλυτών αιθανόλης-νερού και συγκέντρωσής της για την παραλαβή και των δύο διαμορφώσεων (σωματιδίων και ινών). Μεταξύ των μιγμάτων αιθανόλης/νερού, η αναλογία 90/10 (v/v) κρίθηκε η ιδανικότερη για τον ηλεκτροστατικό ψεκασμό και η αναλογία 80/20 (v/v) για την ινοποίηση με βάση χαρακτηριστικά των παραγόμενων διαλυμάτων (επιφανειακή τάση, ηλεκτρική αγωγιμότητα και ιξώδες). Στη συνέχεια με τους επιλεγμένους διαλύτες, εξετάστηκε η επίδραση των λειτουργικών παραμέτρων της διεργασίας στην διάμετρο των σωματιδίων και των ινών, αντίστοιχα. Όπως παρατηρήθηκε, η αύξηση της ροής και της συγκέντρωσης οδηγεί σε δομές μεγαλύτερων διαμέτρων ενώ αντίθετα αύξηση της απόστασης και της εφαρμοζόμενης τάσης οδηγούν σε μείωση των διαμέτρων. Από τη συνδυαστική μελέτη των παραμέτρων αυτών επιλέχθηκαν οι συγκεντρώσεις 10 και 25% w/v για παραλαβή των βέλτιστων σωματιδίων και ινών, αντίστοιχα από τη ζεΐνη.

Με σταθερές συγκεντρώσεις της ζεΐνης σε επόμενο βήμα, πραγματοποιήθηκε η ενθυλάκωση των βιοδραστικών συστατικών και έγινε βελτιστοποίηση της διεργασίας για την αριστοποίηση της απόδοσης εγκλεισμού με χρήση του σχεδιασμού κεντρικού σημείου. Για λόγους σύγκρισης τα βιοδραστικά συστατικά ενθυλακώθηκαν επίσης με εφαρμογή της κλασικής μεθόδου της ξήρανσης με ψεκασμό με τη ζεΐνη ως μήτρα ενθυλάκωσης. Για τη διεργασία αυτή, πραγματοποιήθηκε επίσης βελτιστοποίηση για την επίτευξη της μέγιστης δυνατής απόδοσης εγκλεισμού.

Από τον πειραματικό σχεδιασμό που διενεργήθηκε, τις υψηλότερες τιμές απόδοσης εγκλεισμού έδωσε ο ηλεκτροστατικός ψεκασμός, ακολουθούμενος από την ηλεκτροστατική ινοποίηση, την ξήρανση με ψεκασμό για το δεοξυχολικό οξύ και τέλος για το εκχύλισμα. Συνολικά οι αποδόσεις εγκλεισμού κυμάνθηκαν μεταξύ 79 έως 93% για το σύνολο των δειγμάτων. Οι υψηλότερες τιμές απόδοσης εγκλεισμού για το δεοξυχολικό οξύ σε σχέση με το εκχύλισμα που παρατηρήθηκε και για

τις δύο μεθόδους, δείχνει ενδεχομένως ότι η ζεΐνη ήταν αποτελεσματικότερη για τον εγκλεισμό αυτού του συστατικού ενώ οι συνολικά υψηλότερες τιμές της μεθόδου έναντι της ξήρανσης με ψεκασμό αποδεικνύουν την υπεροχή της στη δημιουργία συστημάτων εγκλεισμού.

Τα προϊόντα των διεργασιών εγκλεισμού αξιολογήθηκαν, στη συνέχεια, ως προς τη δομή-μορφολογία τους με τις νανοΐνες του ενθυλακωμένου εκχυλίσματος να εμφανίζουν την μικρότερη διάμετρο ($0,32 \pm 0,083 \mu\text{m}$) ακολουθούμενες από τα νανοσωματίδια του δεοξυχολικού οξέος ($0,37 \pm 0,09 \mu\text{m}$) ενώ η ξήρανση με ψεκασμό έδωσε δομές μεταξύ 7,5-8,5 μm . Επιπλέον, μέσω της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης παρατηρήθηκε η σταθερότητα του σημείου υαλώδους μετάπτωσης των νανοσωματιδίων και νανοϊνων που κυμάνθηκε στους 129-145 °C ανεξάρτητα από την παραμονή των δειγμάτων σε διαφορετικές συνθήκες υγρασίας ($a_w=0,11-0,95$) και θερμοκρασίας (25 και 45 °C). Αντίθετα οι δομές της ξήρανσης με ψεκασμό φάνηκαν πιο επιρρεπείς στην προσρόφηση υγρασίας και επομένως στην υποβάθμισή τους. Για το λόγο αυτό στα δεδομένα περιεχόμενης υγρασίας των δειγμάτων της ξήρανσης με ψεκασμό εφαρμόστηκαν ορισμένα ευρέως χρησιμοποιούμενα μοντέλα που περιγράφουν τις ισόθερμες ρόφησης (GAB, BET, Oswin, Halsey) και αποδείχθηκε ότι η GAB είχε την καλύτερη προσαρμογή στα δεδομένα τόσο για τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν στους 25 όσο και στους 45 °C. Η μελέτη των δομών με χρήση της μεθόδου ATR-FTIR έδειξε ότι οι χαρακτηριστικές κορυφές της μήτρας παρέμειναν αμετάβλητες από τη διεργασία της ενθυλάκωσης ενώ για το σύνολο των προϊόντων εγκλεισμού εντοπίστηκαν χαρακτηριστικές κορυφές των συστατικών, επιβεβαιώνοντας τον επιτυχή εγκλεισμό τους. Τέλος μελετήθηκε η απελευθέρωση των συστατικών σε περιβάλλον διαλύτη αλλά και κατά την αποθήκευση σε θαλάμους διαφορετικής σχετικής υγρασίας. Όσον αφορά στην απελευθέρωση σε περιβάλλον διαλύτη, αυτή παρατηρήθηκε σημαντικά ταχύτερη για τα προϊόντα ενθυλάκωσης μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό. Το γεγονός αυτό οφείλεται αφενός στην προκατεργασία που υπέστη η ζεΐνη προκειμένου να διαλυτοποιηθεί στο νερό για την διεξαγωγή του πειράματος στις υψηλές θερμοκρασίες που απαιτεί η συγκεκριμένη μέθοδος και αφετέρου δηλώνει την πιο ομοιόμορφη κατανομή των βιοδραστικών εντός της μήτρας με τη χρήση της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας. Πρέπει, επίσης να αναφερθεί ότι οι δομές της ξήρανσης με ψεκασμό είχαν μικρότερο περιεχόμενο σε βιοδραστικά σε σχέση με τα προϊόντα της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας. Μεταξύ, των δύο προϊόντων της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας, τα νανοσωματίδια επέδειξαν ελαφρώς ταχύτερη απελευθέρωση της ουσίας σε σχέση με τις νανοΐνες, γεγονός που οφείλεται αφενός στο διαφορετικό μέσο διασποράς (ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού οξέος και διάλυμα 3% οξικού οξέος αντίστοιχα) αλλά και στο διαφορετικό σχήμα τους. Όσον αφορά στην απελευθέρωση από του θαλάμους διαφορετικών ενεργοτήτων νερού, αυτή αποδείχθηκε για όλα τα δείγματα βραδύτερη σε σχέση με την απελευθέρωση από περιβάλλον διαλύτη, όπως ήταν αναμενόμενο. Επιπλέον ο

ρυθμός απελευθέρωσης ήταν μεγαλύτερος για τα εγκλεισμένα βιοδραστικά μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό ακολουθούμενος από αυτόν των νανοσωματιδίων και τέλος των νανοϊνών, δηλαδή συμπεριφορά ανάλογη της απελευθέρωσης και στο περιβάλλον διαλύτη. Μεταξύ των δύο διαμορφώσεων της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας αναφέρεται ότι κατά τον πρώτο μήνα μελέτης της απελευθέρωσης από τους θαλάμους, νανοΐνες επέδειξαν ταχύτερη απελευθέρωση από τα νανοσωματίδια που ωστόσο στη συνέχεια ελαττώθηκε με τα νανοσωματίδια να καταλήγουν στο τέλος των δύο μηνών σε μεγαλύτερα ποσοστά απελευθέρωσης. Επιπλέον παρατηρήθηκε για τα εγκλεισμένα βιοδραστικά συστατικά μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό, εγκλωβισμός τους στο εσωτερικό της μήτρας και αδυναμία απελευθέρωσης λόγω κατάρρευσης της δομής σε περιβάλλον σχετικής υγρασίας 75-95%. Αυτό οφείλεται στην προεργασία που η μήτρα είχε υποστεί προκειμένου να διαλυτοποιηθεί στο νερό για την πραγματοποίηση της ξήρανσης με ψεκασμό αλλά και στο γεγονός ότι τα ενθυλακωμένα συστατικά με τη μέθοδο αυτή παρέμειναν περισσότερο επιφανειακά και επομένως ήταν ευκολότερη η απελευθέρωσή τους.

Συνολικά η μελέτη της ενθυλάκωσης με εφαρμογή της καινοτόμου ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας και φορέα τη ζεΐνη, έδωσε εξαιρετικά αποτελέσματα ως προς τη θερμική σταθερότητα, την ανθεκτικότητα των δομών έναντι της υγρασίας, την απόδοση εγκλεισμού και την σταδιακή απελευθέρωση των βιοδραστικών συστατικών. Συνεπώς τα συστήματα που παρήχθησαν θα μπορούσαν να βρουν εφαρμογή σε πολλά πεδία όπως στις βιομηχανίες τροφίμων, φαρμάκων, καλλυντικών κλπ. Από την άλλη αξίζει να σημειωθεί ότι και η ξήρανση με ψεκασμό έδωσε πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα. Μάλιστα, η ενθυλάκωση συστατικών με τη συγκεκριμένη μήτρα με χρήση αυτής της μεθόδου δεν έχει μελετηθεί ιδιαίτερα, λόγω ακριβώς της μη διαλυτότητάς της στο νερό και της απαίτησης επομένως για χρήση εναλλακτικών ψυκτικών μέσων (συστοιχίες φιαλών αζώτου) έναντι του νερού για τα αιθανολικά διαλύματά της. Στη παρούσα μελέτη, λοιπόν, με την μεταβολή του pH και διαλυτοποίηση της ζεΐνης στο νερό, παρά το γεγονός ότι, μειώθηκε η σταθερότητα των παραγόμενων δομών έναντι της υγρασίας, αυτές διατήρησαν ικανοποιητικά χαρακτηριστικά τόσο ως προς την απόδοση εγκλεισμού όσο και ως προς τη θερμική σταθερότητα ($T_g \geq 85 \text{ }^\circ\text{C}$ για όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν) και απελευθέρωση των βιοδραστικών.

Στο **τέταρτο κεφάλαιο** της διατριβής, μελετήθηκε, σε εργαστηριακό επίπεδο, η αξιοποίηση των προϊόντων ενθυλάκωσης της ηλεκτρο-υδροδυναμικής διεργασίας για την παραγωγή καταναλωτικών προϊόντων. Πιο συγκεκριμένα, ενθυλακωμένο δεοξυχολικό οξύ σε μορφή σκόνης ενσωματώθηκε σε γαλάκτωμα τύπου O/W για την παρασκευή καλλυντικής κρέμας. Η επιλογή του ηλεκτροστατικού ψεκασμού και η επιμονή για παραλαβή του ενθυλακωμένου δεοξυχολικού οξέος σε μορφή σκόνης και όχι ινών, έγκειται στο γεγονός ότι η ενσωμάτωση λεπτόκοκκης σκόνης στο γαλάκτωμα δεν θα προκαλούσε αλλαγές στην υφή και την ομοιογένειά της γιατί η διασπορά θα

ήταν ευκολότερη. Με την ινοποίηση, από την άλλη, μπορεί λόγω της μεγαλύτερης συγκέντρωσης της ζεΐνης η παραγωγικότητα να ήταν μεγαλύτερη, ωστόσο, το προϊόν θα χρειαζόταν περαιτέρω επεξεργασία (κόψιμο, άλεσμα-κονιορτοποίηση). Ο σωστός χειρισμός των ινών εξαρτάται από τη διάμετρό και το μοριακό βάρος του πολυμερούς ενώ η παραγωγή ομοιόμορφης σκόνης από αυτές μπορεί να είναι ακριβή και να διαταράξει τις δομές. Το σκεύασμα που παράχθηκε μελετήθηκε ως προς την εμφάνιση, το χρώμα, το pH, την μικροβιολογική του σταθερότητα και τα ρεολογικά του χαρακτηριστικά κατά την αποθήκευσή του στους 5, 25, 37 και 45 °C για τρεις μήνες συγκριτικά με την ίδια κρέμα χωρίς την ενσωμάτωση του εγκλεισμένου βιοδραστικού. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η προσθήκη του συστατικού δεν αλλοίωσε τα χαρακτηριστικά της κρέμας, η οποία διατήρησε τη μικροβιολογική της σταθερότητα, ενώ παρατηρήθηκαν μικρές μεταβολές στο χρώμα ενώ το pH κυμάνθηκε μεταξύ του 4,45-5 για όλα τα δείγματα. Όσο αφορά στα ρεολογικά χαρακτηριστικά του σκευάσματος, το σύνθετο ιξώδες μεταβλήθηκε ελάχιστα σε σχέση με αυτό της απλής κρέμας βάσης ενώ μετρήθηκαν και ικανοποιητικές τιμές του σε βάθος χρόνου στις διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης. Όσο για τους συντελεστές αποθήκευσης (G') και απώλειας (G''), για το σύνολο των τιμών που μετρήθηκαν για $\omega=0,1-100$ 1/s ίσχυσε η σχέση $G' > G''$ που αποτελεί και κριτήριο για την ύπαρξη σταθερού καλλυντικού σκευάσματος. Αναφέρεται ότι η ενσωμάτωση του δεοξυχολικού οξέος σε νανοσωματίδια για καλλυντική χρήση δεν έχει μελετηθεί στην υπάρχουσα βιβλιογραφία.

Όσον αφορά στο ενθυλακωμένο εκχύλισμα φύλλων τομάτας σε μορφή μεμβράνης, αυτό χρησιμοποιήθηκε ως επικάλυψη σε φιλμ λεπτού υμενίου προς το σχηματισμό ενός διστρωματικού φιλμ συσκευασίας. Τα δύο στρώματα, στη συνέχεια, σταθεροποιήθηκαν μεταξύ τους μέσω χημικής και ήπιας θερμικής κατεργασίας. Το τελικό φιλμ αξιολογήθηκε ως προς τη μορφολογία των ινών που εμφανίστηκαν πεπλατυσμένες λόγω της κατεργασίας που υπέστησαν, χωρίς ωστόσο να παρατηρηθεί κατάρρευση της δομής τους και με την παρατήρηση, μικρής μόνο απώλειας ενθυλακωμένου εκχυλίσματος ($\approx 4,6\%$). Το παραγόμενο φιλμ χρησιμοποιήθηκε για την συσκευασία τομάτων σε σχέση με απλό φιλμ πολυπροπυλενίου. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν στους 5, σε θερμοκρασία δωματίου και στους 45 °C και γινόταν καθημερινή δειγματοληψία και μέτρηση χρώματος, απώλειας βάρους, pH, ολικού βακτηριακού φορτίου- ζυμών/μούχλας καθώς και οργανοληπτικός έλεγχος. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι καρποί που συσκευάστηκαν με το διστρωματικό φιλμ ανέπτυξαν βραδύτερα μικροβιακό φορτίο, οδηγώντας σε παράταση του χρόνου ζωής κατά 1-3 ημέρες. Σε αυτή την επιμήκυνση του χρόνου ζωής συνέβαλε τόσο η αντιμικροβιακή δράση του εκχυλίσματος που άρχισε να απελευθερώνεται κατά την επαφή του φιλμ με την υγρασία και το όξινο περιβάλλον των καρπών αλλά και του επιπλέον φραγμού της ζεΐνης στην διαπερατότητα υγρασίας από το περιβάλλον. Με βάση τη μελέτη απελευθέρωσης του

εκχυλίσματος από τη ζεΐνη κατά την αποθήκευση σε διαφορετικές υγρασίες το ποσοστό απελευθέρωσης υπολογίστηκε στο 20-28% σε διάστημα 7 ημερών για $a_w=0,75-0,95$. Ωστόσο το περιβάλλον που δημιουργείται από την επαφή του φιλμ με την όξινη επιφάνεια του καρπού της τομάτας, την υγρασία του καρπού και την επίδραση της θερμοκρασίας, προσομοιάζει όλο και περισσότερο την μελέτη απελευθέρωσης στο περιβάλλον διαλύτη, οδηγώντας σε ταχύτερη απελευθέρωση του εκχυλίσματος.

Κλείνοντας στο **πέμπτο κεφάλαιο** της διατριβής, παρουσιάστηκε μελέτη αξιολόγησης του κύκλου ζωής για το καλλυντικό σκεύασμα και το φιλμ συσκευασίας με ενθυλακωμένα βιοδραστικά συστατικά ως προς το περιβαλλοντικό αποτύπωμα των διεργασιών που απαιτήθηκαν για την παραγωγή τους σε σχέση με την παραγωγή συμβατικών υλικών. Αναφορικά με την καλλυντική κρέμα η AKZ εστιάστηκε στην παραγωγή της κρέμας και την ενθυλάκωση με τη μελέτη να δείχνει την αύξηση του περιβαλλοντικού αποτυπώματος με την προσθήκη του εγκλεισμένου βιοδραστικού συστατικού. Αντίστοιχα για το κόστος παραγωγής εκτιμήθηκε μία αύξηση κατά 0,045 €/καλλυντικό σκεύασμα για την κρέμα με το βιοδραστικό συστατικό έναντι της κρέμας βάσης (εκτίμηση στα 0,20 €/καλλυντικό σκεύασμα). Ωστόσο, στη μελέτη αυτή δεν έχουν συμπεριληφθεί δεδομένα δραστηριότητας της ουσίας που θα αντιστάθμιζαν αυτή την αύξηση. Η εφαρμογή της κρέμας και ο προσδιορισμός της αποτελεσματικότητάς της θα οδηγήσουν σε ένα προϊόν με παρατεταμένη δράση και αυξημένη τιμή αγοράς λόγω της καινοτομίας που θα περιέχει. Το συστατικό αυτό έρχεται να ανταγωνιστεί τη θεραπεία με ενέσιμο διάλυμα δεοξυχολικού οξέος (Kybella) το οποίο παρουσιάζει πολύ μεγάλο κόστος λόγω της ανάγκης εξειδικευμένου προσωπικού για τη χορήγηση καθώς και τις πιθανές παρενέργειες της διαδικασίας.

Όσον αφορά στο φιλμ συσκευασίας, συγκρίθηκε το περιβαλλοντικό αποτύπωμα της ενεργής συσκευασίας με τις νανοϊνες ενθυλακωμένου εκχυλίσματος φύλλων τομάτας με την παραγωγή συμβατικού φιλμ λεπτού υμενίου. Η ανάπτυξη της λειτουργικής μεμβράνης επέδειξε καλύτερες περιβαλλοντικές επιδόσεις σε όλα τα στάδια της εφοδιαστικής αλυσίδας που μελετήθηκαν με εξαίρεση το στάδιο παραγωγής του σε σχέση με το απλό φιλμ. Ωστόσο η επιβάρυνση αυτή αντισταθμίζεται από τα οφέλη της αξιοποίησης παραπροϊόντων του αγρού προς τη δημιουργία υλικών προστιθέμενης αξίας αλλά και της παράτασης του χρόνου ζωής του τελικού προϊόντος. Ως προς την οικονομική εκτίμηση, το κόστος παραγωγής του επιπλέον στρώματος νανοϊνών υπολογίστηκε στα 0,36 €/kg έναντι των 0,14 €/kg για το απλό φιλμ πολυπροπυλενίου.

ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΕΣ

Οι μελλοντικές ενέργειες οι οποίες θα μπορούσαν να γίνουν έτσι ώστε να αναπτυχθεί περισσότερο η παρούσα μελέτη είναι:

- ❖ Εξέταση άλλων πολυμερών για χρήση ως φορείς εγκλεισμού που θα έχουν τα επιθυμητά χαρακτηριστικά για την ενθυλάκωση των μελετούμενων συστατικών και των επιδιωκόμενων εφαρμογών
- ❖ Μελέτη της ζεΐνης ως φορέα ενθυλάκωσης μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό, με μη υδατικό διαλύτη ώστε να αποφευχθεί η μεταβολή του pH του διαλύματος και επομένως να διαμορφωθούν δομές με μεγαλύτερη σταθερότητα.
- ❖ Εφαρμογή και άλλων μεθόδων εγκλεισμού όπως ξήρανση υπό κατάψυξη ή συνδυαστική διεργασία ψεκασμού-κατάψυξης (spray-freeze drying).
- ❖ Μελέτη της λιποδιαλυτικής δράσης της καλλυντικής κρέμας με το ενσωματωμένο δεοξυχολικό οξύ in-vitro σε κυτταρική καλλιέργεια λιποκυττάρων.
- ❖ Ενσωμάτωση του εγκλεισμένου δεοξυχολικού οξέος και σε άλλους τύπους καλλυντικών ή παραφαρμακευτικών προϊόντων (π.χ. συμπληρώματα διατροφής)
- ❖ Αξιοποίηση παραπροϊόντων και από την επεξεργασία των καρπών της τομάτας (π.χ. φλούδες, σπόροι) στη βιομηχανική διαδικασία, πέρα από τον αγρό.
- ❖ Μελέτη διαφορετικών τύπων συσκευασίας (π.χ. τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP)) και εφαρμογή σε άλλα συστήματα τροφίμων.
- ❖ Αξιοποίηση των εκχυλισμάτων των φύλλων ή/και του βλαστού της τομάτας και σε άλλες εφαρμογές όπως στη δημιουργία φιλμ εδαφοκάλυψης καλλιεργειών, σε καλλυντικά και φαρμακευτικά προϊόντα ή/ και ζωοτροφές.