



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

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΠΡΑΣΙΝΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΓΚΛΩΒΙΣΜΟ
ΤΟΥ ΑΛΚΑΛΟΕΙΔΟΥΣ ΚΑΦΕΪΝΗ ΣΕ ΝΑΝΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ
ΑΛΓΙΝΙΚΟΥ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ
ΤΟΥΣ

Διπλωματική Εργασία

Άλκηστις Κυριακή Αλεξίου

Επιβλέπουσα: Αναστασία Δέτση, καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

ΑΘΗΝΑ, ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2023

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας της σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου υπό την επίβλεψη της Καθηγήτριας Ε.Μ.Π Δρ. Αναστασίας Δέτση κατά το ακαδημαϊκό έτος 2022-2023.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια μου, κα. Αναστασία Δέτση για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα τόσο καινοτόμο θέμα, αλλά και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και τον πολύτιμο χρόνο που αφιέρωσε προκειμένου να ολοκληρωθεί επιτυχώς η διπλωματική εργασία.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να αποδώσω στην τριμελή επιτροπή για τον πολύτιμο χρόνο που αφιέρωσε για την ανάγνωση της διπλωματικής μου εργασίας.

Παράλληλα θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την υποψήφια διδάκτορα του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας, Ιωάννα Πιττερού για την απεριόριστη στήριξη και βοήθειά της, καθώς και για τη συνεχή καθοδήγησή της καθ' όλη την διάρκεια της διπλωματικής μου εργασίας. Η επιστημονική της κατάρτιση, η εμπειρία της και κυρίως η τεράστια προθυμία της για την αντιμετώπιση οποιαδήποτε προβλήματος συντέλεσαν καθοριστικά στην ομαλή διεξαγωγή της εργασίας και το άψογο κλίμα συνεργασίας.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω να δώσω σε όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας, τους υποψήφιους διδάκτορες και την κα Ζαμπία Κατσανεβάκη, για την πολύτιμη βοήθεια τους και την διατήρηση ενός ευχάριστου περιβάλλοντος εργασίας στους χώρους του εργαστηρίου.

Τέλος, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένεια μου και τους φίλους μου για την κατανόηση και τη συμπαράστασή τους καθ' όλη την πενταετή ακαδημαϊκή μου φοίτηση στο Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.

Περίληψη

Η νανοτεχνολογία έχει φέρει επανάσταση στον επιστημονικό κλάδο, με εφαρμογή στον ιατρικό και φαρμακευτικό τομέα. Επιτυγχάνει τον εγκλεισμό φαρμάκων σε διάφορους φορείς, οι οποίοι επιλέγονται ανάλογα με την επιθυμητή εφαρμογή προσδίδοντας σημαντικές φυσικοχημικές και βιολογικές ιδιότητες.

Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες, που χρησιμοποιούνται στη διάλυση φαρμακευτικών ουσιών και που αποτελούνται από φυσικά, μη τοξικά συστατικά (σάκχαρα, πολυαλκοόλες, οργανικά οξέα, οργανικές βάσεις) ονομάζονται φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (NADES). Οι NADES είναι εύκολοι στην παραγωγή, μη τοξικοί και βιοδιασπώμενοι.

Η καφεΐνη είναι μια φυσική διεγερτική ουσία, η οποία προέρχεται κυρίως από κόκκους καφέ, φύλλα και βότανα. Εμφανίζει πολλές βιολογικές δράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό, κυρίως λόγω της ψυχοδραστικής φύσης της, όπως διέγερση του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος, αύξηση της αδρεναλίνης, αύξηση του καρδιακού ρυθμού, ανάμεσα σε πολλές άλλες και χάρη στις οποίες χρησιμεύει στη θεραπεία διαφόρων συμπτωμάτων, όπως ο πονοκέφαλος. Λόγω της άμεσης συσχέτισής της με τον ανθρώπινο εγκέφαλο, η υψηλή κατανάλωσή της μπορεί να οδηγήσει σε εξάρτηση.

Το αλγινικό είναι ένα βιο-πολυμερές, το οποίο καθώς είναι βιοδιασπώμενο, βιοσυμβατό και κυρίως μη τοξικό, αποτελεί έναν από τους κυριότερους φορείς φαρμάκων. Πρόκειται για έναν πολυσακχαρίτη, ο οποίος αποτελείται από μονάδες α-L-γουλουρονικού οξέος και β-D-μαννουρονικού οξέος συνδεδεμένες με 1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς. Τα νανοσωματίδια αλγινικού βρίσκουν εφαρμογή σε πολλούς τομείς με τους κυριότερους να αποτελούν τα φάρμακα, τα καλλυντικά και τα τρόφιμα.

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη εγκλωβισμού του αλκαλοειδούς καφεΐνης σε νανοσυστήματα αλγινικού με παράγοντα διασταύρωσης τον φυσικό βαθέως ευτηκτικό διαλύτη, ή αλλιώς NADES.

Ειδικότερα, παρασκευάστηκαν νανοσυστήματα αλγινικού 0.4% w/v μεταβάλλοντας την περιεκτικότητα της καφεΐνης (10, 20 και 30% w/w ως προς το αλγινικό) και την περιεκτικότητα του NADES (0.1, 0.3, 0.5% v/v ως προς το αλγινικό). Στη συνέχεια, για συγκριτικούς λόγους, με τις ίδιες περιεκτικότητες καφεΐνης, παρασκευάστηκαν νανοσυστήματα αλγινικού με παράγοντα διασταύρωσης διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου (0.05% w/v).

Αρχικά, τα νανοσωματίδια χαρακτηρίζονται με βάση το μέγεθος, το δείκτη πολυδιασποράς και το ζ-δυναμικό με τη μέθοδο της δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS). Στη συνέχεια, υπολογίζεται για το καθένα η απόδοση εγκλωβισμού και το ποσοστό αποδέσμευσης της καφεΐνης σε συνθήκες που προσομοιάζουν το ανθρώπινο δέρμα, pH=5.5 και θερμοκρασία T=32°C, με χρήση της φασματοσκοπίας υπεριώθρου (UV-Vis).

Βάσει των παραπάνω μεθόδων και πειραματικών παρατηρήσεων, τα βέλτιστα νανοσυστήματα αλγινικού-NADES είναι αυτά με τη διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.3% v/v καφεΐνη, περιεκτικότητας 10% w/w. Ειδικότερα, μέσω της μεθόδου DLS εμφανίζουν μέγεθος 255.5±47.6 nm και αποδεκτό δείκτη πολυδιασποράς

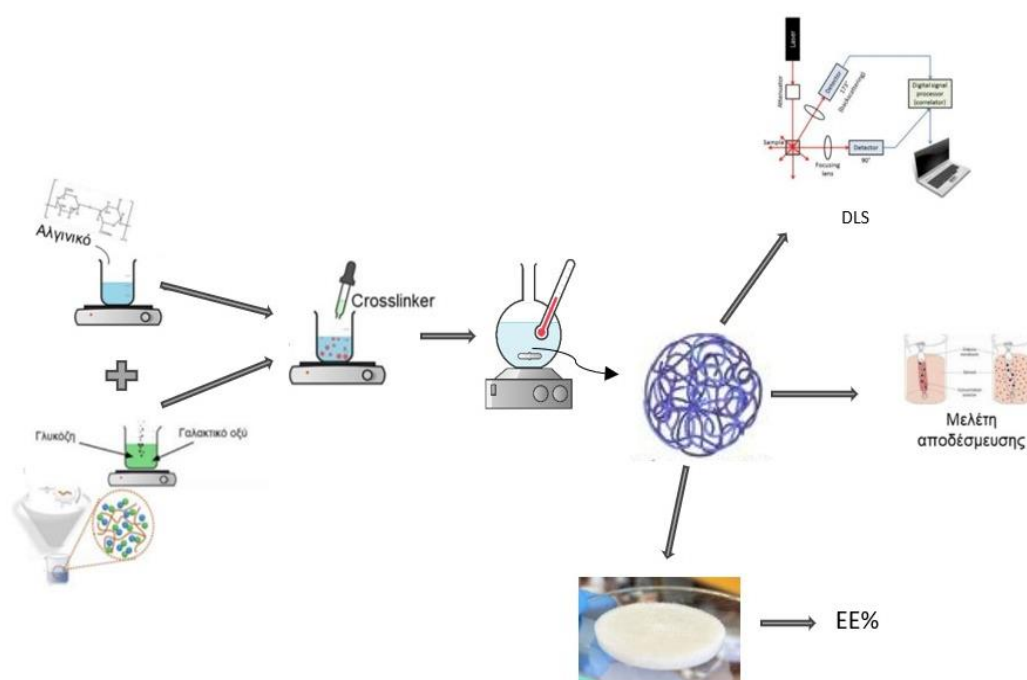
0.397±0.076, ενώ είναι αρκετά σταθερά σε υδατική διασπορά, παρουσιάζοντας ζ-δυναμικό -59.9±0.3 mV. Η απόδοση εγκλωβισμού της καφεΐνης είναι 73.2% και επιτυγχάνεται ποσοστό αποδέσμευσης 89.2%.

Τα νανοσυστήματα αλγινικού με διαλύτη το διάλυμα CaCl₂ εμφανίζει μέγεθος 273.7±55.6 nm, αποδεκτό δείκτη πολυδιασποράς 0.363±0.037, και είναι επίσης αρκετά σταθερά με τιμή ζ-δυναμικού -31.8±3.9. Η απόδοση εγκλωβισμού της καφεΐνης είναι 66.9% και το ποσοστό αποδέσμευσης φτάνει έως το 89.9%, με αρχικά πιο απότομη αποδέσμευση σε σχέση με τα νανοσυστήματα αλγινικού-NADES.

Η κινητική αποδέσμευσης της καφεΐνης για όλα τα νανοσυστήματα αλγινικού περιγράφεται κατάλληλα με το κινητικό μοντέλο Higuchi, με συντελεστή γραμμικής συσχέτισης άνω του 0.9, υποδεικνύοντας ως μηχανισμό αποδέσμευσης τη διάχυση κατά Fick.

Επιστημονική περιοχή: Πράσινη Χημεία, Φαρμακευτική Χημεία, Νανοτεχνολογία

Λέξεις-κλειδιά: εγκλωβισμός, νανοσωματίδια, αλγινικό, φυσικός βαθέως ευτηκτικός διαλύτης, NADES, χλωριούχο ασβέστιο, καφεΐνη, απόδοση εγκλωβισμού, μελέτη αποδέσμευσης



Εικόνα 1: Γραφική περίληψη

Abstract

Nanotechnology has revolutionized the scientific field, with applications in the medical and pharmaceutical sectors. It achieves drug encapsulation in various carriers selected based on the desired application, imparting significant physicochemical and biological properties.

Deep eutectic solvents (DES) used to dissolve pharmaceutical substances, composed of natural, non-toxic ingredients (sugars, polyalcohols, organic acids, organic bases), are called Natural Deep Eutectic Solvents (NADES). NADES are easy to produce, non-toxic, and biodegradable.

Caffeine is a natural stimulant substance mainly derived from coffee beans, leaves, and herbs. It exhibits numerous biological actions on the human body, primarily due to its psychostimulant nature, such as central nervous system stimulation, increased adrenaline, increased heart rate, among many others. It is used in the treatment of various symptoms like headaches. Due to its direct interaction with the human brain, excessive consumption can lead to addiction.

Alginate is a biopolymer that, being biodegradable, biocompatible, and primarily non-toxic, is one of the main drug carriers. It is a polysaccharide composed of units of α -L-guluronic acid and β -D-mannuronic acid connected by 1-4-glycosidic bonds. Alginate nanoparticles find applications in many areas, with the main ones being pharmaceuticals, cosmetics, and food.

The purpose of this thesis is to study the entrapment of alkaline caffeine in alginate nano-systems using the Natural Deep Eutectic Solvent, or NADES, as a cross-linking factor.

Specifically, alginate nano-systems with 0.4% w/v alginate were prepared by varying the caffeine content (10%, 20%, and 30% w/w regarding the alginate) and NADES content (0.1%, 0.3%, 0.5% v/v regarding the alginate). Then, with the same caffeine contents, alginate nano-systems using a calcium chloride solution (0.05% w/v) as the solvent were prepared.

Initially, the nanoparticles were characterized based on size, polydispersity index (PDI), and zeta-potential using the dynamic light scattering (DLS) method. Subsequently, the caffeine entrapment efficiency and release profile were calculated under conditions simulating human skin, pH=5.5, and temperature T=32°C, using UV-Vis spectroscopy.

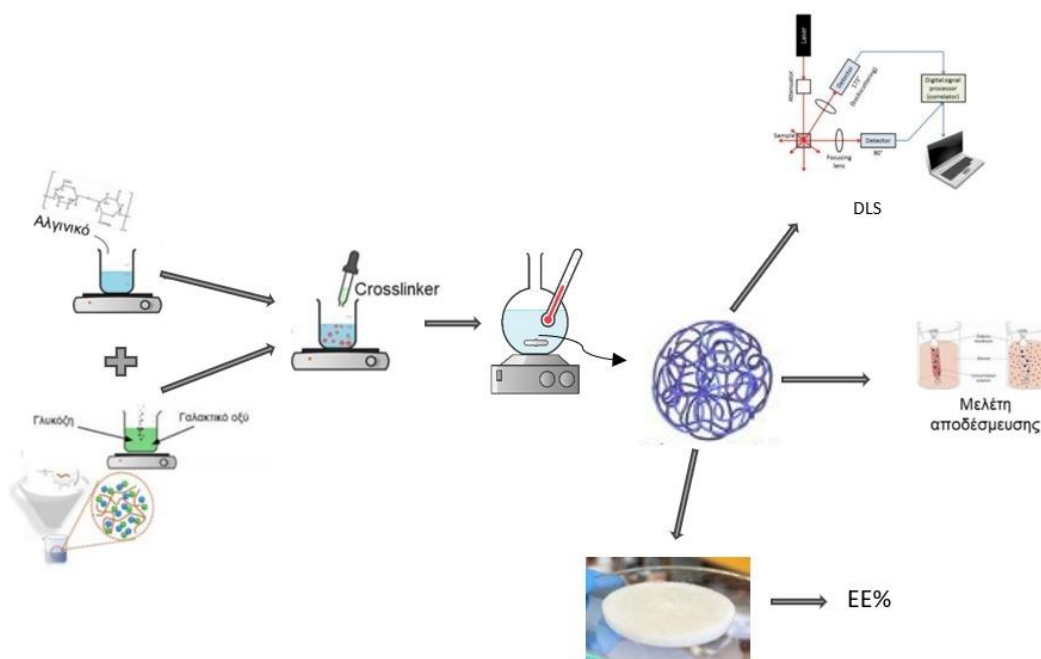
Based on the above methods and experimental observations, the optimal alginate-NADES nano-systems were those with 0.3% v/v caffeine dissolved in NADES and 10% w/w caffeine content. These nanoparticles had a size of 255.5 ± 47.6 nm, a polydispersity index (PDI) of 0.397 ± 0.076 , and a zeta-potential of -59.9 ± 0.3 mV, indicating excellent stability of the nanoparticles in aqueous dispersion. The caffeine entrapment efficiency was 73.2%, with a release percentage of 89.2%.

Alginate nano-systems with calcium chloride as the solvent had a size of 273.7 ± 55.6 nm, a polydispersity index (PDI) of 0.363 ± 0.037 , and a zeta-potential of -31.8 ± 3.9 , indicating very good stability of the nanoparticles in aqueous dispersion. The caffeine entrapment efficiency was 66.9%, with a release percentage reaching 89.9%, initially exhibiting less controlled release compared to alginate-NADES nano-systems.

The caffeine release kinetics for all alginate nano-systems were adequately described by the Higuchi kinetic model, with a linear correlation coefficient above 0.9, indicating diffusion as the release mechanism.

Scientific Area: Green Chemistry, Pharmaceutical Chemistry, Nanotechnology

Keywords: Encapsulation, Nanoparticles, Alginate, Natural Deep Eutectic Solvent (NADES), Calcium Chloride, Caffeine, Entrapment Efficiency, Release Study



Εικόνα 2: Graphical abstract

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες.....	1
Περίληψη.....	2
Abstract	4
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	8
1.1 Εισαγωγή στη νανοτεχνολογία.....	8
1.1.1 Ιστορική αναδρομή	8
1.1.2 Πλεονεκτήματα της νανοτεχνολογίας.....	9
1.1.3 Εφαρμογές της νανοτεχνολογίας στην ιατρική.....	10
1.1.4 Εφαρμογές της νανοτεχνολογίας στην φαρμακευτική	11
1.2 Νανοσυστήματα μεταφοράς φαρμάκων	12
1.2.1 Επιλογή φορέα εγκλωβισμού.....	12
1.2.2 Τύποι νανοσυστημάτων χορήγησης φαρμάκων	12
1.3 Πράσινη Χημεία.....	13
1.3.1 Ιοντικά υγρά	15
1.3.2 Βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες.....	15
1.3.3 Φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες.....	17
1.4 Αλγινικό	18
1.4.1 Προέλευση και ιδιότητες αλγινικού	18
1.4.2 Χημική δομή αλγινικού.....	18
1.4.3 Εφαρμογές αλγινικού	19
1.4.4 Σχηματισμός νανοσωματιδίων αλγινικού	20
1.5 Καφεΐνη	20
1.5.1 Προέλευση και χημική δομή καφεΐνης	20
1.5.2 Βιολογικές δράσεις καφεΐνης.....	21
1.5.3 Εφαρμογές καφεΐνης.....	22
1.6 Χλωριούχο ασβέστιο	23
1.6.1 Προέλευση, δομή και ιδιότητες χλωριούχου ασβεστίου.....	23
1.6.2 Εφαρμογές χλωριούχου ασβεστίου	24
1.7 Δυναμική σκέδαση φωτός – Dynamic Light Scattering (DLS).....	26
1.7.1 Αρχή λειτουργίας για τον προσδιορισμό του μεγέθους και της κατανομής του μεγέθους	26
1.7.2 Αρχή λειτουργίας για τον προσδιορισμό του ζ-δυναμικού.....	28
1.8 Μελέτη αποδέσμευσης.....	29
1.8.1 Μηχανισμοί αποδέσμευσης.....	30
1.8.2 Burst effect	30

1.8.3 Κινητικά μοντέλα	31
ΣΚΟΠΟΣ.....	35
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	36
2.1 Αντιδραστήρια – Όργανα/Συσκευές	36
2.1.1 Αντιδραστήρια.....	36
2.1.2 Όργανα και Συσκευές	36
2.2 Σύνθεση του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη	37
2.3 Παρασκευή υδατικού διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου (CaCl ₂)	38
2.4 Σύνθεση νανοσυστημάτων αλγινικού με χρήση NADES ως διαλύτη.....	38
2.4.1 Σύνθεση νανοσυστημάτων αλγινικού με διαλυμένη σε NADES καφεΐνη	38
2.4.2 Σύνθεση κενού νανοσυστήματος αλγινικού με χρήση NADES	41
2.5. Σύνθεση νανοσυστημάτων αλγινικού με χρήση χλωριούχου ασβεστίου (CaCl ₂) ως διαλύτη.....	42
2.6.Χαρακτηρισμός των νανοσυστημάτων αλγινικού.....	43
2.6.1 Προσδιορισμός μεγέθους, κατανομής μεγέθους και ζ-δυναμικού	43
2.6.2. Προσδιορισμός απόδοσης εγκλωβισμού.....	44
2.6.3 Μελέτη αποδέσμευσης in vitro.....	47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	50
3.1 Αποτελέσματα μεγέθους, δείκτη πολυδιασποράς (PDI) και ζ-δυναμικού.	50
3.1.1 Νανοσυστήματα με διαλυμένη σε φυσικό βαθέως ευτηκτικό διαλύτη (NADES) καφεΐνη.....	50
3.1.2 Νανοσυστήματα με διαλυμένη σε χλωριούχο ασβέστιο (CaCl ₂) καφεΐνη.....	52
3.1.3 Σύγκριση νανοσυστημάτων αλγινικού με διαλύτη NADES/CaCl ₂	53
3.2 Αποτελέσματα αποδόσεων εγκλεισμού	54
3.3 Μελέτη αποδέσμευσης in vitro της καφεΐνης.....	58
3.3.1 Διαγράμματα αποδέσμευσης (%) – χρόνου (h)	58
3.3.2 Κινητικά μοντέλα	61
3.3.2 Σύγκριση μελέτης αποδέσμευσης βέλτιστων νανοσυστημάτων.....	66
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	69
ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ	72
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	73
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	77
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ.....	88
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	88
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ.....	89
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ	92

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 Εισαγωγή στη νανοτεχνολογία

Με τον όρο νανοτεχνολογία ορίζουμε την εκμετάλλευση της ύλης σε ατομικό και μοριακό επίπεδο. Είναι εκείνος ο κλάδος της τεχνολογίας, ο οποίος προσπαθεί να επιλύει προβλήματα σχετιζόμενα με μικροσκοπικά περιβάλλοντα παρόμοια με το μέγεθος των κυττάρων. Επιπλέον, είναι η τεχνολογία, της οποίας η κλίμακα είναι από 1 έως 100 νανόμετρα και για να κατανοήσουμε την έννοια του νανόμετρου αρκεί να σκεφτούμε ότι $1\text{ cm} = 10\text{ mm} = 10.000\mu\text{m} = 10.000.000\text{ nm}$.

Ακριβώς, επειδή η νανοτεχνολογία σχετίζεται με την δυνατότητα να βλέπουμε και να διαχειριζόμαστε τα άτομα και τα μόρια, είναι αναγκαίος εξειδικευμένος εξοπλισμός, του οποίου τα απαραίτητα εργαλεία αναπτύχθηκαν μόλις τα τελευταία 30-40 χρόνια. Ανακαλύψεις, όπως αυτές δομών άνθρακα σε μορφή σφαίρας, γνωστές ως φουλερένια, σε μορφή σωλήνα, γνωστές ως νανοσωλήνες άνθρακα διαφορετικών ιδιοτήτων το καθένα, καθώς επίσης κι η σημαντική βελτίωση του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου, συντέλεσαν ουσιαστικά στην ανάπτυξη της νέας αυτής τεχνολογίας.

Οι ιδιότητες των υλικών, οι οποίες προκύπτουν από την νανοτεχνολογία, διαφέρουν σε μεγάλο βαθμό από τις ιδιότητες των υλικών όγκου, εξαιτίας των φυσικών, χημικών και βιολογικών φαινομένων, που ανακύπτουν λόγω των εξαιρετικά μικρών διαστάσεων. Για παράδειγμα, από την αλλαγή μεγέθους ενδέχεται να προκύψει αλλαγή χρώματος.^{[1],[2]}

1.1.1 Ιστορική αναδρομή

Παρά το γεγονός, ότι η νανοτεχνολογία έχει εξελιχθεί στον τομέα των νέων τεχνολογιών, η χρήση των νανοσωματιδίων είναι γνωστή από την αρχαιότητα. Υπάρχουν αντικείμενα, που χρονολογούνται ακόμη και από το 4^ο π.Χ. αιώνα, τα οποία ανάλογα με την γωνία, την οποία πέφτει επάνω τους το φως, αυτά αλλάζουν χρώμα. Γεγονός, που σημαίνει, ότι παρόλο που δεν ήταν σε θέση να εξηγήσουν επιστημονικά τα φυσικά φαινόμενα, μέσω της παρατήρησης και μόνο, χρησιμοποιούσαν νανοσωματίδια χρυσού ένθετα σε γυαλί, προκειμένου να αλλάξουν τις οπτικές ιδιότητες των υλικών. Τον 4^ο αιώνα Ρωμαίοι καλλιτέχνες είχαν ανακαλύψει, ότι η προσθήκη χρυσού κι ασημιού στο γυαλί δημιουργούσε ένα εντυπωσιακό αποτέλεσμα. Όταν το φως διαχεόταν εσωτερικά, υπήρχε κόκκινη λάμψη στο γυαλί, ενώ όταν φωτιζόταν εξωτερικά έπαιρνε το χρώμα του πράσινου σχιστόλιθου. Καλλιτέχνες από την Κίνα, τη Δυτική Ασία και την Ευρώπη έκαναν χρήση νανοσωματιδίων αργύρου και χαλκού σε γλάσο κεραμικής, δίνοντας έτσι λάμψη σε κεραμικά όπως πλακάκια και μπολ. Κατασκευές τέτοιου τύπου συναντήσαμε και στον Μεσαίωνα από υαλοτεχνίτες για τη δημιουργία βιτρώ.

Το 1959, σε μια ομιλία του Richard Feynman, ο οποίος κατά πολλούς θεωρείται ο πατέρας της νανοτεχνολογίας, έχουμε την πρώτη αναφορά στην νανοτεχνολογία, με τίτλο «Υπάρχει Πολύς Χώρος στο Βάθος» («There's pretty of room at the bottom»), χωρίς να γίνει χρήση του όρου «Νανοτεχνολογία». Περιέγραψε ωστόσο μια διαδικασία, κατά την οποία οι επιστήμονες μπορούσαν να χειριστούν και να ελέγξουν άτομα και μόρια. Το 1974, σε μια διατριβή του Norio Taniguchi, καθηγητή του πανεπιστημίου του Τόκιο, με τίτλο «Σχετικά με τη βασική έννοια της Νανοτεχνολογίας» γίνεται ξεκάθαρη αναφορά του όρου. Στην διατριβή του αυτή περιγράφεται με ακρίβεια η κατασκευή υλικών με ανοχές νανόμετρου.^[3]

Ο όρος διευρύνθηκε τη δεκαετία του '80 από τον Eric Drexler, όταν το 1986 εκδόθηκε το βιβλίο του «Μηχανές Δημιουργίας: Η επερχόμενη Εποχή της Νανοτεχνολογίας». Η σύγχρονη νανοτεχνολογία ξεκίνησε πραγματικά το 1981, όταν το μικροσκόπιο σάρωσης σήραγγας (STM) έδωσε την δυνατότητα σε επιστήμονες και μηχανικούς να δουν και να χειριστούν μεμονωμένα άτομα. Το μικροσκόπιο σάρωσης σήραγγας είναι όργανο για τη απεικόνιση επιφανειών σε ατομικό επίπεδο. Για την ανάπτυξη του, απονεμήθηκε το Νόμπελ Φυσικής στους Gerd Binnig και Heinrich Rohrer, των οποίων το έργο εξακολουθεί να βασίζεται το Κέντρο Νανοτεχνολογίας Binnig & Rohrer στη Ζυρίχη της Ελβετίας.

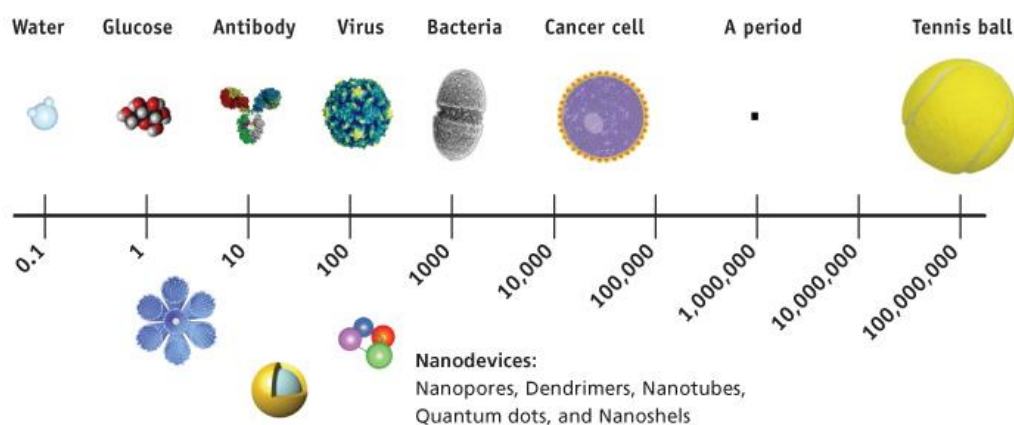
Το 1990, η IBM, με επικεφαλής τον Don Eigler, τοποθέτησε 35 άτομα ξένου για τη συλλαβή τριών γραμμάτων της εταιρείας, αποτελώντας έτσι το μικρότερο λογότυπο επιχείρησης παγκοσμίως. Μέχρι το τέλος του 20^{ου} αιώνα, πολλές εταιρείες και κυβερνήσεις επένδυσαν στην νανοτεχνολογία. Στις αρχές του 21^{ου} αιώνα, τα νανοϋλικά χρησιμοποιούνται σε καταναλωτικά προϊόντα, από αθλητικό εξοπλισμό, μέχρι ψηφιακές φωτογραφικές μηχανές.^{[1],[3]}

1.1.2 Πλεονεκτήματα της νανοτεχνολογίας

Πολλά οφέλη της νανοτεχνολογίας εξαρτώνται από το γεγονός ότι είναι δυνατή η προσαρμογή των δομών των υλικών σε εξαιρετικά μικρές κλίμακες για την επίτευξη συγκεκριμένων ιδιοτήτων, επεκτείνοντας έτσι σημαντικά την εργαλειοθήκη της επιστήμης των υλικών. Χρησιμοποιώντας τη νανοτεχνολογία, τα υλικά μπορούν αποτελεσματικά να γίνουν ισχυρότερα, ελαφρύτερα, πιο ανθεκτικά, πιο αντιδραστικά, πιο κόσκινα ή καλύτεροι ηλεκτρικοί αγωγοί, μεταξύ πολλών άλλων χαρακτηριστικών.^[4]

Πολλά καθημερινά εμπορικά προϊόντα διατίθενται σήμερα στην αγορά και σε καθημερινή χρήση και βασίζονται σε υλικά και διαδικασίες νανοκλίμακας, καθώς Η νανοτεχνολογία και τα νανοϋλικά μπορούν να εφαρμοστούν σε κάθε είδους βιομηχανικούς τομείς. Τα πρόσθετα νανοκλίμακας σε πολυμερή σύνθετα υλικά χρησιμοποιούνται σε ρακέτες τένις, ποδήλατα, κράνη μοτοσικλετών, εξαρτήματα αυτοκινήτων, αποσκευές και περιβλήματα ηλεκτρικών εργαλείων, ανάμεσα σε πολλά άλλα είδη καθημερινής χρήσης καθιστώντας τα ελαφριά, άκαμπτα και ανθεκτικά. Οι διαφανείς μεμβράνες νανοκλίμακας σε γυαλιά, οθόνες υπολογιστών και

φωτογραφικών μηχανών, παράθυρα και άλλες επιφάνειες μπορούν να τις καταστήσουν απωθητικές στο νερό και τα υπολείμματα, αντιανακλαστικές, ανθεκτικές στο υπεριώδες ή υπέρυθρο φως, αντιθαμβωτικές, αντιμικροβιακές, ανθεκτικές στις γρατσουνιές, συνεισφέρουν στην ανάπτυξη μικρότερων, ταχύτερων και αποδοτικότερων συσκευών ηλεκτρονικής τεχνολογίας, Στον τομέα της ενέργειας συνεισφέρουν στη μείωση του κόστους και στην αύξηση της απόδοσης των καυσίμων, χάρη στο ελαφρύ βάρος των αυτοκινήτων, των φορητών, των αεροπλάνων. Επίσης, οι εφαρμογές τις εκτείνονται και στο περιβαλλοντολογικό τομέα. Ο καθαρισμός του αέρα με ιόντα, ο καθαρισμός των λυμάτων με νανοφουσαλίδες ή τα συστήματα νανοδιήθησης για βαρέα μέταλλα είναι μερικές από τις φιλικές προς το περιβάλλον εφαρμογές του. Οι νανοκαταλύτες είναι επίσης διαθέσιμοι για να κάνουν τις χημικές αντιδράσεις πιο αποτελεσματικές και λιγότερο ρυπογόνες. Αυτές αποτελούν ορισμένες από τις συνεισφορές της νανοτεχνολογίας στους βιομηχανικούς τομείς γενικότερα.^{[1],[4]}



Εικόνα 3: Σύγκριση διαστάσεων νανοκλίμακας

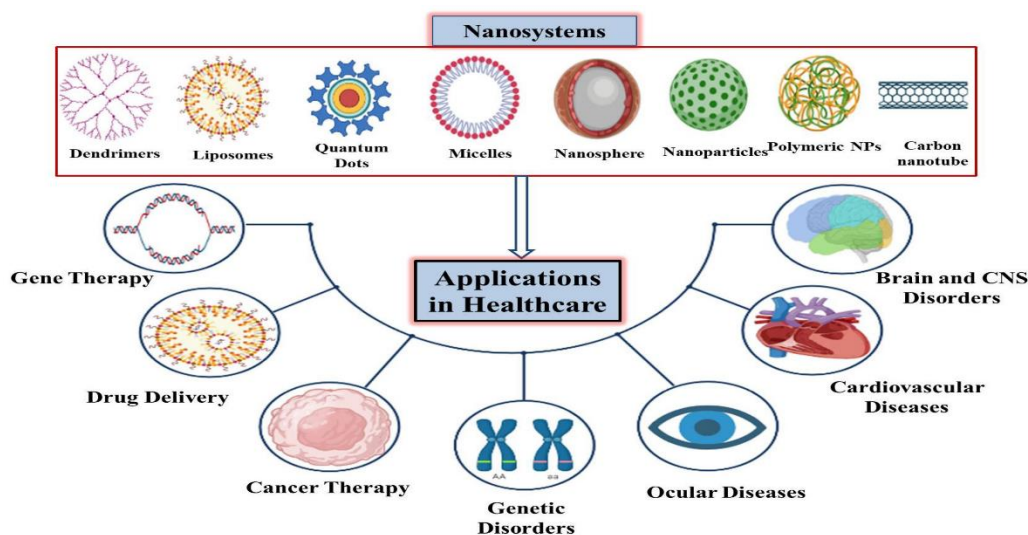
1.1.3 Εφαρμογές της νανοτεχνολογίας στην ιατρική

Νανοϊατρική είναι ο όρος που χρησιμοποιείται για να αναφερθεί στις εφαρμογές των νανοτεχνολογιών στην ιατρική και την υγειονομική περίθαλψη. Ειδικότερα, η νανοϊατρική χρησιμοποιεί τεχνολογίες νανοκλίμακας και νανο-ενεργοποιημένες τεχνικές για την πρόληψη, τη διάγνωση, την παρακολούθηση και τη θεραπεία νόσων. Η νανοτεχνολογία έχει εκτεταμένη εφαρμογή ως νανοϊατρική στον ιατρικό τομέα. Ορισμένα νανοςωματίδια έχουν πιθανές εφαρμογές σε νέα διαγνωστικά όργανα, εικόνες και μεθοδολογίες, στοχευμένα φαρμακευτικά προϊόντα, φαρμακευτικά προϊόντα, βιοϊατρικά εμφυτεύματα και μηχανική ιστών. [7] Οι ιδιότητες ορισμένων νανοϋλικών τα καθιστούν ιδανικά για τη βελτίωση της έγκαιρης διάγνωσης και θεραπείας, καθώς είναι σε θέση να επιτεθούν σε συγκεκριμένα κύτταρα επιλεκτικά

χωρίς να βλάψουν άλλα υγιή κύτταρα. Με τη χρήση, λοιπόν, των νανοσωματιδίων είναι εφικτή η στόχευση πού συγκεκριμένων περιοχών και κυττάρων, μειώνοντας έτσι τις παρενέργειες που προκαλούνταν από διάφορες θεραπείες και φάρμακα για χρόνιες ασθένειες όπως ο καρκίνος, ο όγκος του εγκεφάλου κ.λπ. και καθιστώντας με αυτό τον τρόπο αυτές τις θεραπείες υψηλής τοξικότητας πιο ασφαλείς. [6] Πέραν αυτού, χρησιμοποιείται, επίσης, ευρύ φάσμα νανοϋλικών για την ενίσχυση της αποτελεσματικότητας των συσκευών απεικόνισης καταλήγοντας έτσι σε πιο ορθά αποτελέσματα.^{[5],[6],[7]}

1.1.4 Εφαρμογές της νανοτεχνολογίας στην φαρμακευτική

Η φαρμακευτική νανοτεχνολογία εφαρμόζει τις μεθόδους και τις αρχές της νανοεπιστήμης και της νανοϊατρικής στη φαρμακευτική για την ανάπτυξη νέων συστημάτων χορήγησης φαρμάκων που μπορούν να ξεπεράσουν τα μειονεκτήματα των συμβατικών συστημάτων χορήγησης φαρμάκων. Αυτό οφείλεται στην ικανότητά τους, λόγω του μεγέθους τους να κινούνται πιο αποτελεσματικά στην κυκλοφορία του αίματος και έτσι με τη σωστή μορφή και ποσότητα δοσολογίας επιτυγχάνεται το επιθυμητό θεραπευτικό αποτέλεσμα. Επιπλέον, με την εισαγωγή της νανοτεχνολογίας στην φαρμακευτική έχει επεκταθεί η θεραπευτική χρήση διαφόρων ουσιών και στον τομέα των καλλυντικών μέσω του εγκλωβισμού τους σε νανοσωματίδια.^{[8],[9]}



Εικόνα 4: Εφαρμογές νανοτεχνολογίας στον ιατρικό τομέα

1.2 Νανοσυστήματα μεταφοράς φαρμάκων

Τα νανοσυστήματα μεταφοράς φαρμάκων είναι στερεές μικροκolloειδείς δομές, οι οποίες βρίσκονται στην κλίμακα του 1 έως 1000 nm και βρίσκουν χρήση στη στοχευμένη και ελεγχόμενη μεταφορά ουσιών και μεγαλομορίων για φαρμακευτικούς σκοπούς. Ως μέρος της νανοτεχνολογίας δημιουργώντας τα κατάλληλα νανοσωματίδια με βάση το μέγεθος, τη μορφολογία και τις ιδιότητές τους επιτυγχάνεται η δέσμευση ή η προσρόφηση φαρμακευτικών ουσιών ώστε με τη διείσδυση στα κύτταρα του οργανισμού να γίνει η απελευθέρωση των ουσιών αυτών απευθείας στα κύτταρα και στους ιστούς-στόχους. Με αυτόν τον τρόπο, επιπλέον, εξασφαλίζεται και η προστασία των μορίων από εξωγενείς παράγοντες. Πέρα από τη βασική χρήση τους, τα νανοσυστήματα διαθέτουν την ικανότητα να βελτιώνουν το φαρμακοκινητικό προφίλ του φαρμάκου, τροποποιώντας τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του, π.χ. σε ένα υδρόφοβο φάρμακο γίνεται επικάλυψη των ουσιών με υδρόφιλα μόρια.

Τα νανοσυστήματα χορήγησης φαρμάκων, λοιπόν, έχουν αρκετά πλεονεκτήματα έναντι των συμβατικών μεθόδων χορήγησης φαρμάκων, όπως η βελτιωμένη βιοδιαθεσιμότητα, η στοχευμένη χορήγηση φαρμάκων στα κύτταρα-στόχους και τους ιστούς-στόχους και η μειωμένης τοξικότητα.^[10]

1.2.1 Επιλογή φορέα εγκλωβισμού

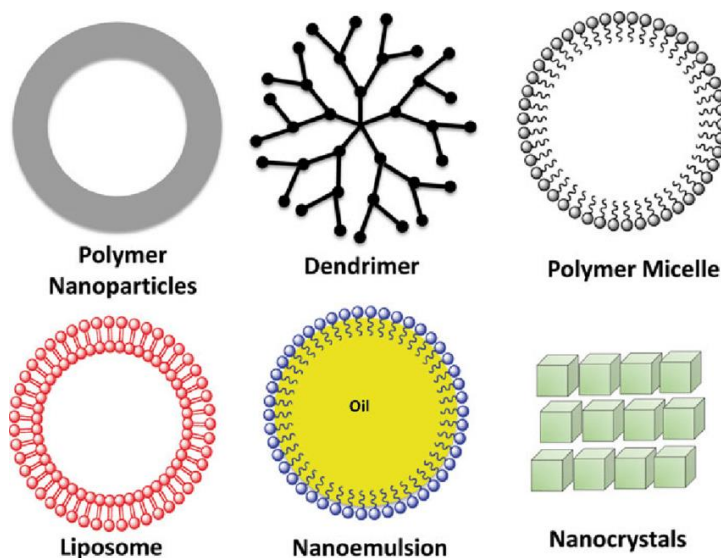
Όσον αφορά στον φορέα εγκλωβισμού προκύπτει πως η επιλογή του βασίζεται σε πολλούς παράγοντες, μερικοί εκ των οποίων είναι οι εξής:

- τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του φαρμάκου
- ο μηχανισμός στόχευσης
- η οδός χορήγησης του φαρμάκου
- η δόση του φαρμάκου
- η φυσιολογία και η τοποθεσία του στόχου-δράσης
- το επιθυμητό σχήμα και μέγεθος των νανοσυστημάτων
- η λειτουργικότητα των σωματιδίων
- το προφίλ αποδέσμευσης του φαρμάκου^[10]

1.2.2 Τύποι νανοσυστημάτων χορήγησης φαρμάκων

Τα συστήματα φορέων φαρμάκων μπορούν να διαλυθούν στα συστήματα διαλυτών μακρομοριακών φορέων και στα συστήματα κolloειδών και σωματιδιακών φορέων. Στα πρώτα συμπεριλαμβάνονται τα αντισώματα, τα πολυμερή, οι πρωτεΐνες και οι πολυσακχαρίτες και σε αυτή τη περίπτωση το φάρμακο είναι συζευγμένο με το φορέα. Στα κolloειδή και σωματιδιακά συστήματα το φάρμακο συνδέεται μη ομοιοπολικά στο φορέα, κι έτσι υπάρχει η δυνατότητα φόρτωσης μεγαλύτερης ποσότητας

φαρμάκου. Σε αυτά τα συστήματα συμπεριλαμβάνονται τα δενδριμερή, τα νανοσωματίδια, τα πολυμερικά μικκύλια, τα στερεά λιπιδικά νανοσωματίδια (SLN), τα λιποσώματα, τα νανογαλακτώματα κ.α.^[11]



Εικόνα 5: Τύποι φαρμακευτικών νανოსυστημάτων που χρησιμοποιούνται στη χορήγηση φαρμάκων

1.3 Πράσινη Χημεία

Η πράσινη χημεία, που ονομάζεται επίσης και βιώσιμη χημεία, είναι μια προσέγγιση στη χημεία που προσπαθεί να αποτρέψει ή να μειώσει τη ρύπανση. Αποτελεί το σχεδιασμό χημικών προϊόντων και διαδικασιών που μειώνουν ή εξαλείφουν τη χρήση ή την παραγωγή επικίνδυνων ουσιών, χρησιμοποιώντας μη τοξικές ουσίες και περιβαλλοντικά καλοήθειες διαλύτες. Η πράσινη χημεία εφαρμόζεται σε όλο τον κύκλο ζωής ενός χημικού προϊόντος, συμπεριλαμβανομένου του σχεδιασμού, της κατασκευής, της χρήσης και της τελικής διάθεσής του.

Διαθέτει πολλά πλεονεκτήματα ανάμεσα στα οποία είναι ότι αποτρέπει τη ρύπανση σε μοριακό επίπεδο, είναι μια φιλοσοφία που ισχύει για όλους τους τομείς της χημείας, όχι για έναν ενιαίο κλάδο της χημείας, εφαρμόζει καινοτόμες επιστημονικές λύσεις σε πραγματικά περιβαλλοντικά προβλήματα, έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της πηγής επειδή αποτρέπει τη δημιουργία ρύπανσης και μειώνει τις αρνητικές επιπτώσεις των χημικών προϊόντων και διεργασιών στην ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον.^{[12],[13]}

Η ανάπτυξη της πράσινης χημείας, βασίστηκε στις Δώδεκα Αρχές της Πράσινης Χημείας, τις οποίες εισήγαγαν το 1998, οι Paul Anastas και John Warner. Συνοπτικά οι

Δώδεκα Αρχές της Πράσινης Χημείας βασίζονται στην ελαχιστοποίηση ή μη χρήση τοξικών ουσιών στις χημικές διεργασίες και στην αποφυγή δημιουργίας αποβλήτων που προκύπτουν από αυτές.

Πιο αναλυτικά, περιλαμβάνουν τον σχεδιασμό χημικών συνθέσεων για την πρόληψη των αποβλήτων, καθώς και τη χρήση και παραγωγή ουσιών με μικρή ή καθόλου τοξικότητα είτε για τον άνθρωπο είτε για το περιβάλλον, τον σχεδιασμό χημικών συνθέσεων έτσι ώστε το τελικό προϊόν να περιέχει τη μέγιστη αναλογία πρώτων υλών (μεγιστοποίηση οικονομίας ατόμων), όπως επίσης και το σχεδιασμό χημικών συνθέσεων με στόχο οι χημικές αντιδράσεις να γίνονται σε συνθήκες περιβάλλοντος (μεγιστοποίηση ενεργειακής οικονομίας). Επίσης, σημαντική είναι η χρήση ανανεώσιμων πρώτων υλών, όπως γεωργικών προϊόντων ή αποβλήτων άλλων διεργασιών, η χρήση καταλυτών, οι οποίοι είναι αποτελεσματικοί σε μικρές ποσότητες και μπορούν να πραγματοποιήσουν μία αντίδραση πολλές φορές σε αντίθεση με τα στοιχειομετρικά αντιδραστήρια και η αποφυγή χημικών παραγώγων, τα οποία χρησιμοποιούν πρόσθετα αντιδραστήρια και παράγουν απόβλητα. Τέλος, βασική αρχή αποτελεί ο σχεδιασμός χημικών προϊόντων για διάσπαση σε αβλαβείς ουσίες μετά τη χρήση, έτσι ώστε να μην συσσωρεύονται στο περιβάλλον, καθώς και η ελαχιστοποίηση της πιθανότητας χημικών ατυχημάτων συμπεριλαμβανομένων εκρήξεων, πυρκαγιών και απελευθερώσεων στο περιβάλλον.^{[12],[14]}



Εικόνα 6: Οι δώδεκα αρχές της πράσινης χημείας

Η πράσινη χημεία παίζει πού σημαντικό ρόλο στην νανοτεχνολογία και οι εφαρμογές της στη φαρμακευτική επιστήμη και τη βιοϊατρική είναι πολύ σημαντικές. Οι ερευνητές συμφωνούν ότι το ασφαλέστερο δυνατό μέλλον για την προώθηση της

νανοτεχνολογίας σε έναν βιώσιμο κόσμο μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση πράσινης χημείας, προωθώντας διεργασίες μη τοξικές και φιλικές προς το περιβάλλον με χρήση πράσινων διαλυτών και ουσιών ασφαλών προς τον άνθρωπο και το περιβάλλον.^[15]

1.3.1 Ιοντικά υγρά

Ένα ιοντικό υγρό είναι ένα άλας σε υγρή κατάσταση. Σε ορισμένα πλαίσια, ο όρος έχει περιοριστεί σε άλατα των οποίων το σημείο τήξης είναι κάτω από μια συγκεκριμένη θερμοκρασία, των 100 ° C. Ενώ τα συνηθισμένα υγρά όπως το νερό αποτελούνται κυρίως από ηλεκτρικά ουδέτερα μόρια, τα ιοντικά υγρά αποτελούνται σε μεγάλο βαθμό, έως πλήρως από ιόντα. Τα ιοντικά υγρά αναδείχθηκαν ως μια πιο πράσινη εναλλακτική λύση στους συμβατικούς οργανικούς διαλύτες χάρη στη χαμηλή πτητικότητα και ευφλεκτότητά τους και το ευρύ φάσμα θερμοκρασιών για την παραμονή τους σε υγρή κατάσταση. Είναι κατά κύριο λόγο υδρόφιλα και παρουσιάζουν θερμική σταθερότητα, ενώ μία από τις πιο βασικές ιδιότητες είναι ότι παρουσιάζουν πολύ χαμηλή τάση ατμών. Ωστόσο, ορισμένα ιοντικά υγρά έχουν χαρακτηριστεί τοξικά και η σύνθεσή τους δεν ακολουθεί πάντα τις αρχές της πράσινης χημείας.^{[16],[17]}

1.3.2 Βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες

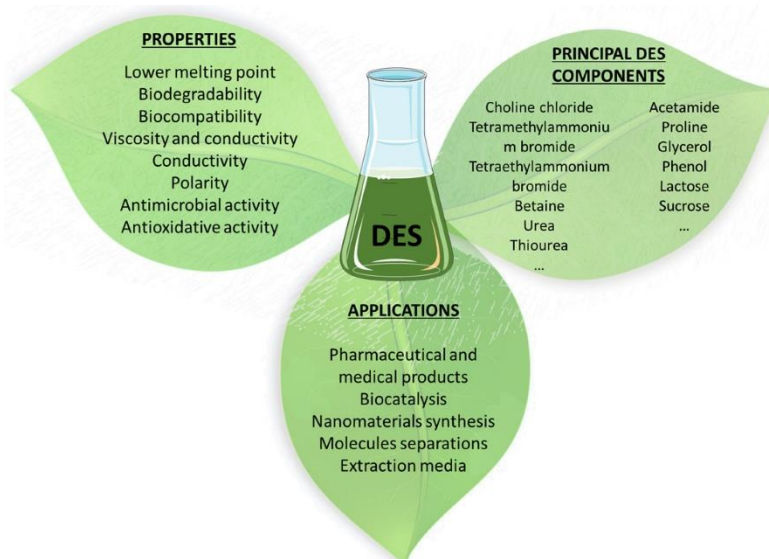
Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (deep eutectic solvents, DES) είναι ένα υγρό μίγμα δύο ή περισσότερων στερεών, σε θερμοκρασία, συστατικών, το οποίο έχει σημείο τήξης χαμηλότερο από εκείνο των συστατικών του, γεγονός το οποίο οφείλεται στις αλληλεπιδράσεις με δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των μορίων. Επομένως, οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες αποτελούνται από τουλάχιστον δύο συστατικά, εκ των οποίων , ένας είναι δότης δεσμού υδρογόνου και ένας δέκτης δεσμού υδρογόνου. Αναλύοντας, λοιπόν, την ονομασία, ο όρος ευτηκτικός περιγράφει κάτι που τήκεται εύκολα, και ο όρος βαθέως, παρουσιάζει το ακόμη πιο χαμηλό (βαθύ) σημείο τήξεως του μείγματος σε σχέση με τα σημεία τήξης των επιμέρους συστατικών του. Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος είναι η θέρμανση και η ανάδευση των συστατικών έως το σχηματισμό ενός ομοιογενούς υγρού. Παρουσιάζουν εξαιρετικές ιδιότητες, όπως υψηλή ικανότητα διαλύτη, υψηλή βιοδιάσπαση, χαμηλό πτητικό χαρακτήρα οργανικής ένωσης και σχετικά χαμηλή τοξικότητα.^{[18],[19],[21]}

Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες μπορούν να περιγραφούν με τον γενικό τύπο:

Cat^+X^-zY όπου Cat^+ είναι κατ' αρχήν οποιοδήποτε κατιόν αμμωνίου, φωσφονίου ή σουλφονίου και το X^- είναι βάση κατά Lewis, γενικά ανιόν αλογονιδίου. Τα σύνθετα ανιονικά είδη σχηματίζονται μεταξύ του X^- και είτε ενός οξέος Lewis είτε ενός Brønsted οξέος Y (το z αναφέρεται στον αριθμό των μορίων Y που αλληλεπιδρούν με το ανιόν).^[18]

Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των βαθέως ευτηκτικών διαλυτών εξαρτώνται από τη φύση και την αναλογία των επιμέρους συστατικών του, το μέγεθος του ανιόντος, το μήκος της αλκυλικής αλυσίδας και το μοριακό βάρος. Τα φυσικοχημικά αυτά χαρακτηριστικά τους έκαναν να προτιμώνται έναντι των συνηθισμένων διαλυτών, καθώς καθιστώνται πιο φθινοί, ασφαλέστεροι και χαρακτηρίζονται από χαμηλή τοξικότητα, μη πτητικότητα και θερμική σταθερότητα. Γενικά, λοιπόν, παρουσιάζουν:

- χαμηλότερο σημείο τήξης από τα επιμέρους συστατικά, επομένως προωθούν την αρχή της ενεργειακής οικονομίας
- χαμηλή τοξικότητα
- υψηλή βιοδιαθεσιμότητα και βιοαποικοδομησιμότητα, προωθώντας την αρχή οικονομίας ατόμων και την αρχή χρήσης ανανεώσιμων πρώτων υλών
- αυξημένη πολικότητα
- χαμηλή επιφανειακή τάση
- δυνατότητα άμεσης παρασκευής με απλοποιημένες μεθόδους^{[18],[21]}

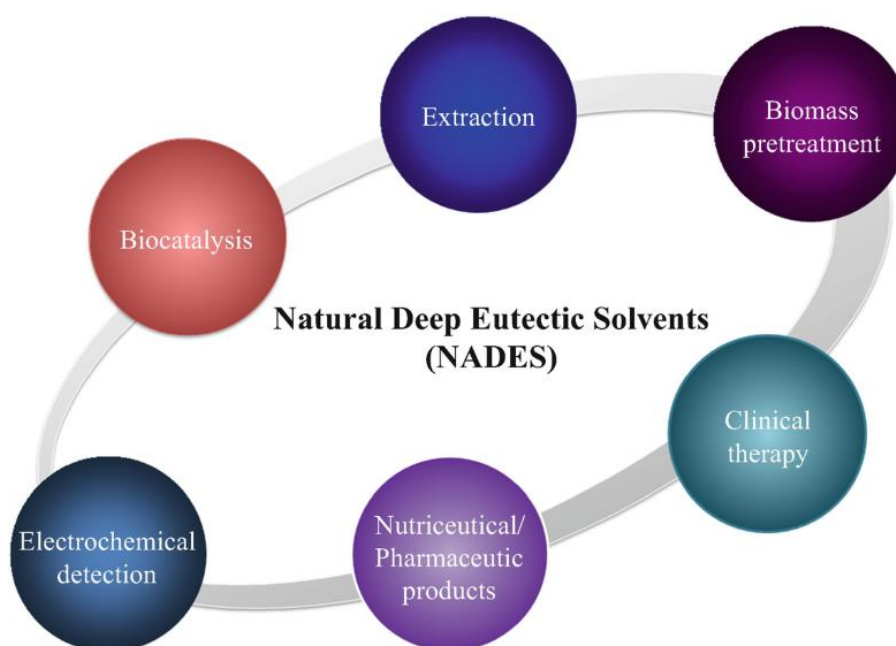


Εικόνα 7: Ιδιότητες και εφαρμογές των DES στην πράσινη χημεία ^[18]

1.3.3 Φυσιικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες

Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες που αποτελούνται από φυσικά συστατικά, όπως σάκχαρα, οργανικά οξέα, οργανικές βάσεις κ.α., ονομάζονται φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (Natural Deep Eutectic Solvents, NADES). Όπως και οι DES, οι NADES παρουσιάζουν χαμηλή τάση ατμών, άρα και χαμηλή πτητικότητα, είναι υδρόφιλοι, φιλικό προς το περιβάλλον και παρέχουν τη δυνατότητα διάλυσης φυσικών και συνθετικών ουσιών, οι οποίες παρουσιάζουν χαμηλή διαλυτότητα στο νερό.^[22]

Λόγω αυτών των χαρακτηριστικών τους, οι NADES βρίσκουν εφαρμογή σε διάφορους τομείς, όπως στη βιοτεχνολογία, την οργανική σύνθεση, ως μέσο εκχύλισης, στη βιοκατάλυση, την βιοϊατρική, σε φαρμακευτικά προϊόντα ως διαλύτες κ.α, όπως φαίνεται και στην εικόνα 6. Συνήθως, όταν τα επιμέρους συστατικά είναι στερεά με καλή θερμική σταθερότητα, οι NADES συντίθενται με ανάδευση υπό θέρμανση. Στην περίπτωση που τα συστατικά είναι θερμοευαίσθητα, αρχικά διαλύονται στο νερό, το οποίο στη συνέχεια αφαιρείται με τη μέθοδο της εξάτμισης.^[23]



Εικόνα 8: Εφαρμογές των NADES στον επιστημονικό κλάδο

1.4 Αλγινικό

1.4.1 Προέλευση και ιδιότητες αλγινικού

Το αλγινικό είναι ένα φυσικό ανιονικό πολυμερές που προέρχεται από δύο πηγές: το κυτταρικό τοίχωμα των καφέ θαλάσσιων φυκιών και από βακτήρια. Το αλγινικό είναι ένας υδατοδιαλυτός πολυσακχαρίτης που εμπορικά διαθέσιμος κυρίως προέρχεται από τα καφέ φύκια, τα οποία ξηραίνονται, υποβάλλονται σε διάφορες χημικές μεθόδους ώστε να απομακρυνθούν οι ακαθαρσίες και έπειτα επεξεργάζονται με υδατικά αλκαλικά διαλύματα, ειδικά το καυστικό νάτριο, προκειμένου να σχηματιστεί το άλας νατρίου του αλγινικού οξέος που είναι υδατοδιαλυτό. Γι' αυτό, τα αλγινικά είναι γενικά διαθέσιμα στην αγορά ως άλας νατρίου του αλγινικού οξέος (ή αλγινικό νάτριο). Όταν το αλγινικό παράγεται από βακτηριακή σύνθεση, διαθέτει πιο καθορισμένες χημικές δομές και φυσικές ιδιότητες σε σχέση με το αλγινικό που προέρχεται από τα καφέ φύκια. Ωστόσο, τα αλγινικά που προέρχονται από βακτήρια δεν είναι οικονομικά βιώσιμα για εμπορική κλίμακα, οπότε περιορίζονται σε μικρής κλίμακας ερευνητικές μελέτες.

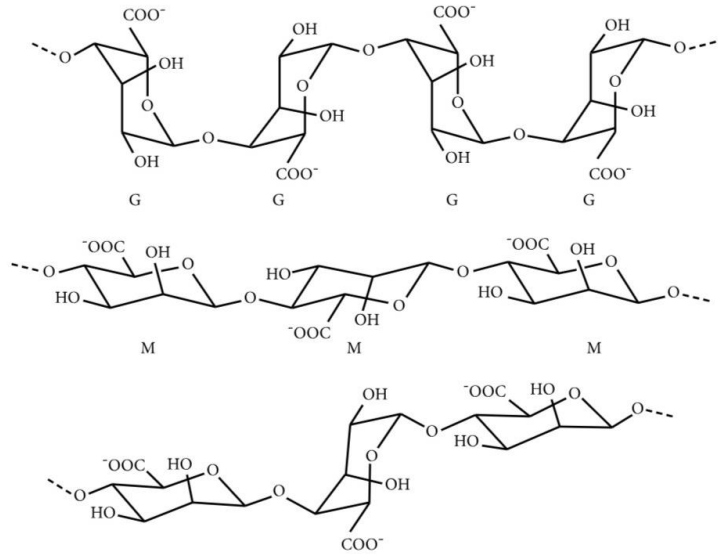
Το αλγινικό διαθέτει σημαντικές ιδιότητες και χαρακτηριστικά, που το καθιστούν χρήσιμο στη βιοϊατρική και τη βιοτεχνολογία, ανάμεσα στις οποίες είναι οι εξής:

- βιοσυμβατότητα
- βιοαποικοδομησιμότητα
- χαμηλή τοξικότητα

Επιπλέον, παράγεται εύκολα, έχει χαμηλό κόστος και είναι εύκολα εμπορικά διαθέσιμο, χαρακτηριστικά που το καθιστούν πολύ δημοφιλές στη χρήση.^{[24],[28]}

1.4.2 Χημική δομή αλγινικού

Τα αλγινικά ή αλγινικά οξέα είναι γραμμικοί, μη διακλαδισμένοι πολυσακχαρίτες αποτελούμενοι από την αλληλουχία δύο γραμμικά διατεταγμένων αλυσίδων $\alpha - L -$ γουλουρονικού (G) οξέος και $\beta - D -$ μανουρονικού οξέος (M) συνδεδεμένων μεταξύ τους μέσω 1,4-γλυκοζιτικών δεσμών. Η αναλογία και η σειρά των G και M υπολειμμάτων ποικίλλει ανάλογα την πηγή των καφέ φυκιών από όπου εξάγεται και επηρεάζουν τις ιδιότητες του αλγινικού.^{[24],[25]}



Εικόνα 9: Χημικές δομές αλγινικού οξέος βάσει των αλυσίδων G και M

1.4.3 Εφαρμογές αλγινικού

Το αλγινικό, ως φυσικό πολυμερές, χρησιμοποιείται συχνά σε συστήματα χορήγησης φαρμάκων και πρωτεϊνών. Εφαρμόζεται σε διάφορες οδούς χορήγησης φαρμάκων, συμπεριλαμβανομένων στοχευμένων ή τοπικών συστημάτων χορήγησης φαρμάκων. Η αυξημένη αποτελεσματικότητά του και η ασφάλεια του αλγινικού νατρίου στο σύστημα χορήγησης αποδεικνύεται με την αλλαγή των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του.

Μία από τις πιο κοινές εφαρμογές του αλγινικού είναι η χρήση του ως έκδοχο σε συστήματα χορήγησης φαρμάκων, δηλαδή ενεργώντας ως σταθεροποιητικός παράγοντας σε διάφορα φαρμακευτικά σκευάσματα. Επίσης, χρησιμοποιείται ως φορέας εγκλωβισμού ενισχύοντας τη στοχευμένη αποδέσμευση, ως βλεννοσυγκολλητικό, παρατείνοντας το χρόνο παραμονής και την αποδέσμευση σε κάποιους ιστούς, ως φορείς ενθυλάκωσης πρωτεϊνών, για αναγέννηση διαφόρων ιστών, όπως επίσης και ως υλικό στην οδοντιατρική. Το αλγινικό βρίσκει εφαρμογές, επίσης, στα καλλυντικά είτε ως παράγοντας πάχυνσης και σταθεροποίησης γαλακτωμάτων, καθώς θεωρείται καλό υδροκολλοειδές, διατηρεί συνεπώς το δέρμα ενυδατωμένο, είτε ως χρωστική ουσία, καθώς και στα τρόφιμα ως πρόσθετο τροφίμων καθώς έχει τη δυνατότητα να βελτιώνει και να σταθεροποιεί την υφή τους.

Λαμβάνοντας υπόψιν το γεγονός ότι το αλγινικό έχει καλή βιολογική συμβατότητα με τον ανθρώπινο οργανισμό, και γι' αυτό το λόγο δεν είναι τοξικό, βρίσκει ολλές εφαρμογές στην ιατρική, αλλά ακόμα και στη διατροφή, όπου χρησιμοποιείται συχνά σε τροφές και συμπληρώματα διατροφής.^{[25],[26]}

1.4.4 Σχηματισμός νανοσωματιδίων αλγινικού

Η ικανότητα των υδατικών αλγινικών διαλυμάτων να σχηματίζουν νανοσωματίδια, όταν υποβάλλονται σε επεξεργασία με δισθενή ιόντα, κυρίως με δισθενή ιόντα ασβεστίου, η οποία λέγεται ιονοτροπική πηκτωμάτωση, έχει διερευνηθεί εκτενώς για την ανάπτυξη φορέων για παρατεταμένη ή ελεγχόμενη χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων.

Γενικά, θεωρείται πως μόνο τα G τμήματα του αλγινικού συμμετέχουν στη διαμοριακή διασύνδεση, καθώς το γουλουρονικό οξύ παρουσιάζει μεγαλύτερη συγγένεια με τα δισθενή κατιόντα σε σχέση με το μαννουρονικό οξύ. Ο συνδυασμός τους δημιουργεί ιοντικές γέφυρες μεταξύ των αλυσίδων των πολυμερών, με αποτέλεσμα τη μετατροπή των υδατικών διαλυμάτων αλγινικού σε νανοσωματίδια.

Ανάλογα με τις φυσικοχημικές ιδιότητες του φαρμάκου επιλέγεται η κατάλληλη μέθοδος παρασκευής των νανοσωματιδίων.^{[27],[28]}

1.5 Καφεΐνη

1.5.1 Προέλευση και χημική δομή καφεΐνης

Η καφεΐνη είναι μια φυσική διεγερτική χημική ένωση που βρίσκεται σε πολλά φυτά. Οι πηγές καφεΐνης στη φύση είναι οι εξής:

- Καφές: Οι κόκκοι καφέ προέρχονται από τους καρπούς του φυτού καφέ (*Coffea arabica* και *Coffea canephora*, γνωστά ως Arabica και Robusta αντίστοιχα).
- Τσάι: Τα φύλλα του θάμνου *Camellia sinensis* περιέχουν καφεΐνη. Οι διάφορες ποικιλίες τσαγιού παράγουν διάφορες ποσότητες καφεΐνης και ορισμένα βότανα, όπως το Yerba Mate.
- Κόκκοι κακάο: Οι κόκκοι κακάο, από τους οποίους παράγεται η σοκολάτα, περιέχουν επίσης μικρές ποσότητες καφεΐνης.



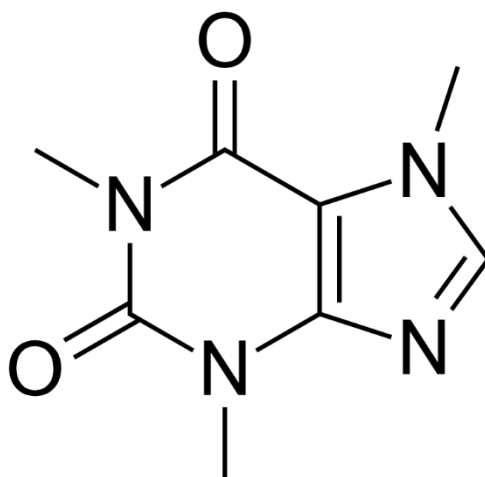
Εικόνα 10: Κόκκοι καφέ και βότανα που περιέχουν καφεΐνη

Η χημική δομή της καφεΐνης είναι η εξής:

- Χημικός τύπος: C₈H₁₀N₄O₂
- Συντακτικός τύπος: 1,3,7-τριμεθυλξανθίνη-2,6-διον
- Ιονική μορφή: Η καφεΐνη είναι συνήθως παρούσα ως μη ιονική, ανενεργή μορφή στον ανθρώπινο οργανισμό.

Η δομή της καφεΐνης περιλαμβάνει τρία άτομα άζωτο (N), οκτώ άτομα άνθρακα (C), τέσσερα άτομα οξυγόνου (O) και δέκα άτομα υδρογόνου (H). Στο κέντρο της δομής βρίσκονται τρία άτομα άζωτο (N), τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με διπλές συνδέσεις (πολλαπλές συνδέσεις). Κάθε άτομο άζωτο (N) συνδέεται επίσης με ένα άτομο άνθρακα (C) και ένα άτομο οξυγόνου (O). Επιπλέον, κάθε άτομο άνθρακα (C) συνδέεται με τρία άτομα υδρογόνου (H).

Αυτή η δομή είναι χαρακτηριστική της καφεΐνης και είναι υπεύθυνη για τις φαρμακολογικές ιδιότητές της, συμπεριλαμβανομένων των διεγερτικών της επιδράσεων στον ανθρώπινο οργανισμό.^{[29],[30]}



Εικόνα 11: Χημική δομή καφεΐνης

1.5.2 Βιολογικές δράσεις καφεΐνης

Η καφεΐνη έχει πολλές βιολογικές δράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό, ανάμεσα στις οποίες είναι οι:

- Διέγερση του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος: Η καφεΐνη διεγείρει τον εγκέφαλο και αυξάνει την αγωγιμότητα των νευρώνων. Αυτό οδηγεί σε αύξηση της εγρήγορσης, της συγκέντρωσης και της ενεργητικότητας και μειώνει την αίσθηση της κόπωσης.
- Αύξηση της Επίδρασης της Αδρεναλίνης: Η καφεΐνη αυξάνει την απελευθέρωση της αδρεναλίνης. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση του

καρδιακού ρυθμού, ανύψωση της αρτηριακής πίεσης και αυξημένη ενεργειακή προετοιμασία. Με αυτό το τρόπο μπορεί να προκαλέσει και αυξημένη ανησυχία, νευρικότητα και άγχος.

- Αύξηση της Επιδόσεως: Ορισμένοι άνθρωποι χρησιμοποιούν την καφεΐνη για να βελτιώσουν την αθλητική επίδοση, καθώς μπορεί να αυξήσει την αντοχή και την αγωγιμότητα των μυών.
- Βελτίωση της Άγνοιας: Η καφεΐνη μπορεί να βοηθήσει στην αύξηση της αντίληψης και της αφύπνισης, ιδίως όταν ο ένας αισθάνεται να είναι κοιμισμένος ή να έχει μείωση της προσοχής.
- Παρέμβαση στον Υπνικό Κύκλο: Η καφεΐνη μπορεί να διαταράσσει τον ύπνο, ιδίως αν καταναλώνεται κοντά στην ώρα του ύπνου.
- Αντιμετώπιση του πονοκεφάλου: Η καφεΐνη συχνά συμπεριλαμβάνεται σε αναλγητικά και φαρμακευτικά προϊόντα για την αντιμετώπιση του πονοκεφάλου, όπως στην παρακεταμόλη. ^{[30],[31]}

Ωστόσο, η καφεΐνη μπορεί να εμφανίσει διάφορες παρενέργειες, ιδίως όταν καταναλώνεται σε υψηλές ποσότητες. Ανάμεσα σε αυτές είναι η αυξημένη νευρικότητα, η ανησυχία και το άγχος, προκαλεί διαταραχή του ύπνου, αυξημένη αρτηριακή πίεση, αρρυθμίες και ταχυκαρδίες. Επιπλέον, μπορεί να προκαλέσει προβλήματα στο πεπτικό σύστημα χαλαρώνοντας τον κάτω σφιγκτήρα του οισοφάγου, οδηγώντας σε αίσθηση καούρας και γαστρεντερικές διαταραχές, όπως και προβλήματα στην κύηση αυξάνοντας τον κίνδυνο αποβολής και προκαλώντας καθυστέρηση της ανάπτυξης στην εμβρυϊκή και ενδομήτρια ανάπτυξη.

Η καφεΐνη, επίσης, καθώς είναι μια ψυχοδραστική ουσία μπορεί να δημιουργήσει εξάρτηση, η οποία θα οδηγήσει στην ανάγκης αυξημένη κατανάλωσή της για την επίτευξη των ίδιων επιπέδων ενεργειακής αναζωογόνησης, αυξάνοντας τον κίνδυνο εμφάνισης όλων των πιθανών παρενεργειών που αναφέρθηκαν. ^[32]

1.5.3 Εφαρμογές καφεΐνης

Η καφεΐνη έχει πολλές εφαρμογές στην καθημερινή ζωή, καθώς και σε διάφορους τομείς. Ορισμένες από τις κύριες εφαρμογές της καφεΐνης περιλαμβάνουν:

- Ποτά και τρόφιμα: Οι πηγές καφεΐνης όπως ο καφές, το τσάι και η σοκολάτα απολαμβάνονται ως αναψυκτικά και συστατικά σε διάφορα τρόφιμα και γλυκίσματα.
- Ενεργειακά ποτά: Η καφεΐνη προστίθεται σε πολλά ενεργειακά ποτά για να προσφέρει ενέργεια και να βοηθήσει στην αύξηση της αγωγιμότητας. Γι' αυτό το λόγο είναι ευρεία η κατανάλωσή της από αθλητές ως εργονομικό εργαλείο για βελτίωση της αντοχής και τις επίδοσης.

- Καφές: Ο καφές είναι μια από τις πιο δημοφιλείς πηγές καφεΐνης και απολαμβάνεται σε όλον τον κόσμο ως ποτό προσφέροντας ξύπνημα και απόλαυση.

Σημαντικό ρόλο παίζει η καφεΐνη και στον τομέα της φαρμακευτικής. Η καφεΐνη προστίθεται σε ορισμένα φάρμακα για να αυξήσει την αγωγιμότητα και να βελτιώσει την απορρόφηση των δραστικών ουσιών. Επιπλέον, προστίθεται και σε ορισμένα καλλυντικά προϊόντα, όπως κρέμες κατά της κυτταρίτιδας και σε καλλυντικά με φαρμακευτικές ιδιότητες, όπως επίσης σε αντηλιακά. Βρίσκει εφαρμογή και σε ορισμένα φυτοφάρμακα για την καταπολέμηση εντόμων και παθογόνων μικροοργανισμών.^{[33],[34]}

1.6 Χλωριούχο ασβέστιο

1.6.1 Προέλευση, δομή και ιδιότητες χλωριούχου ασβεστίου

Το χλωριούχο ασβέστιο είναι μια υδατοδιαλυτή ανόργανη ένωση, ένα άλας με χημικό τύπο CaCl_2 η οποία συνίσταται με τη μορφή λευκών κρυστάλλων. Είναι ένα άοσμο κρυσταλλικό στερεό που αποτελείται από λευκές νιφάδες ή σφαιρίδια και σε θερμοκρασία δωματίου είναι πολύ διαλυτό στο νερό. Διαλυτό είναι επίσης και σε ορισμένους πολικούς διαλύτες όπως στην αιθανόλη, το οξικό οξύ, τη μεθανόλη και άλλες αλκοόλες. Επιπλέον, όταν διαλύεται στο νερό η διαδικασία είναι εξώθερμη και επομένως προκαλεί θέρμανση του περιβάλλοντος.

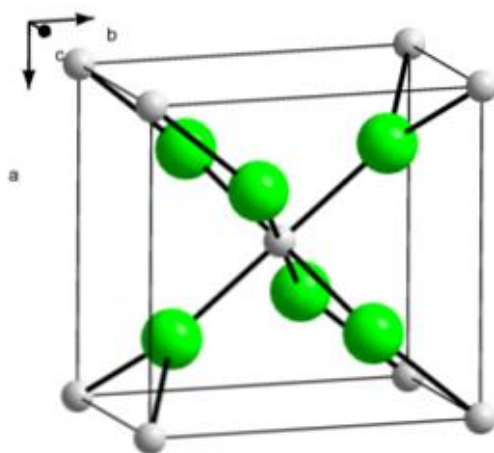


Εικόνα 12: Χλωριούχο ασβέστιο σε στερεή μορφή λευκών κόκκων

Σε συνθήκες χαμηλής υγρασίας είναι δυνατόν να διατηρηθεί το άνυδρο άλας χωρίς νερό, παρ' όλο που η φυσική του τάση είναι να απορροφήσει έως ότου διαλύσει. Αυτή η τάση απορρόφησης οφείλεται στη βασικότητα των ιόντων Ca^{+2} . Το χλωριούχο

ασβέστιο συνήθως θεωρείται ως ένα από τα ποικίλα ένυδρα στερεά με γενικό μοριακό τύπο $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_x$, όπου $x = 0, 1, 2, 4$ και 6 . Τα αποξηραντικά του χλωριούχου ασβεστίου λειτουργούν καλά σε ένα εύρος θερμοκρασίας, από το σημείο πήξης μέχρι του $80\text{ }^\circ\text{C}$ ή περισσότερο. Λόγω της υγροσκοπικής φύσης του, το άνυδρο χλωριούχο ασβέστιο πρέπει να φυλάσσεται αεροστεγώς.^{[35],[38]}

Η δομή του χλωριούχου ασβεστίου (CaCl_2) δείχνει ότι αποτελείται από ένα άτομο ασβεστίου (Ca) και δύο άτομα χλωρίου (Cl). Κάθε άτομο χλωρίου σχηματίζει μία αρνητική ιόντισμένη φορά (-1), ενώ το άτομο ασβεστίου σχηματίζει μία διπλή θετική ιόντισμένη φορά ($+2$). Η δομή του αποτυπώνεται στην παρακάτω εικόνα, όπου οι πράσινες σφαίρες αντιστοιχούν στα ιόντα Cl^- και οι λευκές στα ιόντα Ca^{+2} :



Εικόνα 13: Χημική δομή χλωριούχου ασβεστίου, CaCl_2

Σε μεγάλο μέρος του κόσμου, το χλωριούχο ασβέστιο παράγεται από ασβεστόλιθο ως υποπροϊόν της διαδικασίας Solvay. Είναι μια διαδικασία συνεχούς παραγωγής σόδας για την οποία οι Βέλγοι αδελφοί Solvay το 1861 πήραν δίπλωμα ευρεσιτεχνίας, αντικαθιστώντας τη διαδικασία Leblanc, η οποία χρησιμοποιείτο μέχρι τότε κι ήταν ιδιαίτερος πολύπλοκη. Το χλωριούχο ασβέστιο μπορεί, επίσης, να ληφθεί και με καθαρισμό της άλμης (αλατόνερο).^{[35],[36]}

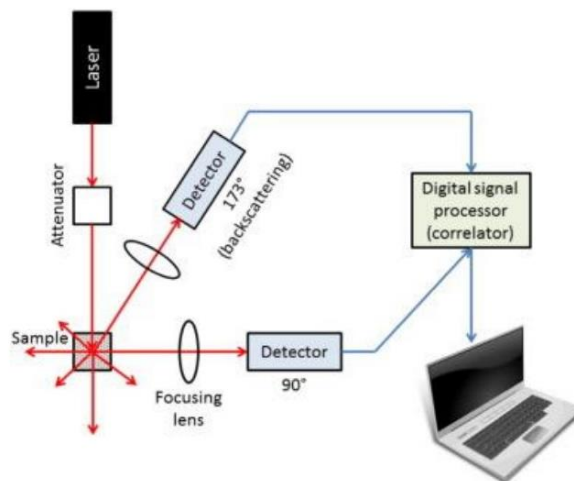
1.6.2 Εφαρμογές χλωριούχου ασβεστίου

Το χλωριούχο ασβέστιο είναι μια πολύπλευρη χημική ένωση, όπως επίσης και ένα από τα πιο κοινά άλατα που χρησιμοποιούνται. Λόγω της πολυμορφίας και της ευελιξίας του, το χλωριούχο ασβέστιο χρησιμοποιείται ευρέως για εμπορικούς, οικιακούς και βιομηχανικούς σκοπούς. Παρακάτω παρουσιάζονται μερικές από τις πιο συνήθεις χρήσεις του χλωριούχου ασβεστίου:

- Λιώσιμο του πάγου: Μία από τις πιο σημαντικές χρήσεις του χλωριούχου ασβεστίου είναι το λιώσιμο του πάγου που σχηματίζεται στους δρόμους, όπως επίσης και για την πρόληψη σχηματισμού πάγου, μειώνοντας το σημείο πήξεως του νερού. Η αφαίρεση χιονιού και πάγου γίνεται εύκολα με το χλωριούχο ασβέστιο, καθώς η διαλυτοποίησή του όπως προαναφέρθηκε είναι εξώθερμη διαδικασία, δημιουργεί θερμότητα και έτσι λιώνει τον πάγο και το χιόνι. Σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες κρίνεται πιο αποτελεσματικό σε σχέση με το κοινό αλάτι, το χλωριούχο νάτριο.
- Ιατρική: Στον ιατρικό τομέα, το χλωριούχο ασβέστιο χρησιμοποιείται σε διάφορες ιατρικές διαδικασίες και θεραπείες. Χρησιμοποιείται ως πηγή ασβεστίου για ασθενείς με έλλειψη ασβεστίου, και παίζει ρόλο στην αναζωογόνηση της καρδιάς. Χρησιμοποιείται, επίσης για τη θεραπεία διαφόρων σωματικών και ψυχικών ασθενειών, για τη θεραπεία υποκαλιαιμίας, υπερκαλιαιμίας, όπως και για τη θεραπεία δηλητηρίασης από μαγνήσιο.
- Αποξηραντικό: Το χλωριούχο ασβέστιο είναι υγροσκοπικό υλικό, πράγμα που σημαίνει ότι μπορεί να απορροφήσει υγρασία από τον αέρα. Χρησιμοποιείται συχνά σε πακέτα αποξήρανσης για να διατηρούν προϊόντα όπως ηλεκτρονικά, τρόφιμα και φαρμακευτικά προϊόντα στεγανά κατά τη διάρκεια αποθήκευσης και μεταφοράς, σε οικιακούς και άλλους χώρους.
- Επεξεργασία νερού: Το χλωριούχο ασβέστιο χρησιμοποιείται σε διαδικασίες επεξεργασίας νερού για να προσαρμόσει τη σκληρότητα του νερού αυξάνοντας τη συγκέντρωση των ιόντων ασβεστίου. Βοηθά στο να αποφεύγεται η δημιουργία αλάτων στους αγωγούς και τα λέβητες, βελτιώνοντας την απόδοση και τη διάρκεια ζωής του εξοπλισμού.
- Πρόσθετο τροφίμων: Στην βιομηχανία τροφίμων, το χλωριούχο ασβέστιο λειτουργεί ως πρόσθετο τροφίμων που χρησιμοποιείται για διάφορους σκοπούς, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης ως προστιθέμενος στερεωτικός παράγοντας σε κονσέρβες λαχανικών και φρούτων, ως σταθεροποιητής σε γαλακτοκομικά προϊόντα, ως πηγή ασβεστίου σε ορισμένες εφαρμογές τροφίμων και ποτών και ως ηλεκτρολύτες σε αθλητικά και άλλα ποτά.
- Στις βιομηχανίες: Στον τομέα της κατασκευής, το χλωριούχο ασβέστιο χρησιμοποιείται για το σκυρόδεμα. Βελτιώνει τη βάση του σκυροδέματος, ως πρόσθετο και βοηθά στον έλεγχο της υγρασίας πάντοτε. Στη βιομηχανία του πετρελαίου και του φυσικού αερίου, αυτό το χημικό είναι ένα σημαντικό συστατικό που χρησιμοποιείται στον τομέα της διάτρησης και ως αφυγραντικό μέσο. Επίσης, χρησιμοποιείται στη γεωργία ως πηγή ασβεστίου.
- Τέλος, το χλωριούχο ασβέστιο αποτελεί απαραίτητο συστατικό της λεγόμενης «βασικής σφαιροποίησης», μια τεχνική, η οποία εφαρμόζεται στη «μοριακή γαστρονομία», αλλά και για την κατασκευή «μοριακών κοκτέιλ».^[37]

1.7 Δυναμική σκέδαση φωτός – Dynamic Light Scattering (DLS)

Η δυναμική σκέδαση του φωτός (Dynamic Light Scattering - DLS) είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται στην επιστήμη και την έρευνα για να μετρήσει το μέγεθος των σωματιδίων, την κατανομή μεγέθους και το ζ-δυναμικό. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιεί ένα λέιζερ για να φωτίσει τα σωματίδια στο δείγμα και ένα φωτοανιχνευτή για να μετρήσει τη διάσπαση του φωτός που διασκορπίζεται από αυτά. Είναι επίσης γνωστή ως Φασματοσκοπία συσχέτισης φωτονίων - Photon Correlation Spectroscopy (PCS). Η μέθοδος δίνει πληροφορίες για σωματίδια με διάμετρο από μερικά νανόμετρα έως λίγα μικρόμετρα. Απαιτεί ελάχιστη προετοιμασία του δείγματος και λειτουργεί χωρίς προ-πειραματική βαθμονόμηση παρέχοντας μια ολοκληρωμένη ανάλυση δεδομένων. Η μέθοδος είναι χρήσιμη σε πολλές εφαρμογές, συμπεριλαμβανομένης της χημείας, της βιολογίας, της φαρμακευτικής, της υλικοτεχνικής και της κοσμητολογίας, καθώς βοηθά στην κατανόηση των φυσικών και χημικών ιδιοτήτων των σωματιδίων σε διάλυση.



Εικόνα 14: Σχηματική απεικόνιση της αρχής λειτουργίας της δυναμικής σκέδασης φωτός

1.7.1 Αρχή λειτουργίας για τον προσδιορισμό του μεγέθους και της κατανομής του μεγέθους

Η αρχή λειτουργίας της μεθόδου για τον προσδιορισμό του μεγέθους και της κατανομής του μεγέθους των σωματιδίων βασίζεται στον προσδιορισμό του συντελεστή διάχυσης των σωματιδίων, τα οποία ακολουθούν την κίνηση Brown, λόγω των θερμικών συγκρούσεων που δημιουργούνται μεταξύ των σωματιδίων και των μορίων διαλύτη. Η ταχύτητα των σωματιδίων εξαρτάται από το μέγεθός τους και από τη θερμοκρασία και το ιξώδες του διαλύματος. Επομένως, μέσω της μονοχρωματικής ακτίνας λέιζερ, συγκεκριμένου μήκους κύματος, καταγράφοντας την ένταση του σκεδαζόμενου φωτός παρέχονται πληροφορίες σχετικά με την ταχύτητα διάχυσης και κατ' επέκταση για την κατανομή μεγέθους.

Με αυτόν τον τρόπο υπολογίζεται η υδροδυναμική διάμετρος των διεσπαρμένων σωματιδίων μέσω του υπολογισμένου συντελεστή διάχυσης και με εφαρμογή της εξίσωσης Stokes-Einstein:

$$d_H = \frac{k \cdot T}{3 \cdot \pi \cdot \eta \cdot D} \quad (1)$$

Όπου:

d_H =υδροδυναμική διάμετρος (m)

k = σταθερά Boltzmann (J/K)

T =θερμοκρασία (K)

η =ιξώδες του διαλύτη (kg/m*s)

D =συντελεστής διάχυσης (m²/s)

Το μέγεθος των σωματιδίων αποτελεί βασική παράμετρο για τον χαρακτηρισμό των σωματιδίων, καθώς αποτελεί βασικό παράγοντα για διάφορες βιολογικές δραστηριότητες όπου είναι απαραίτητο η τάξη μεγέθους να βρίσκεται στη νανοκλίμακα και επιπλέον επηρεάζει τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των νανοσωματιδίων, τη σταθερότητά τους, τον ρυθμό αποδέσμευσης και την ανάπτυξη συστημάτων χορήγησης φαρμάκων.^{[38],[39]}

Με τη θεώρηση πως όλα τα δείγματα είναι σφαιρικά, λαμβάνεται μια καμπύλη κατανομής του δείγματος και τιμές στατιστικές ανάλυσης μέσω των οποίων υπολογίζεται και ο δείκτης πολυδιασποράς (Polydispersity Index - PDI) μέσω της σχέσης:

$$PDI = \left(\frac{\sigma}{D_h}\right)^2 \quad (2)$$

όπου: σ =τυπική απόκλιση

D_h =μέση υδροδυναμική διάμετρος σωματιδίων

Ο δείκτης πολυδιασποράς PDI αποτελεί μία εξίσου σημαντική παράμετρο για τον χαρακτηρισμό της διασποράς των σωματιδίων, καθώς ορίζει το εύρος της κατανομής μεγέθους των νανοσωματιδίων. Μία μικρή τιμή του δείκτη πολυδιασποράς υποδηλώνει ομοιομορφία της διασποράς των νανοσωματιδίων και επομένως μονοδιασπορά, ενώ αντίθετα υψηλή τιμή του υποδηλώνει ευρεία κατανομή, συνύπαρξη αυξημένου αριθμού οικογενειών μεγέθους νανοσωματιδίων και επομένως πολυδιασπορά. Γενικά, μια τιμή του δείκτη πολυδιασποράς έως 0.5 θεωρείται αποδεκτή.^{[39],[40],[41]}

1.7.2 Αρχή λειτουργίας για τον προσδιορισμό του ζ-δυναμικού

Η λειτουργία της μεθόδου για τον υπολογισμό του ζ-δυναμικού βασίζεται στην αρχή σκέδασης του φωτός. Το δείγμα τοποθετείται σε μια κυψελίδα και στη συνέχεια η κυψελίδα σε ένα θάλαμο που περιέχονται 2 ηλεκτρόδια, εφαρμόζεται ηλεκτρικό πεδίο και φωτίζεται από διασταυρούμενες ακτίνες λέιζερ με στόχο τα σωματίδια να μεταναστεύσουν προς το αντίθετα φορτισμένο ηλεκτρόδιο με σταθερή ταχύτητα. Όταν ένα φορτισμένο σωματίδιο είναι διασκορπισμένο, δημιουργείται ένα ηλεκτρικό διπλό στρώμα στην επιφάνειά του, στο εσωτερικό του οποίου βρίσκονται ιόντα αντίθετα φορτισμένα από το σωματίδιο. Επίσης, δημιουργείται ένα στρώμα διάχυσης που αποτελείται και από θετικά και από αρνητικά φορτισμένα ιόντα, μέσα στο οποίο υπάρχει ένα υποθετικό επίπεδο, το οποίο λειτουργεί σαν διεπιφάνεια μεταξύ των κινούμενων σωματιδίων, Το ζ-δυναμικό είναι το ηλεκτροκινητικό δυναμικό που αναπτύσσεται μέσα σε αυτό.

Με αυτό τον τρόπο, μετρώντας την κινητικότητα των σωματιδίων, παρουσία ηλεκτρικού ρεύματος δύναται να προσδιοριστεί το ζ-δυναμικό (zeta-potential). Η ταχύτητα των σωματιδίων, η οποία αναφέρεται και ως ηλεκτροφορητική κινητικότητα U_E , εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, οι οποίοι αποτυπώνονται στην εξίσωση Henry:

$$U_E = \frac{2 \cdot \epsilon \cdot z \cdot f(K_\alpha)}{3 \cdot \eta} \quad (3)$$

όπου:

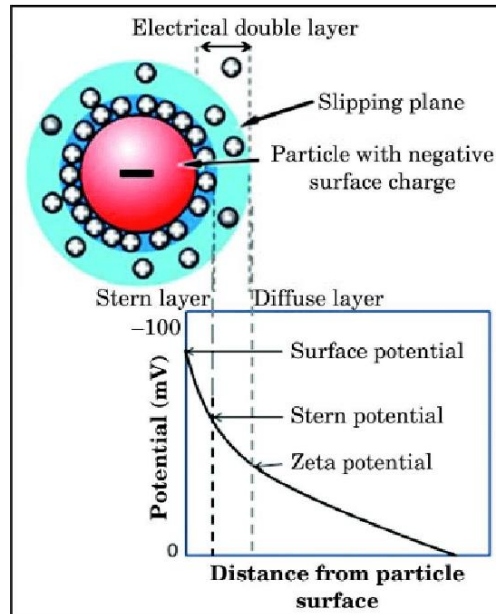
U_E =ηλεκτροφορητική κινητικότητα σωματιδίων

ϵ =διηλεκτρική σταθερά μέσου διασποράς

z =ζ-δυναμικό

η =ιξώδες μέσου διασποράς

$f(K_\alpha)$ =η συνάρτηση Helmholtz-Smoluchowski, η οποία για τα υδατικά διαλύματα παίρνει την τιμή 1.5^{[40],[42]}



Εικόνα 15: Σχηματική απεικόνιση του ζ-δυναμικού και των στρωμάτων γύρω από το σωματίδιο

Το ζ-δυναμικό αποτελεί σημαντική παράμετρο χαρακτηρισμού των σωματιδίων, καθώς είναι μια ένδειξη της σταθερότητάς τους. Ειδικότερα, όταν η τιμή του ζ-δυναμικού είναι υψηλή, τότε τα νανοσωματίδια έχουν την τάση να απωθούν το ένα το άλλο, μειώνεται δηλαδή η τάση συσσωμάτωσης των νανοσωματιδίων και το δείγμα περιλαμβάνει μια διασπορά υψηλής σταθερότητας. Μια τιμή του ζ-δυναμικού, παραπλήσια του ± 30 mV είναι η επιθυμητή. Παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν την τιμή του ζ-δυναμικού είναι το επιφανειακό φορτίο των σωματιδίων, το μέσο διασπορά και η θερμοκρασία και το pH του μέσου διασποράς.^{[42],[43]}

1.8 Μελέτη αποδέσμευσης

Το προφίλ αποδέσμευσης αναφέρεται σε μια περιγραφή της διαδικασίας αποδέσμευσης (απομάκρυνσης) μιας ουσίας από ένα δείγμα ιστού ή κυττάρων. Συνήθως, αυτό το είδος ανάλυσης χρησιμοποιείται στην βιολογία, τη φαρμακολογία και άλλους επιστημονικούς τομείς για να μελετήσει τον τρόπο με τον οποίο μια ουσία αλληλεπιδρά με ιστούς ή κύτταρα υπό σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας και pH.

Παράγοντες που επηρεάζουν το προφίλ αποδέσμευσης είναι η ουσία που μελετάται, ο τύπος του δείγματος, οι συνθήκες του πειράματος, θερμοκρασία και pH, ο χρόνος που χρειάζεται η ουσία για να αποδεσμευτεί πλήρως από το δείγμα και οι αναλυτικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της αποδέσμευσης.

1.8.1 Μηχανισμοί αποδέσμευσης

Ανάλογα με το μηχανισμό της αποδέσμευσης της ουσίας από ένα νανοσύστημα, αυτά διακρίνονται τέσσερις κατηγορίες: 1) τα συστήματα όπου η αποδέσμευση ελέγχεται από τη διάχυση διαμέσου του πολυμερούς, 2) τα συστήματα όπου η αποδέσμευση ελέγχεται από τη διείσδυση του διαλύτη στην ουσία, 3) τα συστήματα όπου η αποδέσμευση ελέγχεται από την αποικοδόμηση του πολυμερούς και 4) τα συστήματα όπου η αποδέσμευση ελέγχεται από ερεθίσματα.^{[44],[45]}

Όταν η αποδέσμευση γίνεται βάσει της διάχυσης, γίνεται χρήση της μεμβράνης διαπήδησης, η οποία αποτελεί μια απλή και σχετικά λιγότερο χρονοβόρα διαδικασία. Είναι μια διαδικασία ευρέως χρησιμοποιούμενη κατά την οποία γίνεται τοποθέτηση του συστήματος εντός μεμβράνης με προκαθορισμένο μέγεθος πόρων και η οποία στη συνέχεια τοποθετείται εντός ρυθμιστικού διαλύματος με συγκεκριμένη τιμή pH. Η μεμβράνη ελέγχει τη διάχυση της ουσίας στο ρυθμιστικό διάλυμα βάσει του μεγέθους των πόρων της, το οποίο επιλέγεται ανάλογα με το μέγεθος των μορίων του συστήματος και τον επιθυμητό ρυθμό αποδέσμευσης.

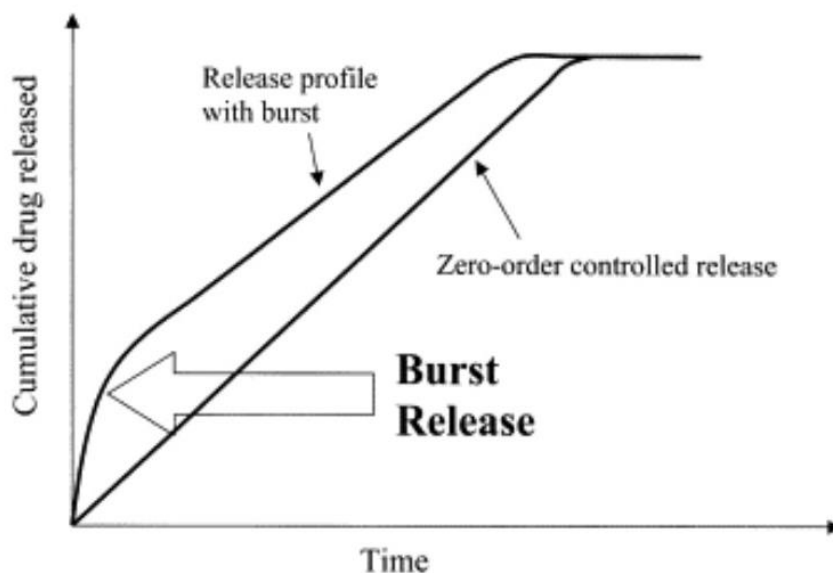
Με αυτόν τον τρόπο, λαμβάνοντας δείγματα από το ρυθμιστικό διάλυμα ανά τακτά χρονικά διαστήματα και με χρήση μηχανημάτων, όπως η φασματοσκοπία υπεριώδους Υv-Vis, δύναται να ποσοτικοποιηθεί η απελευθερωμένη ουσία συναρτήσει του χρόνου αποδέσμευσης.^{[47],[48]}

1.8.2 Burst effect

Για τα πολυμερικά νανοσυστήματα, το πιο σύνηθες προφίλ αποδέσμευσης είναι τριφασικό, ωστόσο στην περίπτωση πολύ μικρών σωματιδίων μπορεί να είναι διφασικό. Πιο συγκεκριμένα, η πρώτη φάση αφορά στην ταχεία αποδέσμευση της δραστικής ουσίας που είναι επιφανειακά προσροφημένη, η δεύτερη είναι μια βραδεία φάση λόγω της βραδείας διάχυσης της ουσίας διαμέσου των πόρων της πολυμερικής μήτρας και η τρίτη είναι μια ταχεία φάση λόγω της μαζικής διάβρωσης του πολυμερούς.

Συχνό φαινόμενο στο πλαίσιο της αποδέσμευσης φαρμάκων είναι το λεγόμενο "burst effect", το οποίο αναφέρεται σε μια αρχική και γρήγορη απελευθέρωση της δραστικής ουσίας ενός φαρμάκου από ένα σύστημα παράδοσης φαρμάκων ακολουθούμενη από ένα προφίλ σταθερής αποδέσμευσης. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να συμβεί λόγω διάφορων παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των φυσικών ιδιοτήτων του φαρμάκου, του σχεδιασμού του συστήματος παράδοσης φαρμάκων και της διαμόρφωσης της δόσης. Μπορεί να επηρεάζεται από παράγοντες όπως η διαλυτότητα του φαρμάκου, η φόρτιση του φαρμάκου στο σύστημα παράδοσης και η παρουσία πορώδους δομής στο σύστημα παράδοσης.

Είναι πολύ σημαντική η αποφυγή εκδήλωσης του φαινομένου αυτού καθώς η έκρηξη αυτή είναι μια κρίσιμη παράμετρος στην απελευθέρωση φαρμάκων, ιδίως για φάρμακα με στενό θεραπευτικό παράθυρο ή φάρμακα που είναι πιθανό να εμφανίσουν παρενέργειες σε υψηλές συγκεντρώσεις. Μια σημαντική έκρηξη μπορεί να οδηγήσει σε πιθανή τοξικότητα ή μειωμένη θεραπευτική αποτελεσματικότητα.^{[46],[47]}



Εικόνα 16: Προφίλ αποδέσμευσης δραστικής ουσίας σε σύγκριση με κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης

1.8.3 Κινητικά μοντέλα

Τα μαθηματικά κινητικά μοντέλα που χρησιμοποιούνται για την περιγραφή της κινητικής αποδέσμευσης ουσιών από συστήματα μεταφοράς φαρμάκων εξετάζουν πως παράμετροι, όπως το σχήμα, το μέγεθος και η σύνθεση του συστήματος επηρεάζουν το ρυθμό αποδέσμευσης της ουσίας. Τα κυριότερα μαθηματικά μοντέλα που χρησιμοποιούνται για την πρόβλεψη της αποδέσμευσης της ουσίας συναρτήσει του χρόνου είναι:

- το μοντέλο μηδενικής τάξης
- το μοντέλο πρώτης τάξης
- το μοντέλο Higuchi
- το ημι-εμπειρικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas^{[48],[49]}

1.8.3.1 Μοντέλο μηδενικής τάξης (Zero Order)

Στο κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας είναι συνάρτηση του χρόνου και η διεργασία γίνεται με σταθερό ρυθμό ανεξαρτήτως της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας.

Η κινητική μηδενικής τάξης εφαρμόζεται κυρίως σε συστήματα ώσμωσης όπου η δραστική ουσία περικλείεται από μια μεμβράνη η οποία είναι διαπερατή από το νερό αλλά όχι από τη δραστική ουσία και η εξίσωση που περιγράφει το μοντέλο μηδενικής τάξης είναι η παρακάτω:

$$C_t = C_o + k_o t \quad (4)$$

Όπου :

C_t : η ποσότητα της συγκέντρωσης που διαλύεται σε χρόνο t

C_o : η αρχική ποσότητα της δραστικής ουσίας στο διάλυμα

k_o : η σταθερά αποδέσμευσης μηδενικής τάξης

t: ο χρόνος σε h^{[49],[50]}

1.8.3.2 Μοντέλο πρώτης τάξης (First Order)

Το κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης περιγράφει συστήματα στα οποία ο ρυθμός αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας εξαρτάται από τη συγκέντρωση της ουσίας. Εφαρμόζεται σε συστήματα αποδέσμευσης όπου οι βιοδραστικές ενώσεις είναι υδατοδιαλυτές και περικλείονται από πορώδη μήτρα και περιγράφεται με την εξίσωση:

$$\log Q = \log Q_o + \frac{k t}{2.303} \quad (5)$$

Όπου:

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

Q_o: η αρχική ποσότητα της δραστικής ουσίας στο διάλυμα

k: η σταθερά αποδέσμευσης

t: ο χρόνος σε h^{[49],[50]}

1.8.3.3 Μοντέλο Higuchi

Το μοντέλο Higuchi χρησιμοποιείται για την περιγραφή αποδέσμευσης η οποία εξαρτάται από τη διάχυση, υπακούει στον πρώτο νόμο του Fick και εκφράζεται με την ακόλουθη εξίσωση:

$$Q = k_H t^{1/2} \text{ ή } \frac{Mt}{M_0} = kt^{1/2} \quad (6)$$

Όπου:

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

k_H : σταθερά Higuchi

t : χρόνος σε h

M_0 : η αρχική ποσότητα της δραστικής ουσίας στο διάλυμα

Mt : η ποσότητα της δραστικής ουσίας που διαλύεται σε χρόνο t ^{[49],[50],[51]}

Για τη χρήση του μοντέλου είναι απαραίτητες οι εξής παραδοχές:

- η αρχική συγκέντρωση της ουσίας είναι πολύ υψηλότερη από ό,τι το μέσο αποδέσμευσης
- η διάχυση της ουσίας λαμβάνει χώρα μόνο σε μία διάσταση
- τα σωματίδια του φαρμάκου είναι πολύ μικρότερα από το σύστημα
- η διόγκωση και η διαλυτότητα του φορέα είναι αμελητέα
- ο ρυθμός διάχυσης της δραστικής ουσίας είναι σταθερός
- η διάλυση στο μέσο αποδέσμευσης είναι πλήρης ^{[51],[52]}

1.8.3.4 Μοντέλο Korsmeyer-Peppas

Το μοντέλο Korsmeyer – Peppas είναι ένα ημι-εμπειρικό μοντέλο που περιγράφει την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας με σκοπό την ανάλυση του πρώτου 60% των δεδομένων αποδέσμευσης. Η αποδέσμευση εκφράζεται με την εξίσωση:

$$F = \frac{Mt}{M} = k_m t^n \quad (7)$$

F : κλάσμα της ουσίας που αποδεσμεύεται την χρονική στιγμή t

M_t : ποσότητα της ουσίας που αποδεσμεύεται την χρονική στιγμή t

M : συνολική ποσότητα της ουσίας στην ισορροπία

k_m : κινητική σταθερά που ενσωματώνει δομικά και γεωμετρικά χαρακτηριστικά του συστήματος

t : χρόνος σε h

n : εκθέτης διάχυσης ή αποδέσμευσης ^{[49],[50],[52]}

Ανάλογα με την τιμή του εκθέτη n , στο μοντέλο Korsmeyer-Peppas, παρατηρούνται διάφοροι μηχανισμοί απελευθέρωσης:

- Μηχανισμός Διάχυσης Fickian ($n \leq 0.45$): η απελευθέρωση ελέγχεται κυρίως από τη διάχυση
- Μη Fickian διάχυση ($0.45 < n < 0.89$): τα φαινόμενα διάχυσης και διόγκωσης είναι ισοδύναμα.
- Μη Fickian διάχυση Case II ($n = 0.89$): κυριαρχούν τα φαινόμενα διόγκωσης και χαλάρωσης των πολυμερικών αλυσίδων
- Super Case II ($n > 0.89$): πραγματοποιείται διάσπαση των πολυμερικών αλυσίδων (λόγω των τάσεων που αναπτύσσονται).^{[49],[52]}

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η ανάπτυξη μιας διεργασίας εγκλωβισμού του αλκαλοειδούς καφεΐνη σε νανοσυστήματα αλγινικού με χρήση φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (NADES). Ο εγκλεισμός πραγματοποιείται με στόχο την ελεγχόμενη αποδέσμευση της καφεΐνης σε συνθήκες που προσομοιάζουν το ανθρώπινο δέρμα. Τα νανοσυστήματα θα χαρακτηριστούν ως προς το μέγεθος, τον δείκτη πολυδιασποράς και το ζ-δυναμικό.

Πιο συγκεκριμένα, παρασκευάστηκαν νανοσυστήματα αλγινικού περιεκτικότητας 0.4% w/v, με ποσότητα καφεΐνης σταθερής περιεκτικότητας 10% w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.1, 0.3 και 0.5 % v/v και νανοσυστήματα αλγινικού περιεκτικότητας πάλι 0.4 % w/v, με ποσότητα καφεΐνης περιεκτικότητας 10, 20 και 30 % w/w, διαλυμένη σε NADES σταθερής περιεκτικότητας 0.3% v/v. Στη συνέχεια, παρασκευάστηκαν νανοσυστήματα αλγινικού περιεκτικότητας 0.4% w/v, με ποσότητα καφεΐνης περιεκτικότητας 10, 20 και 30 % w/w, διαλυμένη αυτή τη φορά σε διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου σταθερής περιεκτικότητας 0.05 % w/v.

Για όλα τα νανοσυστήματα αλγινικού, ο χαρακτηρισμός τους ως προς το μέγεθος (size), τον δείκτη πολυδιασποράς (Polydispersity Index – PDI) και το ζ-δυναμικό (z-potential), πραγματοποιείται με χρήση της μεθόδου δυναμικής σκέδασης φωτός (Dynamic Scattering Light – DLS). Ο προσδιορισμός της απόδοσης εγκλωβισμού, ο οποίος γίνεται με άμεσο τρόπο καθώς και ο προσδιορισμός του ποσοστού αποδέσμευσης της ουσίας πραγματοποιείται μέσω της φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού (UV-Vis).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Αντιδραστήρια – Όργανα/Συσκευές

2.1.1 Αντιδραστήρια

Κατά την πειραματική διαδικασία της παρασκευής και του χαρακτηρισμού των νανοσυστημάτων αλγινικού με χρήση φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη χρησιμοποιήθηκαν τα εξής αντιδραστήρια:

Πίνακας 1: Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή και τον χαρακτηρισμό των νανοσυστημάτων

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ	ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ	ΠΡΟΜΗΘΕΥΤΗΣ
Άλας νατρίου του αλγινικού οξέος (αλγινικό νάτριο)	$(\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6)_n$	Glentham Life Services
Γλυκόζη	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	Sigma
Γαλακτικό οξύ	$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$	Labkem
Υπερκάθαρο νερό	H_2O	-
Καφεΐνη	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$	-
Όξινο φωσφορικό κάλιο	K_2HPO_4	Penta
Δισόξινο φωσφορικό κάλιο	KH_2PO_4	Penta
Αιθανόλη 99.8%	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	Sigma-Aldrich
Χλωριούχο ασβέστιο	CaCl_2	Sigma-Aldrich

2.1.2 Όργανα και Συσκευές

Κατά την πειραματική διαδικασία της παρασκευής και του χαρακτηρισμού των νανοσυστημάτων αλγινικού – καφεΐνης με χρήση φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη χρησιμοποιήθηκαν τα εξής όργανα και οι εξής συσκευές:

Πίνακας 2: Όργανα και συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή και τον χαρακτηρισμό των νανοσυστημάτων

Όργανο-Συσκευή	Κατασκευαστής	Μοντέλο
Αναδευτήρας τύπου vortex	Velp	ZX4
Ζυγός ακριβείας	KERN	ADJ 200-4

Μαγνητικός αναδευτήρας με θερμαινόμενη εστία	radleys	RR98072
Πεχάμετρο	Metrohm	744 pH Meter
Λουτρό υπερήχων	Branson	2210 Ultrasonic Bath
Probe υπερήχων (400 W)	Sonics & Materials Inc.	Vibra Cell
Dynamic Light Scattering (DLS)	Malvern Panalytical	Zetasizer Nano ZS
Φασματοφωτόμετρο Uv-Vis	Jasco	V-770 Uv-Vis/NIR
Vacuum Freeze Dryer	Frozen in time	Lablyo mini
Syringe filters 0.22µm	Labbox	Non-sterile Nylon Syringe Filters, 0.22µm Poro

2.2 Σύνθεση του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη

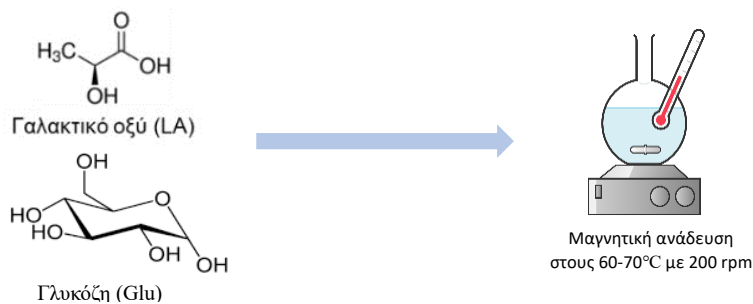
Η σύνθεση του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη γλυκόζης (Glu)- γαλακτικού οξέος (LA) σε γραμμομοριακή αναλογία 1:5 πραγματοποιείται με τη μέθοδο της θέρμανσης και ανάδευσης των 2 συστατικών. Η διαδικασία της ανάδευσης γίνεται στους 80°C στα 200 rpm.

(Σημείωση: δεν μπορώ να πάρω 100% καθαρό γαλακτικό οξύ, γι' αυτό γίνεται χρήση του εμπορικού διαλύματος γαλακτικού οξέος που είναι 80% LA και 20% νερό και επομένως η γραμμομοριακή αναλογία γλυκόζης-γαλακτικού οξέος-νερού είναι 1:5:6.2)

Ζυγίζονται οι κατάλληλες ποσότητες υδατικού διαλύματος γαλακτικού οξέος 80% w/w (12.49 gr) και γλυκόζης (4 gr) και μεταφέρονται σε σφαιρική φιάλη των 50 mL. Η σφαιρική φιάλη τοποθετείται σε μαγνητικό αναδευτήρα με θερμαινόμενη εστία και αφήνεται υπό ανάδευση στους 60-70°C με 200 rpm έως ότου το διάλυμα γίνει διαυγές.

Στη συνέχεια αναλύονται οι υπολογισμοί των ποσοτήτων LA και Glu:

Molar Ratio (Glu-LA)	1	5
Mr (g/mol)	Glu=180.2	LA=90.08
Χρησιμοποιούμενα gr	4	9.99
mol	0.022	0.11



Σχήμα 1 : Πειραματική διαδικασία σύνθεσης του NADES Glu:LA

2.3 Παρασκευή υδατικού διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου (CaCl₂)

Για την παρασκευή του υδατικού διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου συγκέντρωσης 0.5 mg/mL ζυγίζονται 10 mg χλωριούχου ασβεστίου και διαλύονται σε 20 mL υπερκάθαρο νερό.

Το υδατικό διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου θα χρησιμοποιηθεί για την σύνθεση νανοσωματιδίων αλγινικού με διαλυμένη σε χλωριούχο ασβέστιο καφεΐνη για την καλύτερη αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των νανοσυστημάτων με χρήση του βαθέως ευτηκτικού διαλύτη και τη μεταξύ τους σύγκριση, ώστε να αξιολογηθεί η δυνατότητα αντικατάστασης των συμβατικών με πράσινων διαλυτών.

2.4 Σύνθεση νανοσυστημάτων αλγινικού με χρήση NADES ως διαλύτη.

2.4.1 Σύνθεση νανοσυστημάτων αλγινικού με διαλυμένη σε NADES καφεΐνη.

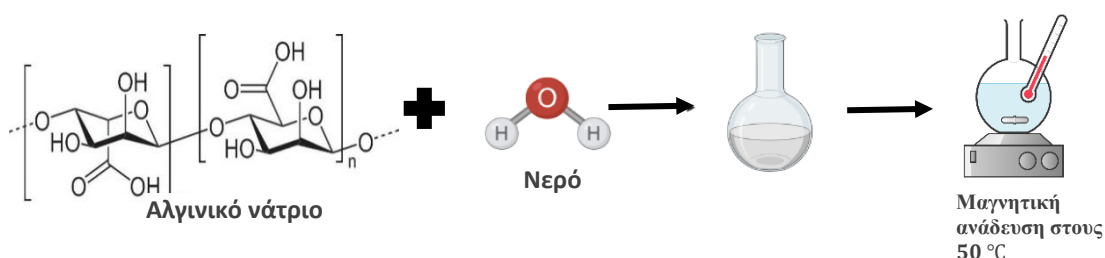
Πραγματοποιήθηκε μια σειρά σύνθεσης νανοσυστημάτων αλγινικού με εγκλωβισμένη καφεΐνη διατηρώντας σταθερή την περιεκτικότητα του αλγινικού διαλύματος και μεταβάλλοντας την περιεκτικότητα του βαθέως ευτηκτικού διαλύτη και της καφεΐνης. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι αντίστοιχες περιεκτικότητες και οι παράμετροί τους:

Πίνακας 3: Περιεκτικότητες παραμέτρων για τη σύνθεση νανοσυστημάτων αλγινικού με διαλυμένη σε NADES ποσότητα καφεΐνης

0.4% w/v Al	10% w/w caffeine	0.1% v/v NADES
		0.3% v/v NADES
		0.5% v/v NADES
0.3% v/v NADES	10% w/w caffeine	
	20% w/w caffeine	
	30% w/w caffeine	

Αρχικά, παρασκευάζεται το διάλυμα αλγινικού νατρίου περιεκτικότητας 0.4% w/v ως εξής:

1. Σε σφαιρική φιάλη των 100 mL προστίθεται ζυγισμένη ποσότητα αλγινικού νατρίου (200mg) μαζί με 50 mL υπερκάθαρου νερού.
2. Η σφαιρική φιάλη τοποθετείται σε αναδευτήρα με μαγνητική ανάδευση και θερμαινόμενη εστία, όπου και αφήνεται υπό έντονη ανάδευση και θέρμανση στους 50°C, μέχρι την πλήρη διαλυτοποίηση του αλγινικού νατρίου.
3. Η σφαιρική φιάλη απομακρύνεται από τον αναδευτήρα και αφήνεται να έρθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (pH 4.8).

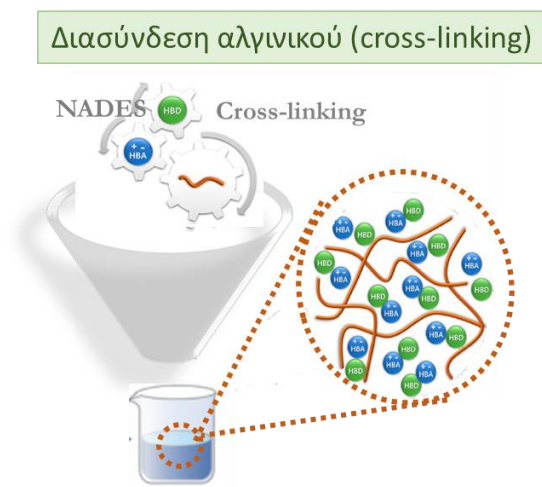


Σχήμα 2 : Πειραματική διαδικασία παρασκευής του διαλύματος αλγινικού νατρίου

Για την παρασκευή των νανοσυστημάτων αλγινικού με εγκλωβισμένη καφεΐνη απαιτούνται 10 mL αλγινικού διαλύματος τα οποία τοποθετούνται σε σφαιρική φιάλη των 50 mL και αφήνονται υπό ήπια ανάδευση. Στη συνέχεια ακολουθεί η εξής διαδικασία:

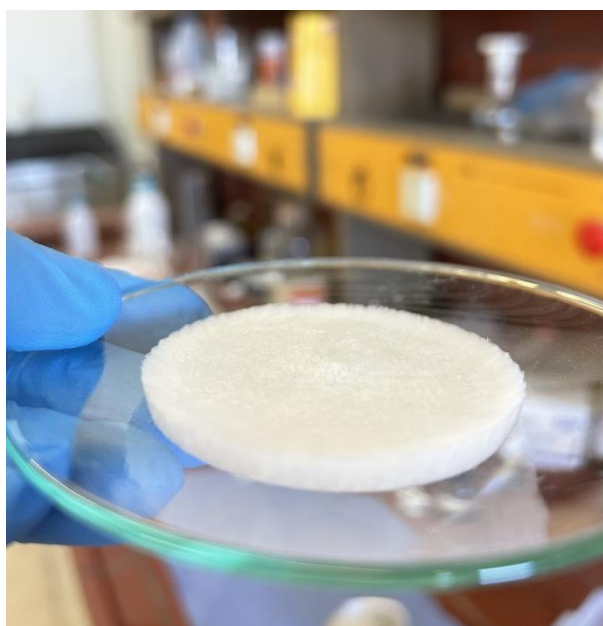
- I. Σε eppendorf ζυγίζονται τα κατάλληλα mg καφεΐνη , έπειτα προστίθεται τα κατάλληλα μL NADES και ακολουθεί ανάδευση του περιεχομένου σε αναδευτήρα τύπου vortex. Για την πλήρη διαλυτοποίηση της καφεΐνης μπορεί να χρειαστεί η θέρμανση του vial σε bath νερού χαμηλής θερμοκρασίας.

- II. Η διαλυμένη καφεΐνη σε NADES προστίθεται στάγδην στη σφαιρική φιάλη με το αλγινικό διάλυμα και αφήνονται υπό ανάδευση για 1h.



Εικόνα 17: Χρήση NADES ως παράγοντα διασύνδεσης για τον σχηματισμό νανοσωματιδίων αλγινικού

- III. Με το πέρας της 1h η διασποράς των νανοσυστημάτων μεταφέρεται σε vial των 20 mL και ακολουθεί χρήση υπερήχων με probe σε 18% της δυναμικότητας του οργάνου για 10 λεπτά συνεχόμενα (10 min).
- IV. Η διασπορά των νανοσυστημάτων αλγινικού αποθηκεύεται στη ψύξη ($T=4^{\circ}\text{C}$) έως ότου παγώσει και στη συνέχεια γίνεται χρήση του vacuum freeze dryer για ξήρανση.

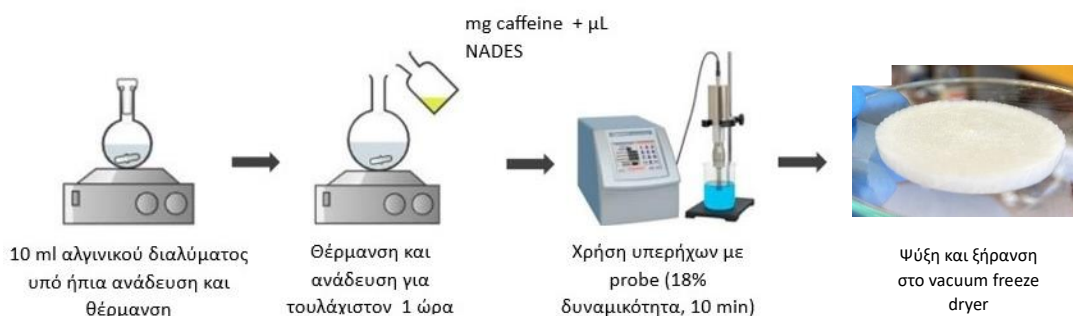


Εικόνα 18: Διασπορά νανοσυστήματος με χρήση NADES Glu:LA ως διαλύτη σε ξηρή μορφή έπειτα από την χρήση του vacuum freeze dryer

Ως προς τις ποσότητες του διαλύτη και της καφεΐνης, αρχικά παρασκευάζονται 3 διασπορές διατηρώντας σταθερή την περιεκτικότητα σε καφεΐνη 10% (4 mg καφεΐνης) και μεταβάλλοντας την περιεκτικότητα του NADES από 0.1% (10 μ L) σε 0.3% (30 μ L) έως 0.5% (50 μ L). Στη συνέχεια, παρασκευάζονται 2 διασπορές διατηρώντας αυτή τη φορά σταθερή την περιεκτικότητα του NADES 0.3% και μεταβάλλοντας την περιεκτικότητα της καφεΐνης σε 20% (8 mg) και 30% (12 mg).

2.4.2 Σύνθεση κενού νανοσυστήματος αλγινικού με χρήση NADES

Τα κενά (blank) νανοσυστήματα αλγινικού είναι αυτά τα νανοσυστήματα που δεν έχουν εγκλωβισμένη καφεΐνη. Η πειραματική διαδικασία της σύνθεσής τους είναι ίδια με αυτή της σύνθεσης των νανοσυστημάτων αλγινικού – καφεΐνης με στάγδην, όμως προσθήκη του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη χωρίς τη διαλυμένη σε αυτόν καφεΐνη.



Σχήμα 3 : Πειραματική διαδικασία σύνθεσης των νανοσυστημάτων αλγινικού με διαλυμένη σε NADES καφεΐνη

Παρατηρήσεις – Σχόλια

- Η καφεΐνη είναι ευδιάλυτη στο νερό και κατ' επέκταση στο φυσικό διαλύτη γλυκόζης – γαλακτικού οξέος. Επομένως, με χρήση του αναδευτήρα τύπου vortex επιτυγχάνεται η πλήρης διαλυτοποίησή της. Ωστόσο, στα συστήματα με αυξημένη περιεκτικότητα καφεΐνης και μειωμένη ποσότητα διαλύτη είναι απαραίτητη η ήπια θέρμανση της, παράλληλα με τη χρήση του αναδευτήρα τύπου vortex.
- Η χρήση των υπερήχων με probe έχει ως στόχο το σπάσιμο των συσσωματωμάτων που προκύπτουν από την προσθήκη του crosslinker, οδηγώντας στη μείωση του μεγέθους των νανοσφαιρών αλγινικού και στην αύξηση της σταθερότητάς τους. Με αυτό το τρόπο επιτυγχάνεται όσο το δυνατόν πιο ομοιόμορφη και σταθερή διασπορά νανοσωματιδίων στο σύστημα του αλγινικού.
- Χρησιμοποιούμε μία συγκεκριμένη δυναμικότητα του οργάνου, καθώς και συγκεκριμένο χρόνο χρήσης του, ανάλογα με τον όγκο των διαλυμάτων και την

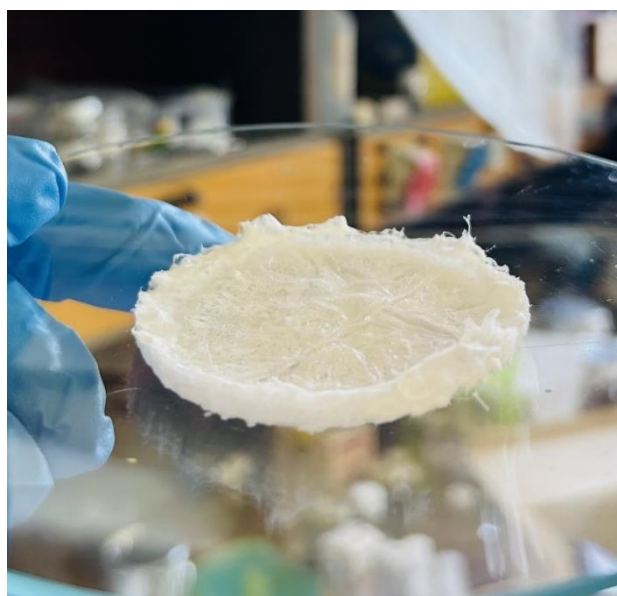
ανάγκη προστασίας του NADES από τον κίνδυνο υποβάθμισής της εξαιτίας των υψηλών θερμοκρασιών που αναπτύσσονται κατά τη μέθοδο των υπερήχων. Γι' αυτό το λόγο, η διασπορά βυθίζεται σε παγόλουτρο κατά τη διάρκεια των υπερήχων με probe.

2.5. Σύνθεση νανοσυστημάτων αλγινικού με χρήση χλωριούχου ασβεστίου (CaCl_2) ως διαλύτη.

Για τη σύνθεση νανοσυστημάτων αλγινικού με εγκλωβισμένη σε χλωριούχο ασβέστιο καφεΐνη πραγματοποιήθηκε μια σειρά 3 πειραμάτων με σταθερή ποσότητα και περιεκτικότητα αλγινικού διαλύματος και υδατικού διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου, μεταβάλλοντας μόνο την περιεκτικότητα της καφεΐνης. (10, 20 και 30 % w/w).

Η πειραματική διαδικασία είναι όμοια με την διαδικασία παρασκευής νανοσυστημάτων αλγινικού με διαλυμένη σε NADES καφεΐνη με τη μόνη διαφορά ότι η κατάλληλη ποσότητα καφεΐνης για το καθένα σύστημα διαλύεται σε 2 mL (0.05% w/v) υδατικού διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου περιεκτικότητας 0.5 mg/mL.

Στη συνέχεια, ακολουθείται η ίδια διαδικασία προσθήκης της διαλυμένης σε χλωριούχο ασβέστιο αυτή τη φορά καφεΐνης, στο ήδη υπό ήπια ανάδευση διάλυμα αλγινικού και ακολουθεί η χρήση υπερήχων με probe στην ίδια δυναμικότητα (18%) και χρόνο (10 min) ώστε η διασπορά στο τέλος να οδηγηθεί προς ψύξη και ξήρανση στο vacuum freeze dryer.



Εικόνα 19: Διασπορά νανοσυστήματος με χρήση του διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου ως διαλύτη σε ξηρή μορφή έπειτα από τη χρήση του vacuum freeze dryer

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι περιεκτικότητες των παραμέτρων για τη σύνθεση νανοσυστημάτων αλγινικού με διαλυμένη σε χλωριούχο ασβέστιο ποσότητα καφεΐνης:

Πίνακας 4: Περιεκτικότητες παραμέτρων για τη σύνθεση νανοσυστημάτων αλγινικού με διαλυμένη σε CaCl₂ ποσότητα καφεΐνης

		10% w/w caffeine
0.4% w/v Al	0.05% w/v CaCl ₂	20% w/w caffeine
		30% w/w caffeine

2.6. Χαρακτηρισμός των νανοσυστημάτων αλγινικού

2.6.1 Προσδιορισμός μεγέθους, κατανομής μεγέθους και ζ-δυναμικού

Ο χαρακτηρισμός τόσο των νανοσυστημάτων αλγινικού-καφεΐνης όσο και των κενών νανοσυστημάτων αλγινικού ως προς το μέγεθος, την κατανομή του μεγέθους (δείκτης πολυδιασποράς -PDI) και το επιφανειακό φορτίο τους (ζ-δυναμικό) γίνεται με χρήση της μεθόδου της δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS).

Η προετοιμασία του προς μέτρηση δείγματος γίνεται ως εξής:

1. Πριν την αποθήκευση σε ψύξη της εκάστοτε διασποράς των νανοσυστημάτων, λαμβάνονται 10 μ L από τη σφαιρική φιάλη και τοποθετούνται σε vial των 30 mL.
2. Προστίθενται στο vial 20 mL υπερκάθαρου νερού για αραιώση.
3. Το περιεχόμενο του vial οδηγείται για ανάδευση σε αναδευτήρα τύπου vortex για περίπου 1 λεπτό και στη συνέχεια για 1-2 λεπτά ακόμα τοποθετείται σε λουτρό υπερήχων.

Για τη μέτρηση στο όργανο του DLS χρησιμοποιείται κυψελίδα τύπου Disposable capillary cell (DTS1070), η οποία και πληρώνεται με σύριγγα με το δείγμα της αραιωμένης υδατικής διασποράς των νανοσωματιδίων μέχρι και την αναγραφόμενη ένδειξη πλήρωσής της. Έπειτα, η κυψελίδα τοποθετείται στο όργανο του DLS, οπότε και λαμβάνονται με χρήση και του λογισμικού του οργάνου οι μετρήσεις για το μέσο μέγεθος (μέση υδροδυναμική διάμετρος) και την κατανομή του μεγέθους (ή δείκτης πολυδιασποράς, PDI), καθώς και για το επιφανειακό φορτίο (ζ – δυναμικό) των παραγόμενων νανοσυστημάτων. Για κάθε μέγεθος πραγματοποιούνται τρεις μετρήσεις με πολλαπλά σκαναρίσματα του δείγματος για την καθεμία. Καταγράφονται και οι τρεις μετρήσεις για κάθε μέγεθος, από τις οποίες εξάγεται ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση για κάθε μέγεθος.

Παρατηρήσεις – Σχόλια

- Η μεγάλη αραίωση του δείγματος της διασποράς των νανοσωματιδίων πραγματοποιείται προκειμένου να επιτευχθεί μεγαλύτερη ομοιομορφία της διασποράς και με αυτό τον τρόπο οι μετρήσεις να είναι όσο το δυνατόν πιο ακριβείς.
- Για την αραίωση των δειγμάτων χρησιμοποιείται υπερκάθαρο νερό καθώς παρουσιάζει πολύ χαμηλή αγωγιμότητα και συνεπώς δεν θα επηρεάσει τις τιμές των μετρήσεων.
- Η χρήση του αναδευτήρα τύπου vortex και του λουτρού υπερήχων έχει ως στόχο το σπάσιμο των συσσωματωμάτων και τη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων προς τη δημιουργία μιας ομοιόμορφης και πιο σταθερής διασποράς. Ωστόσο, όταν αυτό δεν είναι επαρκές είναι πιθανό να γίνει χρήση των υπερήχων με probe ώστε να επιτευχθεί σε μεγαλύτερο βαθμό το σπάσιμο και η μείωση του μεγέθους των νανοσωματιδίων.
- Οι τιμές του δείκτη πολυδιασποράς (PDI) θα πρέπει να είναι μικρότερες της μονάδας, οι τιμές του ζ-δυναμικού να είναι αρνητικές και να προσεγγίζουν τα -30 mV και οι τιμές του μεγέθους να βρίσκονται εντός της ναοκλίμακας, ώστε το πείραμα να χαρακτηριστεί επιτυχές.
- Πριν τη χρήση του οργάνου DLS είναι απαραίτητη η προθέρμανσή του για περίπου 20 λεπτά έως ότου αποκτήσει την επιθυμητή θερμοκρασία περιβάλλοντος, δηλαδή τους 25 °C.

2.6.2. Προσδιορισμός απόδοσης εγκλωβισμού

Η απόδοση εγκλωβισμού (Encapsulation Efficiency, EE) της καφεΐνης στα παραγόμενα νανοσυστήματα αλγινικού υπολογίζεται από το λόγο της ποσότητας που εγκλωβίστηκε προς την αρχική ποσότητα της ένωσης που τοποθετήθηκε προς εγκλωβισμό, μέσω της σχέσης:

$$EE\% = \frac{\text{Μάζα ένωσης που εγκλωβίστηκε (mg)}}{\text{Αρχική μάζα ένωσης προς εγκλωβισμό (mg)}} * 100\% \quad (8)$$

Η απόδοση εγκλωβισμού πέρα από τον άμεσο τρόπο, δηλαδή βάσει της μάζας που κατάφερε να εγκλωβιστεί δύναται να υπολογιστεί και με έμμεσο τρόπο, δηλαδή βάσει τη μάζας που δεν κατάφερε να εγκλωβιστεί. Κατά τον έμμεσο τρόπο, η μέθοδος είναι αποτελεσματική και μη καταστρεπτική για το δείγμα, ωστόσο με τον άμεσο τρόπο μειώνονται τα πειραματικά σφάλματα, καθώς η μέτρηση γίνεται απευθείας στο δείγμα. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, υπολογίστηκε η ποσότητα μάζας που εγκλωβίστηκε, επομένως ο άμεσος τρόπος προσδιορισμού της απόδοσης εγκλωβισμού. Αυτό έγινε με χρήση της φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού (Uv-Vis).

Για την προετοιμασία του δείγματος, παραλαμβάνεται η διασπορά των νανοσυστημάτων, που είχαν τοποθετηθεί για freeze drying, σε ξηρή μορφή (βλ. εικόνα 1) και τοποθετείται μαζί με 20 mL αιθανόλη σε σφαιρική φιάλη των 50 mL (βλ. εικόνα 3) υπό ήπια μαγνητική ανάδευση για τουλάχιστον 2-3 μέρες. Η σφαιρική κλείνεται καλά («σφραγίζεται») για αποφυγή τυχόν φαινομένου εξάτμισης. Μετά το πέρας των 2-3 ημερών λαμβάνονται με τη βοήθεια σύριγγας μερικά mL του δείγματος, τα οποία μέσω φίλτρου των 0.22 μm τοποθετούνται σε vial των 3 mL, από τα οποία παραλαμβάνονται τα κατάλληλα μL δείγματος και με αραιώση σε αιθανόλη τοποθετούνται στην κυψελίδα του φασματομετρικού οργάνου προς μέτρηση της απορρόφησης.

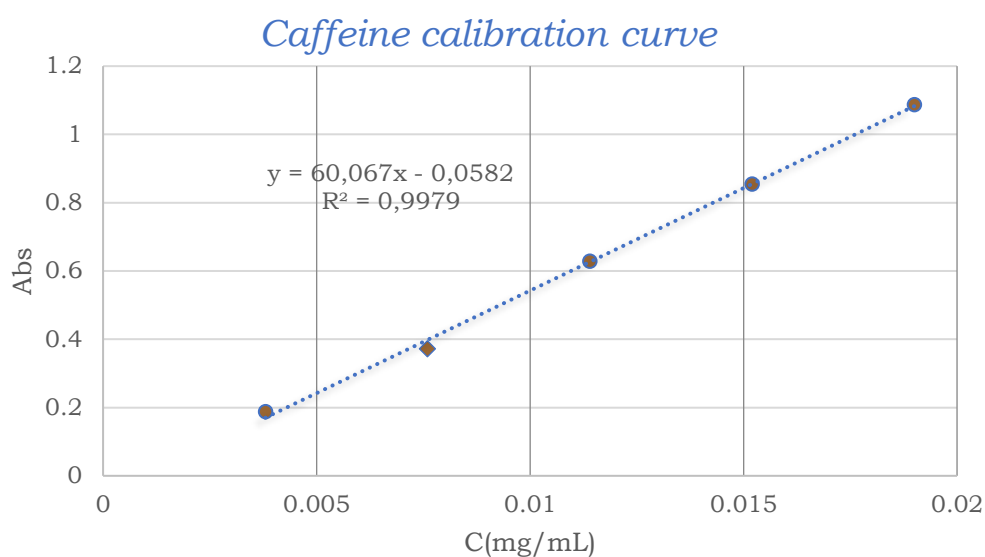


Εικόνα 20: Διασπορά σε ξηρή μορφή τοποθετημένη σε σφαιρική φιάλη των 50 mL με 20 mL αιθανόλη

Στο όργανο, μετριέται η απορρόφηση του δείγματος στο κατάλληλο μήκος κύματος (273 nm), δηλαδή σε αυτό στο οποίο απορροφάει η καφεΐνη. Λαμβάνοντας υπόψιν το πρότυπο διάγραμμα συγκέντρωσης-απορρόφησης της ένωσης, της καφεΐνης δύναται να ποσοτικοποιηθεί η απορρόφηση του δείγματος με χρήση της εξίσωσης ευθείας του πρότυπου διαγράμματος και να υπολογιστεί η ποσότητα της καφεΐνης που εγκλωβίστηκε και κατά συνέπεια η απόδοση εγκλωβισμού.

Παρακάτω παρατίθενται οι απορροφήσεις γνωστών συγκεντρώσεων καφεΐνης και το πρότυπο διάγραμμά τους:

C (mg/mL)	Abs (273 nm)
0.0038	0.170055
0.0076	0.398309
0.0114	0.626564
0.0152	0.854818
0.019	1.083073



Διάγραμμα 1: Πρότυπη καμπύλη αναφοράς της καφεΐνης

Στο διάγραμμα χαράσσεται η βέλτιστη ευθεία βάσει των πειραματικών δεδομένων με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων, η οποία διαθέτει συντελεστή γραμμικής συσχέτισης πολύ κοντά στη μονάδα. Βάσει, λοιπόν, τη γραμμική εξίσωση της ευθείας αυτής δύναται να ποσοτικοποιηθεί η απορρόφηση του εκάστοτε δείγματος στα 273 nm σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\text{Συγκέντρωση καφεΐνης} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{Απορρόφηση} + 0.0582}{60.067} \quad (9)$$

Παρατηρήσεις – Σχόλια

- Οι μετρήσεις απορροφήσεων του φασματοφωτόμετρου UV-Vis θα πρέπει να κυμαίνονται από 0.1 έως 1 ($0.1 < \text{abs} < 1$) για να είναι αξιόπιστες. Για την επίτευξη αυτών των τιμών γίνεται χρήση κυψελίδων πλήρωσης έως 1.4 mL ή 3.5 mL και πραγματοποιούνται οι κατάλληλες αραιώσεις των δειγμάτων.
- Η χρήση της αιθανόλης ως μέσο διασποράς της αποδεσμευμένης καφεΐνης αποσκοπεί στην όσο το δυνατόν καλύτερη διάλυσή της.
- Η συγκέντρωση της καφεΐνης που αποδεσμεύτηκε, η οποία προκύπτει μέσω της πρότυπης εξίσωση αναφοράς και της απορρόφησής της στο κατάλληλο μήκος κύματος, μετατρέπεται σε μάζα μέσω του νόμου αραιώσης του Ostwald ($C_1V_1=C_2V_2$) με βάση την αραιώση του δείγματος που έχει πραγματοποιηθεί σε κάθε περίπτωση. Τέλος, η προκύπτουσα μάζα ανάγεται στη συνολική μάζα των νανοσωματιδίων της εκάστοτε διασποράς.

2.6.3 Μελέτη αποδέσμευσης in vitro

Για τη μελέτη αποδέσμευσης in vitro γίνεται χρήση μεμβράνης διαπήδησης μέσω της οποίας γίνεται σταδιακή αποδέσμευση της ένωσης από τα νανοσυστήματα αλγινικού. Η μεμβράνη, μέσα στην οποία εμπεριέχεται η διασπορά, εμβαπτίζεται σε ποτήρι ζέσεως των 50 mL το οποίο περιέχει διάλυμα buffer με pH=5.5 και αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία ίση με 32°C. Η επιλογή των συγκεκριμένων συνθηκών pH και θερμοκρασίας έγινε με στόχο την προσομοίωση της αποδέσμευσης στις συνθήκες της επιφάνειας του δέρματος, για πιθανή επιδερμική χρήση.

Αρχικά παρασκευάζεται το διάλυμα buffer με pH=5.5 ακολουθώντας την εξής διαδικασία:

1. Σε ποτήρι ζέσεως των 150 mL διαλύονται 1.74 g όξινου φωσφορικού καλίου K_2HPO_4 σε 100 mL υπερκάθαρου νερού, οπότε και παρασκευάζεται το διάλυμα 1 ($\Delta 1$).
2. Σε ποτήρι ζέσεως των 250 mL διαλύονται 2.07 g δισόξινου φωσφορικού καλίου KH_2PO_4 σε 150 mL υπερκάθαρου νερού, οπότε και παρασκευάζεται το διάλυμα 2 ($\Delta 2$).
3. Στο $\Delta 2$ προστίθεται κατάλληλη ποσότητα από το $\Delta 1$ και με συνεχή χρήση του πεχαμέτρου επιτυγχάνεται ο σχηματισμός ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών με pH= 5.5.

Στη συνέχεια, ακολουθεί η διαδικασία προετοιμασίας του δείγματος για τη αποδέσμευση:

1. Παρασκευάζεται νέα διασπορά νανοσυστημάτων αλγινικού με την διαλυμένη σε NADES/ CaCl_2 καφεΐνη και αφήνεται υπό ήπια ανάδευση εντός σφαιρικής φιάλης των 50 mL για τουλάχιστον 1-2 ώρες.
2. Μετά το πέρας της ανάδευσης, η διασπορά μεταφέρεται στη μεμβράνη διαπήδησης, ενώ παράλληλα τοποθετούνται σε ποτήρι ζέσεως των 50 mL, 40 mL του ρυθμιστικού διαλύματος και αφήνονται πάνω σε θερμαινόμενη εστία έως ότου φτάσει στην ζητούμενη θερμοκρασία των 32°C .
3. Στη συνέχεια, η διασπορά των νανοσωματιδίων μεταφέρεται στη μεμβράνη διαπήδησης και ύστερα τοποθετείται εντός του ποτηριού ζέσεως και αφήνεται υπό ανάδευση.
4. Πραγματοποιούνται δειγματοληψίες του 1 mL από το διάλυμα εντός του ποτηριού ζέσεως ανά τακτά χρονικά διαστήματα για τις πρώτες 5 ώρες (20 min, 40 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 5h) και μία ακόμα ύστερα από 24 ώρες με στόχο τον υπολογισμό της συγκέντρωσης και κατά συνέπεια της αποδέσμευσης της καφεΐνης σε κάθε χρονική στιγμή. Ύστερα από κάθε δειγματοληψία προστίθεται στο ποτήρι ζέσεως 1 mL από το διάλυμα φωσφορικών ώστε ο όγκος του περιεχομένου το ποτηριού ζέσεως να παραμείνει σταθερός στα 40 mL.
5. Ακολουθεί η φωτομέτρηση των δειγμάτων των δειγματοληψιών στο φασματοφωτόμετρο UV – Vis και σε εύρος μεταξύ των $400\text{ nm} - 200\text{ nm}$ για την ποσοτικοποίηση της αποδεσμευμένης καφεΐνης. Στην περίπτωση ανάγκης αραίωσης του δείγματος, γίνεται χρήση του διαλύματος φωσφορικών.



Εικόνα 21: Διασπορά νανοσυστημάτων αλγινικού εντός μεμβράνης διαπήδησης υπό ήπια μαγνητική ανάδευση στους 32°C

Το ποσοστό αποδέσμευσης της καφεΐνης από τα νανοσυστήματα αλγινικού υπολογίζεται σύμφωνα με τη σχέση:

$$Release (\%) = \left(\frac{\text{Μάζα ένωσης που αποδεσμεύτηκε}}{\text{Αρχική μάζα εγκλωβισμένης ένωσης}} \right) * 100\% \quad (10)$$

Παρατηρήσεις – Σχόλια

- Η συγκέντρωση της καφεΐνης του δείγματος υπολογίζεται με χρήση της πρότυπης ευθείας αναφοράς της καφεΐνης και μετατρέπεται σε μάζα μέσω του νόμου αραιώσης του Ostwald, βάσει την αραιώση του δείγματος που πραγματοποιήθηκε και το συνολικό όγκο του δείγματος. Στη συνέχεια, η μάζα αυτή ανάγεται στη συνολική μάζα που αποδεσμεύτηκε πολλαπλασιάζοντας με το συνολικό όγκο του ρυθμιστικού διαλύματος, ενώ σε αυτή προστίθεται κάθε φορά και το άθροισμα των μαζών της αποδεσμευμένης καφεΐνης που υπολογίστηκε σε όλες τις προηγούμενες δειγματοληψίες.
- Πειραματικά σφάλματα δύναται να υπάρξουν λόγω της συνεχούς αραιώσης του ρυθμιστικού διαλύματος έπειτα από κάθε δειγματοληψία και γι' αυτό το λόγο προστίθεται κάθε φορά το άθροισμα όλων των μαζών κάθε δειγματοληψίας, για την όσο το δυνατόν γίνεται, μείωσή τους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 Αποτελέσματα μεγέθους, δείκτη πολυδιασποράς (PDI) και ζ-δυναμικού.

3.1.1 Νανοδομημένα με διαλυμένη σε φυσικό βαθέως ευτηκτικό διαλύτη (NADES) καφεΐνη.

Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται τα αποτελέσματα των 3 διασπορών με σταθερή την περιεκτικότητα σε καφεΐνη (10% w/w). Τα αποτελέσματα αποτελούν το μέσο όρο μιας σειράς 3 πειραμάτων για καθένα από τα συστήματα αλγινικού.

Πίνακας 5: Αποτελέσματα οργάνου DLS για δείγματα με σταθερή περιεκτικότητα σε καφεΐνη

AI (%w/v)	NADES (%v/v)	Caffeine (%w/w)	SIZE (nm)	Zeta Potential (mV)	PDI
0.4	0.5	10	260.0±20.6	-26.8±3.5	0.395±0.09
0.4	0.3	10	273.7±55.6	-31.8±3.9	0.364±0.037
0.4	0.1	10	323.2±52.9	-25.5±3.4	0.399±0.016

Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται τα αποτελέσματα των 3 πειραμάτων με σταθερή την περιεκτικότητα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη (0.3% v/v) καθώς και του τέταρτου κενού νανοδομημένου.

Πίνακας 6: Αποτελέσματα οργάνου DLS για δείγματα με σταθερή περιεκτικότητα σε NADES

AI (%w/v)	NADES (%v/v)	Caffeine (%w/w)	SIZE (nm)	Zeta Potential (mV)	PDI
0.4	0.3	10	273.7±55.6	-31.8±3.9	0.364±0.037
0.4	0.3	20	391.6±17.2	-30.4±4.2	0.527±0.04
0.4	0.3	30	356.7±55.6	-31.1±4.0	0.466±0.114
0.4	0.3	-	339.6±7.9	-33.9±2.7	0.438±0.083

Οι τιμές του ζ-δυναμικού είναι οι επιθυμητές, καθώς είναι αρνητικές και παραπλήσιες της τιμής -30 mV , και η τυπική απόκλιση είναι σε αποδεκτό όριο. Αυτή είναι μια ένδειξη σταθερής διασποράς και τα νανοσωματίδια δεν παρουσιάζουν την τάση να συσσωματωθούν.

Επιπλέον, το πείραμα κρίνεται επιτυχές, καθώς οι μέσες τιμές της υδροδυναμικής διαμέτρου όλων των νανοσυστημάτων βρίσκονται στη νανοκλίμακα και οι τιμές του δείκτη πολυδιασποράς αν και δεν είναι οι βέλτιστες, βρίσκονται σε αποδεκτά όρια (<1) με μικρή τιμή τυπικής απόκλισης. Η τιμές αυτές οφείλονται στη ύπαρξη δυο οικογενειών νανοσωματιδίων διαφορετικού μεγέθους, όπως φαίνεται και στα διαγράμματα που ακολουθούν. Η μικρή οικογένεια, η οποία δεν βρίσκεται στην νανοκλίμακα οφείλεται σε πιθανά συσσωματωμένα σωματίδια. Για την μείωση αυτού σε διασπορές στις οποίες παρατηρήθηκε μεγάλο ποσοστό συσσωματωμένων σωματιδίων, πραγματοποιήθηκε δεύτερη μέτρηση του δείγματος στο όργανο του DLS. Αυτή τη φορά όμως έγινε επιπλέον χρήση υπερήχων με probe, αντί του λουτρού υπερήχων, για 4 λεπτά με 30% δυναμικότητα. Με αυτό τον τρόπο, παρατηρήθηκε σαφής μείωση των συσσωματωμένων σωματιδίων, καθώς και μειωμένη τάση συσσωμάτωσης, γεγονός που αποτυπώνεται στην περαιτέρω μείωση και τις τιμές του ζ-δυναμικού.

Όσον αφορά στα κενά νανοσωματίδια αλγινικού (Blank) παρουσιάζουν σταθερή κατανομή μεγέθους γύρω τα 340 nm . Επίσης παρουσιάζουν παραπλήσια της επιθυμητής τιμής ζ-δυναμικού και αποδεκτή τιμή δείκτη πολυδιασποράς ($\text{PDI}<0.5$), το οποίο υποδηλώνει σταθερή διασπορά με μειωμένη τάση συσσωμάτωσης.

Συγκρίνοντας τα δείγματα με σταθερή περιεκτικότητα σε καφεΐνη, παρατηρούμε ότι με μικρή απόκλιση μεταξύ των τιμών, σταθερότερη διασπορά εμφανίζει το σύστημα με την καφεΐνη διαλυμένη σε $30 \mu\text{L NADES}$ ($0.3\% \text{ v/v}$). Η τιμή του ζ-δυναμικού στο νανοςύστημα αυτό (-31.8 mV) είναι πιο ικανοποιητική και πλησιέστερη στην επιθυμητή τιμή των -30 mV , υποδηλώνοντας πιο σταθερή διασπορά και μειωμένη τάση συσσωμάτωσης των νανοσωματιδίων.

Η ίδια διασπορά εμφανίζει τα καλύτερα αποτελέσματα συγκρίνοντας και τα δείγματα με τις διαφορετικές περιεκτικότητες καφεΐνης διαλυμένες σε ίση ποσότητα φυσικού διαλύτη NADES ($0.3\% \text{ v/v}$). Παρατηρούμε ότι αυξημένη ποσότητα διαλυμένης καφεΐνης οδηγεί σε αυξημένη τιμή του δείκτη πολυδιασποράς PDI, χωρίς, επομένως σε λιγότερο σταθερή διασπορά νανοσωματιδίων, καθώς και σε οριακά αυξημένη τάση συσσωμάτωσης των σωματιδίων. Επιπλέον, για τα δείγματα με αυξημένη ποσότητα καφεΐνης αποδείχθηκε απαραίτητη η χρήση υπερήχων με probe πριν τη μέτρηση.

3.1.2 Νανοσυστήματα με διαλυμένη σε χλωριούχο ασβέστιο (CaCl₂) καφεΐνη.

Η κατάλληλη ποσότητα καφεΐνης διαλύεται σε 0.05% w/v διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου, επομένως σε 2 mL του διαλύματος. Η ποσότητα αυτή του διαλύτη παραμένει σταθερή και δεν υπάρχουν συγκρίσιμα δεδομένα μεταβαλλόμενης περιεκτικότητας διαλύτη και σταθερής περιεκτικότητας καφεΐνης, καθώς δεν αποτελεί τόσο σημαντικό παράγοντα ικανότητας διάλυσης της ουσίας όσο η ποσότητα του NADES.

Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται τα αποτελέσματα των 3 διασπορών με σταθερή την περιεκτικότητα σε χλωριούχο ασβέστιο. Τα αποτελέσματα αποτελούν το μέσο όρο μιας σειράς 2 πειραμάτων για καθένα από τα συστήματα αλγινικού.

Πίνακας 7: Αποτελέσματα οργάνου DLS για δείγματα με σταθερή περιεκτικότητα σε διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου

Al (%w/v)	CaCl₂ (%w/v)	Caffeine (%w/w)	SIZE (nm)	Zeta Potential (mV)	PDI
0.4	0.05	10	255.5±47.6	-59.9±0.3	0.397±0.076
0.4	0.05	20	2537.5	-21.9±3.2	0.816±0.073
0.4	0.05	30	448.9±43.8	-25.2±1.9	0.555±0.065

Πριν τη μέτρηση των δειγμάτων έγινε προετοιμασία με χρήση των υπερήχων με probe. Η προετοιμασία αυτή κρίθηκε απαραίτητη για την όσο το δυνατόν μείωση της συσσωμάτωσης των σωματιδίων και επομένως καλύτερη μέτρηση του δείκτη πολυδιασποράς και του ζ-δυναμικού.

Οι τιμές του ζ- δυναμικού είναι αποδεκτές και για τα 3 δείγματα διασπορών, ωστόσο για τα δυο με την αυξημένη ποσότητα καφεΐνης υπάρχει μια αρνητική απόκλιση από την επιθυμητή τιμή των -30mV, το οποίο υποδηλώνει μια πιθανά αυξημένη τάση συσσωμάτωσης.

Οι τιμές του δείκτη πολυδιασποράς PDI είναι επίσης εντός των αποδεκτών ορίων (<1), ωστόσο ξανά οι διασπορές με την αυξημένη ποσότητα καφεΐνης παρουσιάζουν μια αρκετά αυξημένη τιμή του (έως 0.816), γεγονός που δεν είχε παρατηρηθεί σε κανένα δείγμα οποιασδήποτε περιεκτικότητας καφεΐνης και διαλύτη με χρήση του NADES.

Τέλος, οι τιμές του μεγέθους των νανοσυστημάτων χαμηλής και υψηλής τιμής περιεκτικότητας καφεΐνης (10% και 30% w/w) βρίσκονται εντός της νανοκλίμακας,

καθιστώντας το πείραμα επιτυχές. Ωστόσο, όσον αφορά στο νανοσύστημα με την ενδιάμεση τιμή περιεκτικότητας καφεΐνης (20% w/w) οι τιμές των περισσότερων μετρήσεων ξεπερνούσαν των ορίων της νανοκλίμακας, καθώς παρουσιάζονταν 3 οικογένειες σωματιδίων, γεγονός που επιβεβαιώνεται και με την αυξημένη τιμή του δείκτη πολυδιασποράς, οι δύο εκ των οποίων είχαν αυξημένη τιμή μεγέθους επηρεάζοντας έτσι το αποτέλεσμα.

Συμπερασματικά, με βάση τα αποτελέσματα σταθερότερη διασπορά με αρκετή διαφορά παρουσιάζει το νανοσύστημα με τη χαμηλότερη ποσότητα καφεΐνης (10% w/w), όπως επίσης και κατά πολύ μειωμένη τάση συσσωμάτωσης. Όσον αφορά τα νανοσυστήματα με 20% και 30% περιεκτικότητα σε καφεΐνη, και βάσει προηγούμενων αποτελεσμάτων το αναμενόμενο θα ήταν λιγότερη σταθερή διασπορά να παρουσιάζει το δεύτερο, καθώς είναι πιο δύσκολο να επιτευχθεί σταθερότητα με τόσο αυξημένη ποσότητα διαλυμένης ουσίας σε σταθερή ποσότητα διαλύτη. Ωστόσο, τα αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται είτε σε μη επαρκή προετοιμασία του δείγματος, είτε πιο πιθανά σε εμφάνιση μιας επιπλέον οικογένειας συσσωματωμένων σωματιδίων, η οποία επηρέασε το συνολικό αποτέλεσμα μέτρησης της διασποράς.

3.1.3 Σύγκριση νανοσυστημάτων αλγινικού με διαλύτη NADES/CaCl₂

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συγκριτικά τα αποτελέσματα του οργάνου DLS για τα δύο βέλτιστα πειράματα με ίδια ποσότητα διαλυμένης καφεΐνης σε φυσικό βαθώς ευτηκτικό διαλύτη NADES και σε αιθανόλη που προστέθηκε σε υδατικό διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου:

Πίνακας 8: Αποτελέσματα οργάνου DLS για δείγματα με σταθερή περιεκτικότητα σε καφεΐνη και χρήση διαφορετικού διαλύτη

AI (%w/v)	NADES (%v/v)	CaCl₂ (%w/v)	Caffeine (%w/w)	SIZE (nm)	Zeta Potential (mV)	PDI
0.4	0	0.05	10	255.5±47.6	-59.9±0.3	0.397±0.076
0.4	0.3	0	10	273.7±55.6	-31.8±3.9	0.363±0.037

Συγκρίνοντας τις δύο βέλτιστες διασπορές νανοσυστημάτων, οι οποίες και οι δύο αποτελούν αυτές με τη χαμηλή περιεκτικότητα σε καφεΐνη, δεν παρατηρείται σημαντική διαφορά. Οι τιμές του δείκτη πολυδιασποράς PDI είναι παραπλήσιες. Επομένως, δεν προκύπτει κάποιο συμπέρασμα σταθερότερης διασποράς για κανένα από τα δυο νανοσυστήματα. Όσον αφορά την τιμή του ζ-δυναμικού, η χρήση του χλωριούχου ασβεστίου οδήγησε σε μια εξαιρετικά μειωμένη τιμή τάξης διπλάσιας της επιθυμητής των -30mV . Ωστόσο, δεν προκύπτει ούτε εδώ κάποιο συμπέρασμα περί μειωμένης τάσης συσσωμάτωσης, καθώς και η τιμή των -31.8mV που οδήγησε η χρήση του NADES είναι παραπλήσια της επιθυμητής. Τέλος, οι τιμές του μεγέθους των σωματιδίων και στα δύο νανοσυστήματα είναι εντός της νανοκλίμακας, καθιστώντας τα πειράματα επιτυχή, πάλι χωρίς να παρατηρείται διαφορά. Επομένως, αναφορικά με το μέγεθος και την κατανομή του μεγέθους και το δείκτη πολυδιασποράς, ο διαλύτης της καφεΐνης δεν επιφέρει σημαντικές αλλαγές στο αποτέλεσμα. Συμπεραίνεται, λοιπόν, πως η χρήση ενός πράσινου διαλύτη (NADES), εν προκειμένω, η χρήση του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη γλυκόζης (Glu)-γαλακτικού οξέος (LA), είναι εφικτό να οδηγήσει στο σχηματισμό νανοσυστημάτων με παρόμοιες φυσικοχημικές ιδιότητες, όπως αυτά που σχηματίζονται με συμβατικούς διαλύτες, όπως το διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου, καθιστώντας τη διαδικασία παρασκευής των νανοσυστημάτων προς εγκλεισμό της ουσίας καφεΐνη, το ίδιο αποτελεσματική και λιγότερο τοξική και επιβλαβή.

3.2 Αποτελέσματα αποδόσεων εγκλεισμού

Για τον υπολογισμό της απόδοσης εγκλωβισμού έγινε αρχικά χρήση της πρότυπης καμπύλης αναφοράς της καφεΐνης για τον υπολογισμό της συγκέντρωσής της σε καθένα από τα νανοσυστήματα, με χρήση της εξίσωσης (2). Στη συνέχεια υπολογίστηκε η απόδοση εγκλωβισμού και η τιμή που λαμβάνεται για το καθένα αποτελεί τον μέσο όρο των αποδόσεων δύο σειρών πειραμάτων.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των αποδόσεων εγκλωβισμού και της ποσότητας καφεΐνης που κατάφερε να εγκλωβιστεί για τα νανοσυστήματα με σταθερή περιεκτικότητα καφεΐνης (10 % w/w), διαλυμένη σε περιεκτικότητες NADES 0.1, 0.3 και 0.5 % v/v:

Πίνακας 9: Αποτελέσματα αποδόσεων εγκλωβισμού σε συστήματα με σταθερής περιεκτικότητας καφεΐνη διαλυμένη σε NADES

AI (%w/v)	NADES (%v/v)	Caffeine (%w/w)	EE (%)	Caffeine (mg) αρχικά	Caffeine (mg) τελικά
0.4	0.5	10	57.38	4	2.3
0.4	0.3	10	73.20	4	2.93
0.4	0.1	10	63.20	4	2.53

Βάσει του παραπάνω πίνακα, συγκρίνοντας τα νανοσυστήματα που συντέθηκαν με χρήση σταθερής περιεκτικότητας της διαλυμένης ουσίας, δηλαδή της καφεΐνης, δεν προκύπτει αναλογική σχέση. Δεν προκύπτει, δηλαδή το συμπέρασμα πως χαμηλότερη ή υψηλότερη περιεκτικότητα σε NADES οδηγεί σε χαμηλότερη ή υψηλότερη απόδοση εγκλωβισμού. Η υψηλότερη απόδοση παρατηρείται στο νανοσύστημα ενδιάμεσης περιεκτικότητας του διαλύτη. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι υψηλότερη περιεκτικότητα διαλύτη, ενώ πιθανά οδηγεί σε καλύτερη διάλυση της ουσίας, αδυνατεί να τη συγκρατήσει και να δημιουργήσει σταθερή και ομοιόμορφη διασπορά. Αντίθετα, χαμηλή περιεκτικότητα διαλύτη δεν επαρκεί για τη δέσμευση μεγάλης ποσότητας της διαλυμένης ουσίας με αποτέλεσμα τη μείωση της ποσότητας της διαλυμένης καφεΐνης και κατ' επέκταση τη μείωση της απόδοσης εγκλωβισμού.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των αποδόσεων εγκλωβισμού και της ποσότητας καφεΐνης που κατάφερε να εγκλωβιστεί για τα νανοσυστήματα με μεταβαλλόμενη τιμή περιεκτικότητας καφεΐνης (10, 20 και 30 % w/w), διαλυμένη σε σταθερή περιεκτικότητα NADES 0.3 % v/v:

Πίνακας 10: Αποτελέσματα αποδόσεων εγκλωβισμού σε συστήματα με καφεΐνη διαλυμένη σε σταθερής περιεκτικότητας NADES

AI (%w/v)	NADES (%v/v)	Caffeine (%w/w)	EE (%)	Caffeine (mg) αρχικά	Caffeine (mg) τελικά
0.4	0.3	10	73.20	4	2.93
0.4	0.3	20	66.59	8	5.32
0.4	0.3	30	58.90	12	7.07

Βάσει του παραπάνω πίνακα, συγκρίνοντας τα νανοσυστήματα που συντέθηκαν διατηρώντας σταθερή την περιεκτικότητα του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη NADES, προκύπτει ότι χαμηλότερη περιεκτικότητα καφεΐνης, οδηγεί σε υψηλότερες αποδόσεις εγκλωβισμού. Αυτό, πιθανά οφείλεται στο γεγονός ότι μικρότερη ποσότητα διαλυμένης ουσίας είναι πιο εύκολο να δεσμευτεί και να δημιουργηθούν νανοσωματίδια, οδηγώντας έτσι, όπως παρατηρήθηκε, σε πιο σταθερές διασπορές με

μειωμένη τάση συσσωμάτωσης. Ωστόσο, είναι σημαντικό να σημειωθεί πως αυτό το συμπέρασμα προκύπτει για τις συγκεκριμένες αναλογίες διαλύτη – διαλυμένης ουσίας. Δεν εξάγεται το συμπέρασμα πως όσο υψηλότερη ποσότητα διαλύτη τόσο υψηλότερη τιμή απόδοσης εγκλωβισμού, καθώς όπως παρατηρήθηκε και μέσω των συγκρίσεων των νανοσυστημάτων σταθερής περιεκτικότητας καφεΐνης, η περαιτέρω αύξηση της περιεκτικότητας του διαλύτη οδήγησε σε μείωση της απόδοσης εγκλωβισμού της ουσίας, καθώς όπως προαναφέρθηκε, είναι πιθανό αυξημένη ποσότητα του διαλύτη να αδυνατεί να συγκρατήσει την ουσία ομοιόμορφα δημιουργώντας μια σταθερή διασπορά. Επομένως, το συμπέρασμα που προκύπτει είναι ότι σημαντικό παράγοντα αποτελεί η αναλογία του διαλύτη και της διαλυμένης ουσίας και όχι η περιεκτικότητές τους αυτές καθαυτές.

Συνεπώς, βάσει και των δύο συγκρίσεων, σταθερής περιεκτικότητας διαλύτη και σταθερής περιεκτικότητας διαλυμένης ουσίας, υψηλότερη απόδοση εγκλωβισμού εμφανίζει το νανοςύστημα που συντέθηκε με τη χαμηλότερη ποσότητα καφεΐνης (4 mg) περιεκτικότητας 10% w/w, διαλυμένη σε ενδιάμεση ποσότητα NADES (30μL) περιεκτικότητας 0.3% v/v.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των αποδόσεων εγκλωβισμού των νανοσυστημάτων αλγινικού με μεταβαλλόμενη περιεκτικότητα καφεΐνης διαλυμένη σε σταθερή περιεκτικότητα (0.05 % w/v) διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου:

Πίνακας 11: Αποτελέσματα αποδόσεων εγκλωβισμού σε συστήματα με καφεΐνη διαλυμένη σε σταθερής περιεκτικότητας διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου

Al (%w/v)	CaCl₂ (%w/v)	Caffeine (%w/w)	EE (%)	Caffeine (mg) αρχικά	Caffeine (mg) τελικά
0.4	0.05	10	66.90	4	2.68
0.4	0.05	20	70.09	8	5.61
0.4	0.05	30	68.80	12	8.26

Βάσει τον παραπάνω πίνακα, συγκρίνοντας τις αποδόσεις εγκλωβισμού των νανοσυστημάτων αλγινικού με τη διαλυμένη σε διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου καφεΐνη, δεν προκύπτει κάποιο ικανοποιητικό συμπέρασμα όσον αφορά στην ποσότητα της καφεΐνης που εγκλωβίστηκε. Υψηλότερη απόδοση εγκλωβισμού εμφανίζει το σύστημα με την ενδιάμεση τιμή περιεκτικότητας της ουσίας (20%w/w) χωρίς, όμως, σημαντική διαφορά. Οι αποδόσεις εγκλωβισμού και των 3 νανοσυστημάτων αλγινικού παρουσιάζουν παραπλήσιες μεταξύ τους τιμές.

Δεν εξάγεται, επομένως, κάποιο συμπέρασμα σχετικά με την αποδοτικότητα της τιμής περιεκτικότητας του διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου ως διαλύτη της ουσίας. Ωστόσο, θα λάβουμε υπόψη την τιμή της απόδοσης του ναοσυστήματος με τη χαμηλή περιεκτικότητα σε καφεΐνη (10% w/w), με στόχο τη σύγκρισή της με την αντίστοιχη τιμή απόδοσης εγκλωβισμού του ναοσυστήματος με της χαμηλής περιεκτικότητας καφεΐνη διαλυμένη στο φυσικό διαλύτη NADES, η οποία αποτελεί βάσει των πειραματικών παρατηρήσεων το βέλτιστο ναοσύστημα. Στον παρακάτω πίνακα, λοιπόν, παρουσιάζονται συγκριτικά τα αποτελέσματα των δύο αυτών ναοσυστημάτων:

Πίνακας 12: Αποτελέσματα αποδόσεων εγκλωβισμού σε συστήματα με καφεΐνη σταθερής περιεκτικότητας διαλυμένη σε NADES και CaCl₂

Al (%w/v)	CaCl₂ (%w/v)	NADES (%v/v)	Caffeine (%w/w)	EE (%)	Caffeine (mg) αρχικά	Caffeine (mg) τελικά
0.4	0	0.3	10	73.20	4	2.93
0.4	0.05	0	10	66.90	4	2.68

Προκύπτει πως για την ίδια ποσότητα καφεΐνης επιτυγχάνεται υψηλότερο ποσοστό εγκλωβισμού της στο ναοσύστημα αλγινικού όταν ως διαλύτης χρησιμοποιείται το NADES, το οποίο είναι και το επιθυμητό αποτέλεσμα.

Συμπεραίνεται, λοιπόν, πως με χρήση ενός πράσινου διαλύτη NADES, στην συγκεκριμένη περίπτωση με χρήση του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη γλυκόζης (Glu)- γαλακτικού οξέος (LA), όχι μόνο επιτυγχάνεται ικανοποιητική τιμή απόδοσης εγκλωβισμού της καφεΐνης, όσο με χρήση ως διαλύτη το διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου, αλλά ειδικά στην περίπτωση του βέλτιστου, βάσει των πειραματικών παρατηρήσεων, ναοσυστήματος (10% w/w καφεΐνη διαλυμένη σε 0.3% NADES) επιτυγχάνεται ακόμα υψηλότερη τιμή απόδοσης εγκλωβισμού. Παρουσιάζεται, λοιπόν, η δυνατότητα αντικατάστασης ενός συμβατικού διαλύτη, εν προκειμένω, του διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου, από έναν πράσινο, δηλαδή μη τοξικό και πιο φιλικό προς το περιβάλλον, διαλύτη.

3.3 Μελέτη αποδέσμευσης in vitro της καφεΐνης

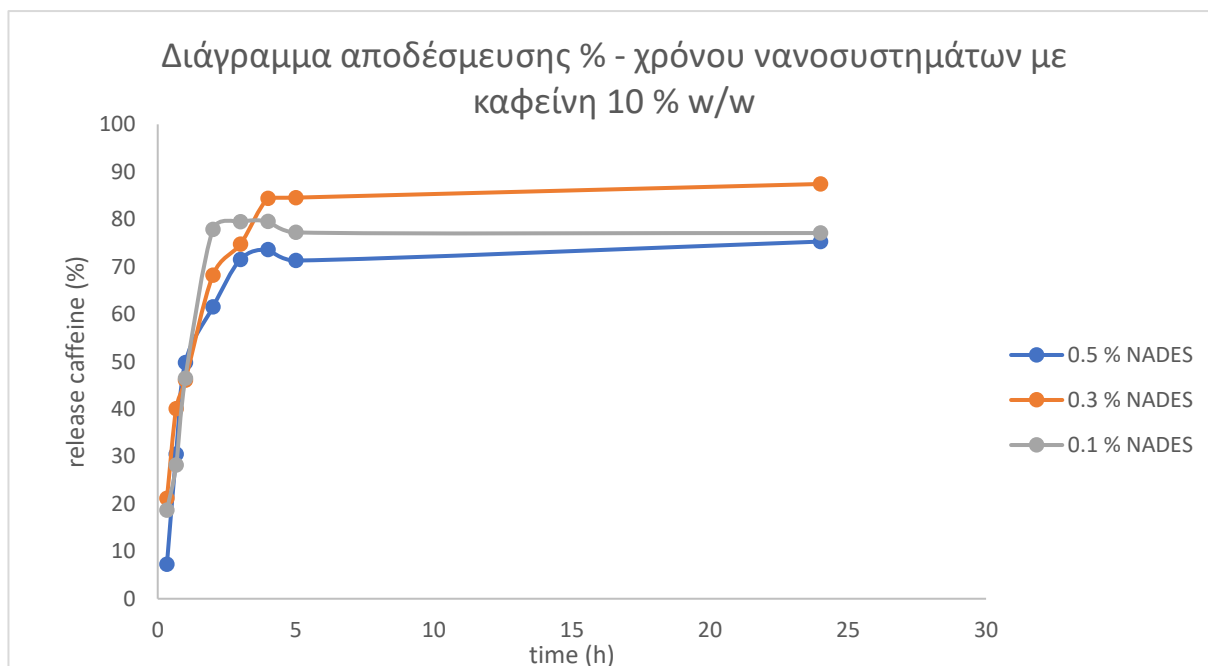
Για τη μελέτη αποδέσμευσης in vitro της καφεΐνης από τα παραγόμενα νανοσυστήματα αλγινικού χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της μεμβράνης διαπήδησης, σε συνθήκες $T=32^{\circ}\text{C}$ και $\text{pH}=5.5$ για την προσομοίωση της τεχνικής σε στις συνθήκες της επιφάνειας του δέρματος για πιθανή επιδερμική χρήση.

Τα δείγματα που λήφθηκαν από το ρυθμιστικό διάλυμα (buffer) ήταν συχνά έως τις 5 ώρες ανάδευση των νανοσυστημάτων και ένα δείγμα μετά το πέρας του πρώτου 24ώρου. Ωστόσο, τα πιο αξιόπιστα δείγματα αφορούν στην αποδέσμευση της ουσίας έως τις 4 ώρες, καθώς οι συνεχείς αραιώσεις του ρυθμιστικού διαλύματος, και κυρίως, η εξάτμιση του διαλύματος του buffer είναι πιθανό να οδηγήσουν σε αναξιόπιστα αποτελέσματα.

3.3.1 Διαγράμματα αποδέσμευσης (%) – χρόνου (h)

3.3.1.1 Νανοσυστήματα με σταθερή περιεκτικότητα καφεΐνη και μεταβαλλόμενη περιεκτικότητα NADES.

Παρακάτω, παρουσιάζονται τα διαγράμματα αποδέσμευσης % της καφεΐνης σε σχέση με το χρόνο για καθένα από τα νανοσυστήματα αλγινικού με σταθερής περιεκτικότητας (10% w/w) καφεΐνη διαλυμένη σε διάφορες τιμές περιεκτικότητας NADES.



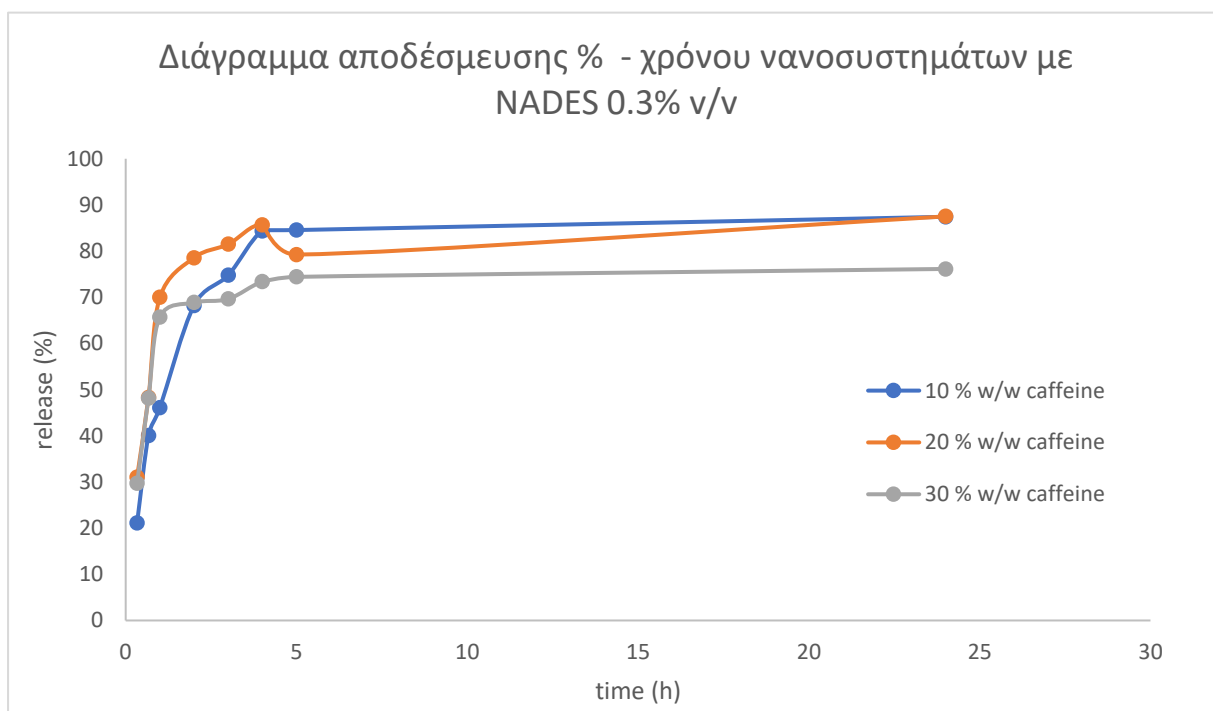
Διάγραμμα 2: Προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης περιεκτικότητας 10% w/w από τα νανοσυστήματα αλγινικού με χρήση διαλύτη NADES περιεκτικότητας 0.1, 0.3 και 0.5 % v/v σε $\text{pH}=5.5$ και $T=32^{\circ}\text{C}$

Σύμφωνα με το παραπάνω προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης για τα 3 νανοσυστήματα αλγινικού, στα οποία μεταβάλλεται η περιεκτικότητα του NADES, παρατηρείται ότι γίνεται μια απότομη αποδέσμευση της ουσίας έως και τις 5 ώρες («Burst effect») και στη συνέχεια σταδιακά το ποσοστό αρχίζει να σταθεροποιείται σχηματίζοντας ένα «plateau».

Συγκρίνοντας τα 3 νανοσυστήματα αλγινικού παρατηρείται ότι το νανοσύστημα με τη διαλυμένη ουσία σε NADES περιεκτικότητας 0.3 % v/v παρουσιάζει το πιο υψηλό ποσοστό αποδέσμευσης, δηλαδή 87.2%. Λαμβάνοντας υπόψιν ότι αποτελεί και το νανοσύστημα με την υψηλότερη τιμή απόδοσης εγκλωβισμού, αποτελεί το βέλτιστο μεταξύ των τριών. Επομένως, η ενδιάμεση τιμή περιεκτικότητας 0.3 %v/v NADES υπερτερεί σε σχέση με κάποια υψηλότερη (0.5% v/v) ή χαμηλότερη (0.1% v/v), αφενός γιατί η πρώτη παρουσιάζει πιθανά μια δυσκολία στη δημιουργία ομοιόμορφης διασποράς και αφετέρου γιατί η τελευταία αδυνατεί να εγκλωβίσει το ίδιο ποσοστό διαλυμένης ουσίας όσο η βέλτιστη.

3.3.1.2 Νανοσυστήματα με σταθερή περιεκτικότητα NADES και μεταβαλλόμενη περιεκτικότητα καφεΐνης.

Παρακάτω, παρουσιάζονται τα διαγράμματα αποδέσμευσης % της καφεΐνης σε σχέση με το χρόνο για καθένα από τα νανοσυστήματα αλγινικού με διαλυμένη σε διάφορες τιμές περιεκτικότητας καφεΐνη σε σταθερή τιμή περιεκτικότητας NADES.



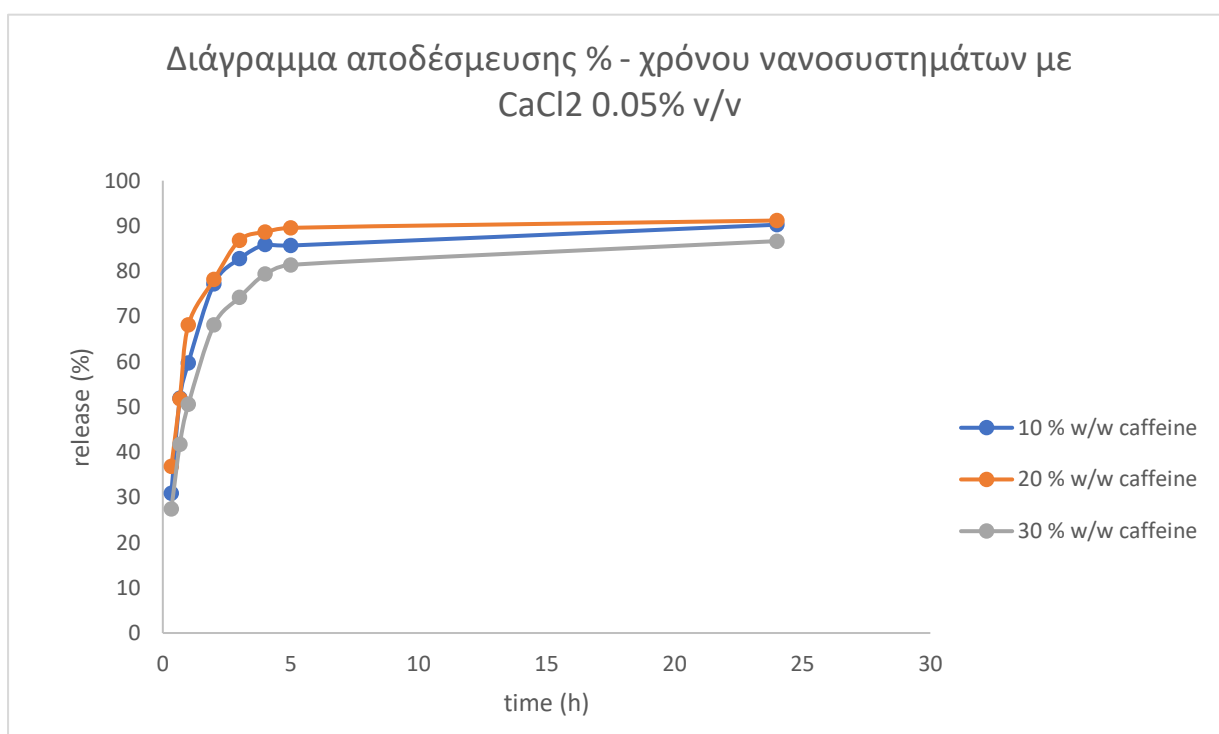
Διάγραμμα 3: Προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης περιεκτικότητας 10, 20 και 30% w/w από τα νανοσυστήματα αλγινικού με χρήση διαλύτη NADES περιεκτικότητας 0.3 % v/v σε pH=5.5 και T=32°C

Όπως και στο προφίλ αποδέσμευσης του διαγράμματος 1, και εδώ παρατηρείται μια απότομη αποδέσμευση της ουσίας μέχρι τις 5 πρώτες ώρες («Burst effect») και στη συνέχεια σταδιακά σταθεροποιείται σχηματίζοντας ένα «plateau». Επίσης, παρατηρείται το ίδιο φαινόμενο μείωσης του ποσοστού αποδέσμευσης σε ένα από τα δείγματα του ναοσυστήματος με την 20 % w/w διαλυμένη καφεΐνη, το οποίο πιθανά οφείλεται στα ίδια σφάλματα μέτρησης. Ωστόσο, το ίδιο αυτό ναοσύστημα παρουσιάζει ένα από τα υψηλότερα ποσοστά αποδέσμευσης της καφεΐνης (87.5%).

Συγκρίνοντας, λοιπόν, τα τρία ναοσυστήματα σταθερής περιεκτικότητας του βαθέως ευτηκτικού διαλύτη προκύπτει ότι την υψηλότερη τιμή αποδέσμευσης της καφεΐνης παρουσιάζουν αυτά με 10 και 20 % w/w καφεΐνη, δηλαδή 87.2 και 87.5 % αντίστοιχα. Επομένως, η πολύ αυξημένη ποσότητα καφεΐνης οδηγεί σε μειωμένη απόδοση εγκλωβισμού και κατ' επέκταση σε μειωμένο ποσοστό αποδέσμευσης.

3.3.1.3 Ναοσυστήματα με μεταβαλλόμενη περιεκτικότητα καφεΐνη διαλυμένη σε σταθερή ποσότητα διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου (CaCl_2).

Στο παρακάτω διάγραμμα παρουσιάζεται το προφίλ αποδέσμευσης τριών ναοσυστημάτων αλγινικού με μεταβαλλόμενη τιμή περιεκτικότητας καφεΐνης διαλυμένη σε σταθερή ποσότητα διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου περιεκτικότητας 0.05 % w/v.



Διάγραμμα 4: Προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης περιεκτικότητας 10, 20 και 30% w/w από τα ναοσυστήματα αλγινικού με χρήση διαλύτη CaCl_2 περιεκτικότητας 0.05 % w/v σε pH=5.5 και T=32°C

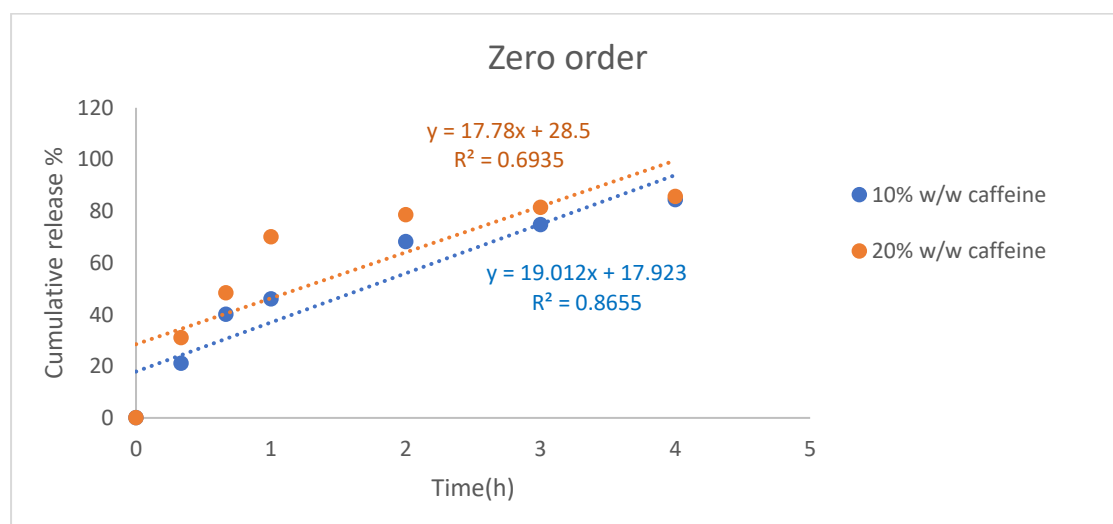
Σύμφωνα, λοιπόν, με το προφίλ αποδέσμευσης του διαγράμματος 3, παρατηρείται ότι γίνεται και στα 3 νανοσυστήματα μια απότομη αύξηση του ποσοστού αποδέσμευσης της ουσίας («burst effect») έως το μισό της τιμής της μέγιστης από τα πρώτα 40 λεπτά της ανάδευσης. Αυτό, υποδηλώνει την αδυναμία συγκράτησης της ουσίας με στόχο τη σταδιακή αποδέσμευσή της, το προφίλ της οποίας αποκτά ένα είδος «plateau» από τις 3 πρώτες ώρες, ειδικά στα νανοσυστήματα διαλυμένης καφεΐνης 10 και 20% w/w.

Όσον αφορά τα 3 νανοσυστήματα, συγκρίνοντάς τα μεταξύ τους δεν προκύπτει κάποιο συμπέρασμα βέλτιστου καθώς παρουσιάζουν παρόμοιο προφίλ αποδέσμευσης και σχετικά κοντινές μέγιστες τιμές ποσοστού αποδέσμευσης (~88%). Ωστόσο, σημειώνεται πως τη χαμηλότερη την επιτυγχάνει το νανοσύστημα με τη μέγιστη ποσότητα καφεΐνης, 86% και την υψηλότερη το νανοσύστημα με την ενδιάμεση ποσότητα καφεΐνης, 89%.

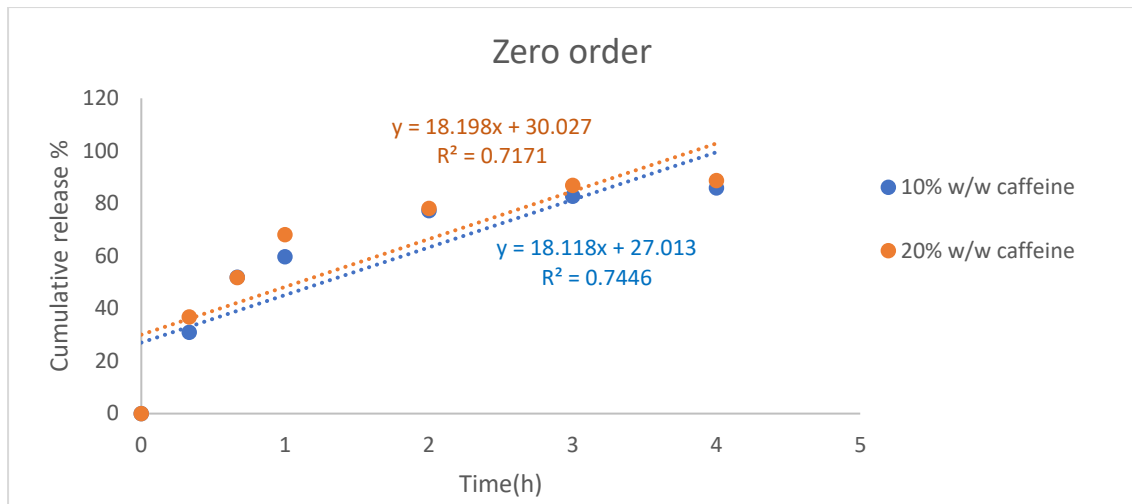
3.3.2 Κινητικά μοντέλα

Ακολουθώς, παρατίθενται τα κινητικά μοντέλα μηδενικής και πρώτης τάξης, το κινητικό μοντέλο Higuchi, και το ημι-εμπειρικό κινητικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas για τα νανοσυστήματα αλγινικού με εγκλωβισμένη ποσότητα καφεΐνης 10 και 20% w/w με χρήση διαλύτη NADES περιεκτικότητας 0.3% v/v ή διαλύτη το διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου περιεκτικότητας 0.05% w/v. (Τα κινητικά μοντέλα όλων των παραγόμενων νανοσυστημάτων παρατίθενται στο παράρτημα.)

Κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης



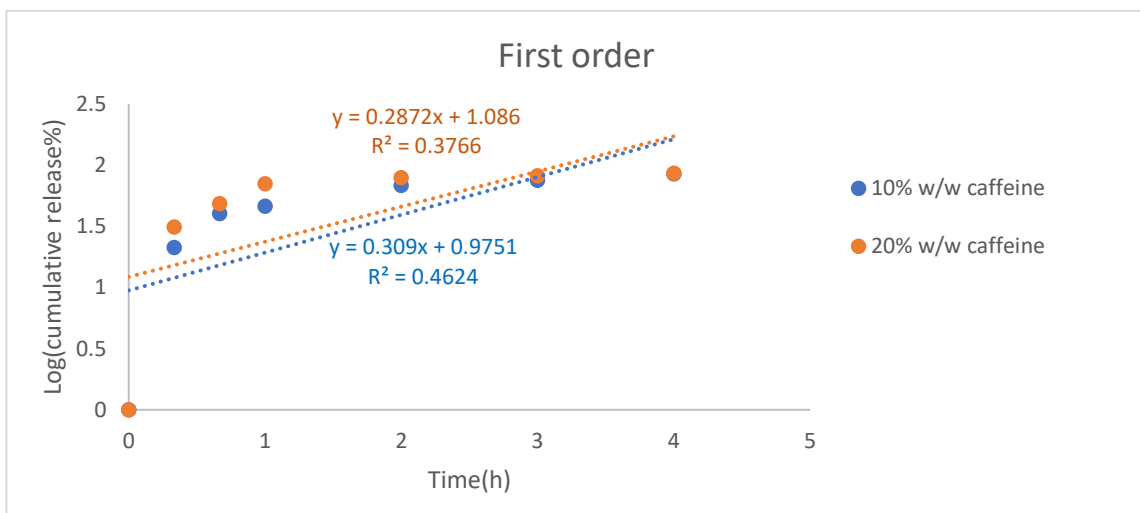
Διάγραμμα 5: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% και 20% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.3% v/v) στο κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης



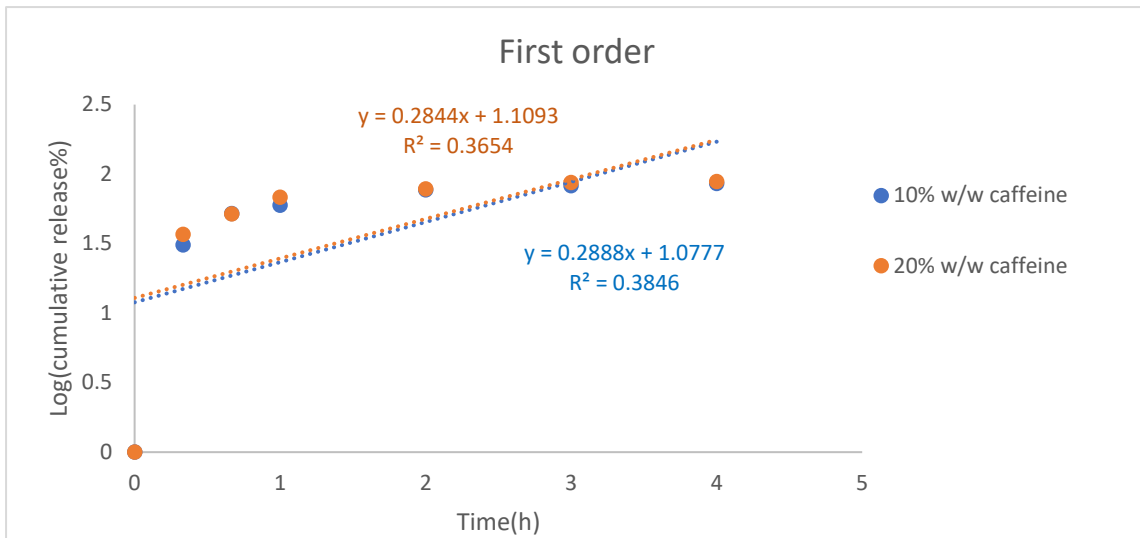
Διάγραμμα 6: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης *in vitro* (10% και 20% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με CaCl₂ (0.05% w/v) στο κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης

Τα κινητικά μοντέλα μηδενικής τάξης δεν παρουσιάζουν καλή προσαρμογή, καθώς παρουσιάζουν συντελεστές γραμμικής συσχέτισης μακριά από τη μονάδα ($R^2 \sim 0.7-0.8$).

Κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης



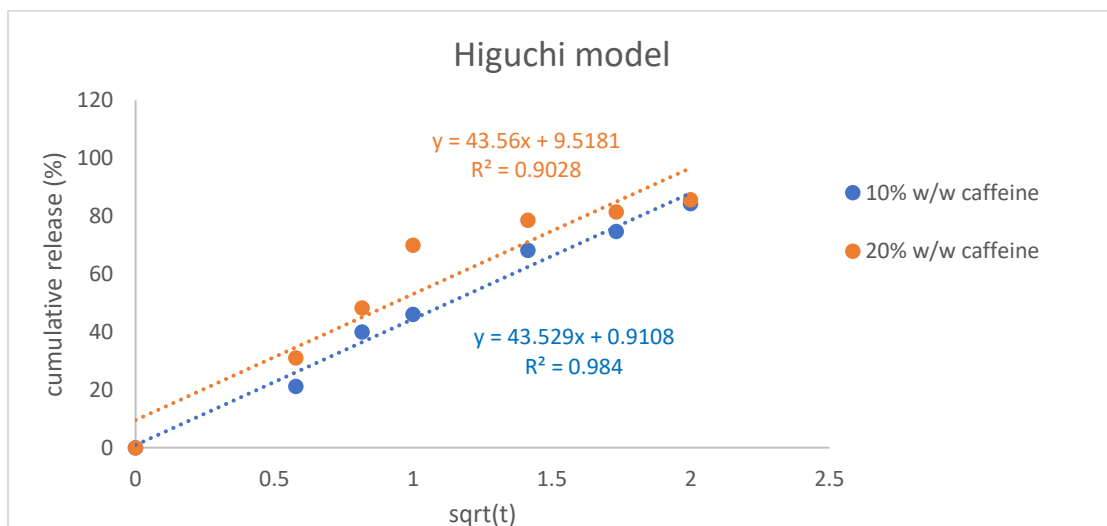
Διάγραμμα 7: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης *in vitro* (10% και 20% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.3% v/v) στο κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης



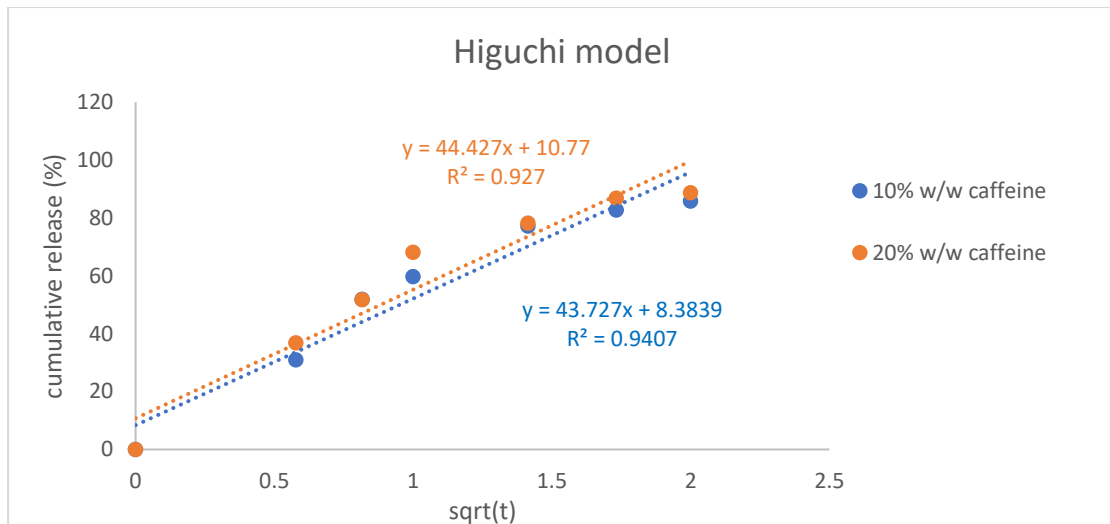
Διάγραμμα 8: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης *in vitro* (10% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με CaCl₂ (0.05% w/v) στο κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης

Τα κινητικά μοντέλα πρώτης τάξης, επίσης, δεν περιγράφουν καθόλου καλά την κινητική αποδέσμευσης της καφεΐνης, καθώς παρουσιάζουν συντελεστές γραμμικής συσχέτισης πολύ μακριά από τη μονάδα ($R^2 \sim 0.4$). Αυτό, οφείλεται στο γεγονός ότι ο ρυθμός απελευθέρωσης δεν είναι σταθερός και τα κινητικά μοντέλα πρώτης και μηδενικής τάξης δεν λαμβάνουν υπόψιν τα δομικά χαρακτηριστικά και τις ιδιότητες των σωματιδίων.

Κινητικό μοντέλο Higuchi



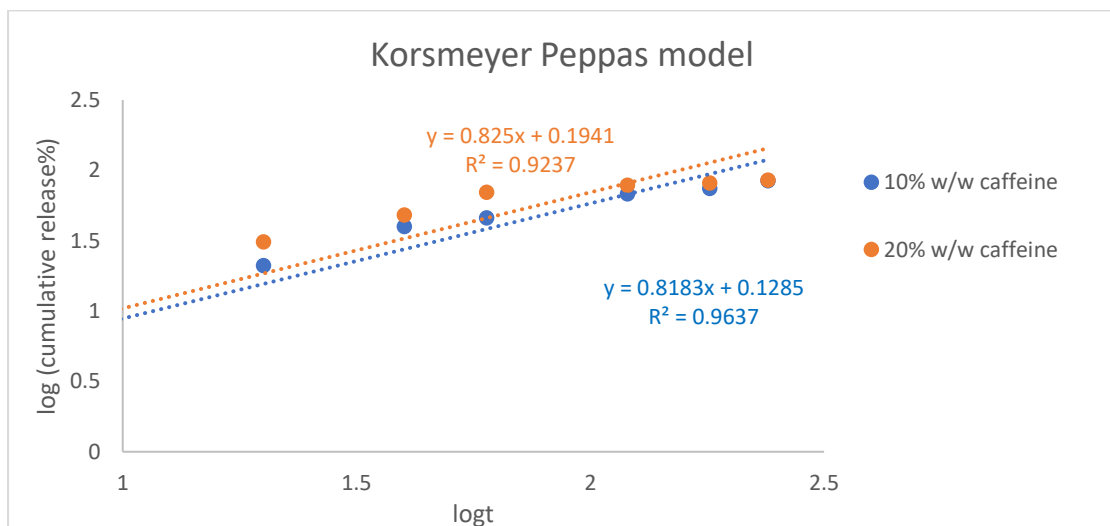
Διάγραμμα 9: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης *in vitro* (10% και 20% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.3% v/v) στο κινητικό μοντέλο Higuchi



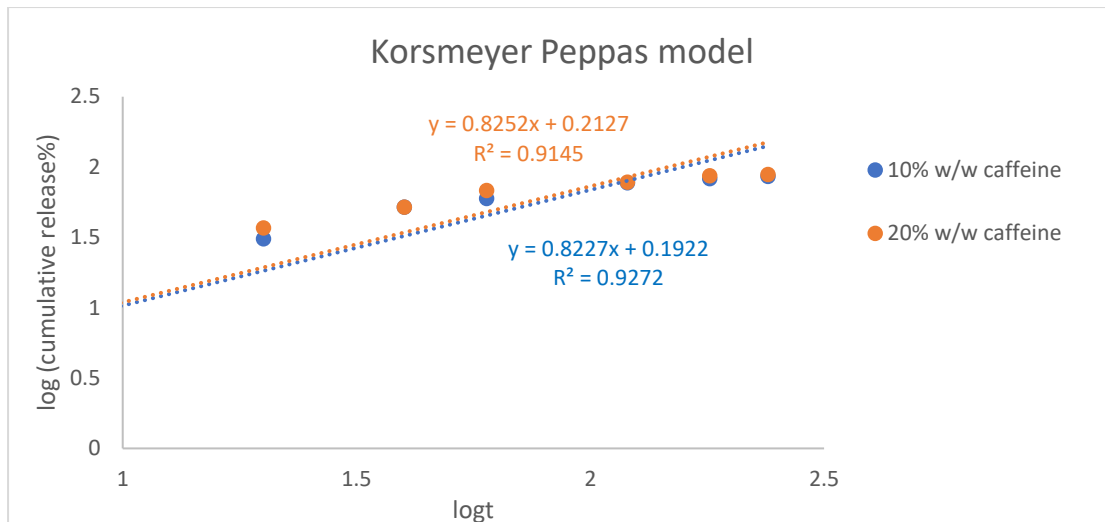
Διάγραμμα 10: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης *in vitro* (10% και 20% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με CaCl₂ (0.05% w/v) στο κινητικό μοντέλο Higuchi

Το κινητικό μοντέλο Higuchi, όπως αναμενόταν περιγράφει πολύ καλά την κινητική αποδέσμευσης της καφεΐνης, παρουσιάζοντας μια πολύ καλή προσαρμογή με συντελεστές γραμμικής συσχέτισης κοντά στη μονάδα ($R^2 > 0.9$). Η κινητική, σύμφωνα με το μοντέλο αυτό, βασίζεται στη διάχυση της ουσίας, βασιζόμενη στον πρώτο νόμο του Fick και συμπεριλαμβάνοντας στις σταθερές τις ιδιότητες των σωματιδίων.

Ημι-εμπειρικό κινητικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas



Διάγραμμα 11: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης *in vitro* (10% και 20% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.3% v/v) στο κινητικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas



Διάγραμμα 12: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης *in vitro* (10% και 20% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με CaCl₂ (0.05% w/v) στο κινητικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas

Ομοίως με το κινητικό μοντέλο Higuchi, το κινητικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas παρουσιάζει πολύ καλή προσαρμογή με συντελεστές γραμμικής συσχέτισης κοντά στη μονάδα ($R^2 > 0.9$), και του οποίου ο εκθέτης διάχυσης n υποδεικνύει το μηχανισμό της αποδέσμευσης. Σε όλες τις περιπτώσεις για τον εκθέτη διάχυσης n , ο οποίος αντιστοιχεί στην κλίση της εξίσωσης προσαρμογής, ισχύει ότι $0.45 < n < 0.89$, οπότε επιβεβαιώνεται ότι κατά την αποδέσμευση της καφεΐνης από τα νανοσωματίδια κυριαρχεί ο μηχανισμός αποδέσμευσης της ανώμαλης μεταφοράς (μη Fickian διάχυση).

Σύγκριση των κινητικών μοντέλων

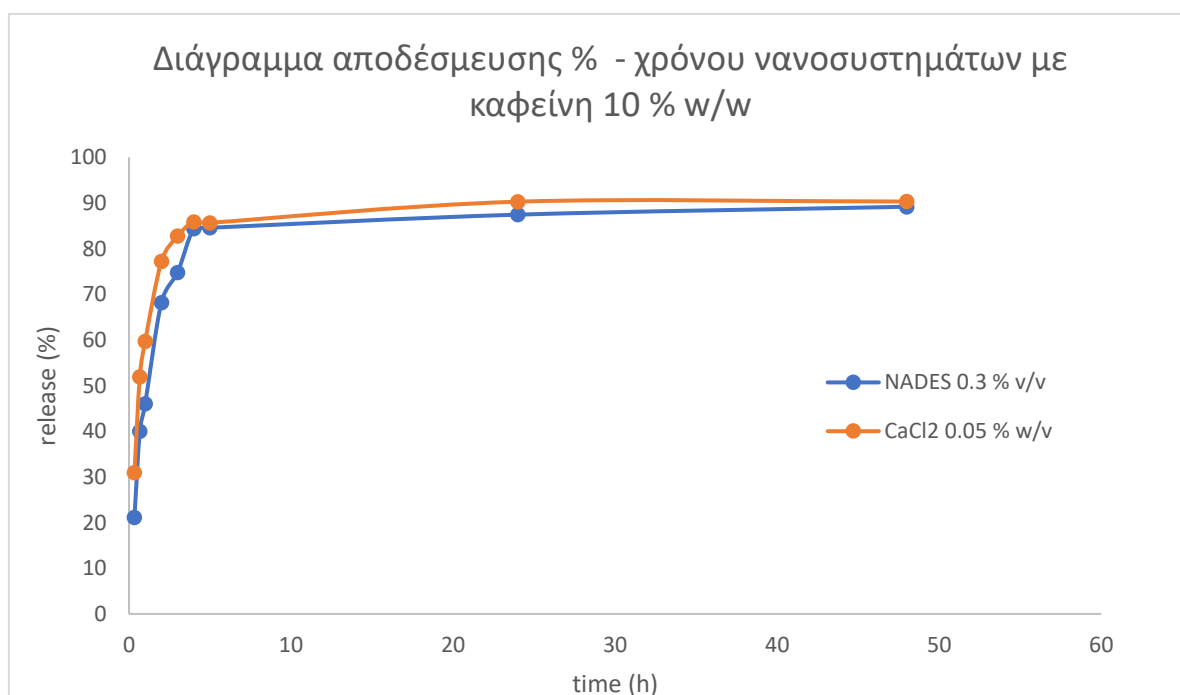
Συγκρίνοντας τα κινητικά μοντέλα, προκύπτει ότι καλύτερη προσαρμογή των κινητικών αποδέσμευσης επιτυγχάνεται με το μοντέλο Higuchi και το ημι-εμπειρικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas, καθώς λαμβάνουν υπόψιν τη μορφολογία και τις ιδιότητες των σωματιδίων. Αντίθετα από τα κινητικά μοντέλα Higuchi και Korsmeyer-Peppas, τα κινητικά μοντέλα μηδενικής και πρώτης τάξης δεν περιγράφουν επαρκώς το σύστημα, μη λαμβάνοντας υπόψιν τα δομικά χαρακτηριστικά των σωματιδίων και με το τελευταίο ειδικά να παρουσιάζει συντελεστή γραμμικής συσχέτισης μικρότερο του μισού της μονάδας.

Όσον αφορά στα νανοσυστήματα αλγινικού, όπως αναμενόταν η καλύτερη περιγραφή του συστήματος και προσαρμογή της κινητικής αποδέσμευσης επιτυγχάνεται σε όλα τα κινητικά μοντέλα στο σύστημα χαμηλής περιεκτικότητας σε καφεΐνη διαλυμένη σε NADES, όπως μαρτυράται και από τα αποτελέσματα απόδοσης εγκλωβισμού και μελέτης αποδέσμευσης της καφεΐνης. Επιπλέον, συγκριτικά με τα νανοσυστήματα ίδιας ποσότητας καφεΐνης διαλυμένη σε διαφορετικό διαλύτη παρατηρείται ότι

καλύτερη προσαρμογή σε όλα τα κινητικά μοντέλα παρουσιάζουν τα νανοσυστήματα στα οποία ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε ο NADES.

3.3.2 Σύγκριση μελέτης αποδέσμευσης βέλτιστων νανοσυστημάτων

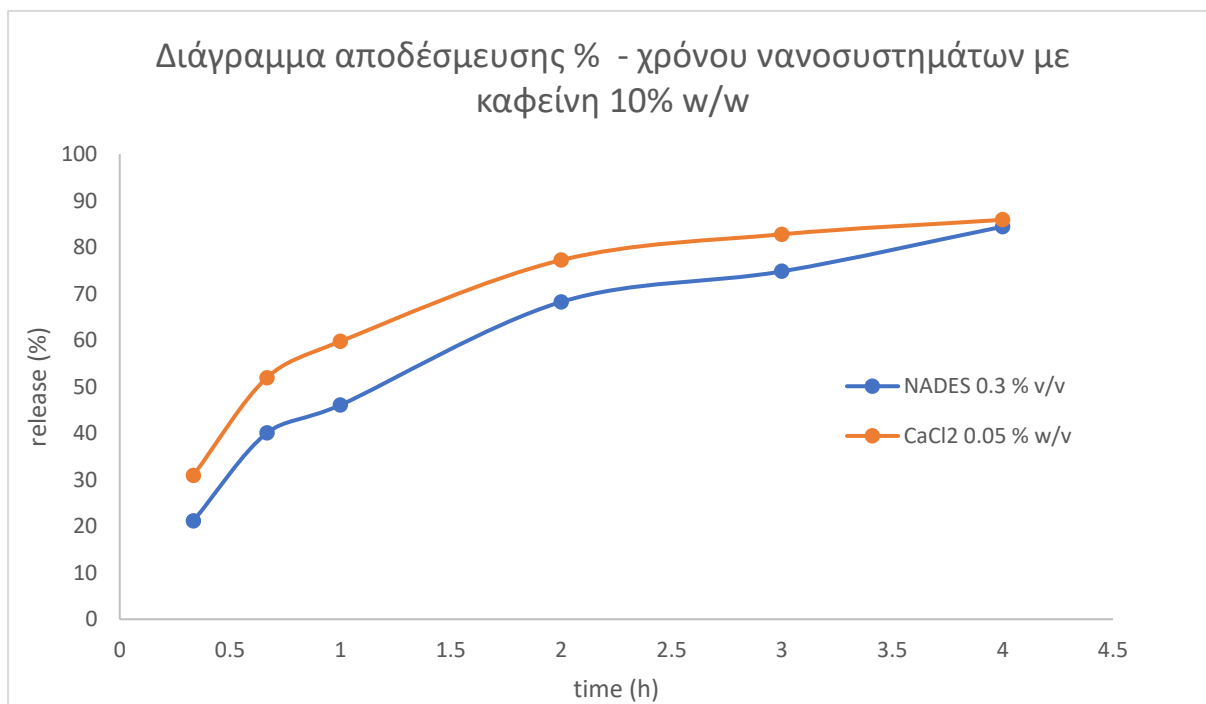
Ως βέλιστα νανοσυστήματα και στις δύο περιπτώσεις διαλυτών βάσει των πειραματικών παρατηρήσεων, χαρακτηρίστηκαν αυτά με την χαμηλή περιεκτικότητα καφεΐνης. Για την σύγκριση, λοιπόν, των νανοσυστημάτων χαμηλής περιεκτικότητας καφεΐνης διαλυμένη σε NADES και σε CaCl_2 , λαμβάνονται υπόψιν τα αποτελέσματα απελευθέρωσης της ουσίας κατά τις 4 πρώτες ώρες της διαδικασίας αποδέσμευσης. Αυτό συμβαίνει γιατί ενώ και τα δύο συστήματα επιτυγχάνουν υψηλές παραπλήσιες τιμές ποσοστού αποδέσμευσης, είναι σημαντικό να αξιολογηθούν ως προς την ικανότητα συγκράτησης της ουσίας, προς αποφυγή της άμεσης αποδέσμευσης. Σημαντικό παράγοντα, δηλαδή, αποτελεί η επίτευξη της όσο τον δυνατόν πιο παρατεταμένης αποδέσμευσης. Μάλιστα, για την ενίσχυση αυτού του ισχυρισμού, παρασκευάστηκε ξανά το βέλτιστο νανοσύστημα αλγινικού-NADES και του αντίστοιχου νανοσυστήματος αλγινικού- CaCl_2 με στόχο να υπολογιστεί το ποσοστό αποδέσμευσης της καφεΐνης σε χρόνο μεγαλύτερο της μίας μέρας, όπως φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα:



Διάγραμμα 13: Προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης περιεκτικότητας 10% w/w από τα νανοσυστήματα αλγινικού με χρήση διαλύτη NADES περιεκτικότητας 0.3 % v/v και διαλύτη CaCl_2 περιεκτικότητας 0.05% w/v σε pH=5.5 και T=32°C, έως τις 2 πρώτες μέρες

Σύμφωνα, με το παραπάνω διάγραμμα επιβεβαιώνεται και πειραματικά ότι το βέλτιστο νανosuστήμα αλγινικού-NADES, επιτυγχάνει ποσοστό αποδέσμευσης αντίστοιχου του νανosuστήματος αλγινικού-CaCl₂, σε διάστημα, όμως, μεγαλύτερο της μίας μέρας. Επομένως, είναι σημαντικό να συγκριθούν και να αξιολογηθούν ως προς την ικανότητα της παρατεταμένης αποδέσμευσης.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρουσιάζεται συγκριτικά το προφίλ αποδέσμευσης των δύο νανosuστημάτων με χαμηλή περιεκτικότητα σε καφεΐνη (10 % w/w) διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.3 % v/v και σε CaCl₂ περιεκτικότητας 0.05 % w/v:



Διάγραμμα 14: Προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης περιεκτικότητας 10% w/w από τα νανosuστήματα αλγινικού με χρήση διαλύτη NADES περιεκτικότητας 0.3 % v/v και διαλύτη CaCl₂ περιεκτικότητας 0.05% w/v σε pH=5.5 και T=32°C, έως τις 4 πρώτες ώρες

Παρατηρείται και γραφικά πλέον ότι μετά το πέρας των τεσσάρων πρώτων ωρών οι τιμές του ποσοστού αποδέσμευσης της καφεΐνης που επιτυγχάνονται και για τα δύο νανosuστήματα αλγινικού είναι παραπλήσιες (~85%). Ωστόσο, αυτό που επίσης παρατηρείται είναι ότι στο νανosuστήμα όπου η καφεΐνη διαλύθηκε με παράγοντα διασύνδεσης τον NADES επιτυγχάνεται μια πιο συγκρατημένη αποδέσμευση της ουσίας σε σχέση με το νανosuστήμα όπου η καφεΐνη διαλύθηκε σε διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου. Πιο συγκεκριμένα, στο νανosuστήμα με χρήση CaCl₂ το ποσοστό αποδέσμευσης για τα πρώτα 20 και 40 λεπτά είναι 31% και 52% αντίστοιχα. Αντίθετα, στην περίπτωση διαλυμένης σε NADES καφεΐνη, το ποσοστό αποδέσμευσης για τα πρώτα 20 και 40 λεπτά είναι 21% και 40% αντίστοιχα. Προκύπτει δηλαδή το συμπέρασμα ότι με διαλύτη το διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου από τα πρώτα κιάλας 40 λεπτά αποδεσμεύεται πάνω από το 50% της καφεΐνης, κάτι το οποίο επιτυγχάνεται

μετά το πέρας της πρώτης ώρας για το σύστημα με διαλύτη το NADES, καθώς από το διάγραμμα διαπιστώνεται ότι στο σύστημα με NADES γίνεται αποδέσμευση του 50% της καφεΐνης περίπου στη μιάμιση ώρα από την έναρξη της διαδικασίας.

Λαμβάνοντας υπόψιν αυτά, προκύπτει το συμπέρασμα και βάσει των αποτελεσμάτων χρονικής αποδέσμευσης της καφεΐνης, ότι όχι μόνο είναι εφικτή η χρήση ενός πράσινου διαλύτη έναντι ενός συμβατικού όπως το διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου, αλλά επιτυγχάνεται και πιο παρατεταμένη αποδέσμευση της ουσίας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιείται ο εγκλωβισμός του αλκαλοειδούς καφεΐνη σε νανοσυστήματα αλγινικού με χρήση ενός φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη. Ο NADES αποτελείται από μίγμα γλυκόζης, γαλακτικού οξέος και νερού σε αναλογία 1:5:6.2. Για τα νανοσυστήματα ακολουθείται μια σειρά διαδικασιών με στόχο τον χαρακτηρισμό τους και τον πειραματικό εντοπισμό του νανοσυστήματος με τα βέλτιστα χαρακτηριστικά.

Παρασκευάζεται μια σειρά νανοσυστημάτων αλγινικού περιεκτικότητας αλγινικού 0.4 % w/v, τα οποία αρχικά διαφέρουν ως προς την περιεκτικότητα του NADES (0.1, 0.3 και 0.5% v/v), στα οποία διαλύεται καφεΐνη περιεκτικότητας 10% w/w και στη συνέχεια διαφέρουν ως προς την περιεκτικότητα της διαλυμένης σε NADES καφεΐνης (10, 20 και 30% w/w). Έπειτα, παρασκευάζονται νανοσυστήματα αλγινικού με καφεΐνη περιεκτικότητας 10, 20 και 30% v/v, αυτή τη φορά, όμως, διαλυμένη σε διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου (CaCl_2) περιεκτικότητας 0.05% w/v, με στόχο τη μεταξύ τους σύγκριση.

Αρχικά, με τη μέθοδο της δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS), αξιολογούνται τα νανοσυστήματα ως προς το μέγεθός τους, τον δείκτη πολυδιασποράς (PDI) και το ζ-δυναμικό. Τα συμπεράσματα που προκύπτουν είναι τα εξής:

- ☞ Για όλα τα νανοσυστήματα η τιμή μεγέθους βρίσκεται εντός της νανοκλίμακας, η τιμή του δείκτη πολυδιασποράς (PDI) είναι αποδεκτή (<1) και το ζ-δυναμικό είναι παραπλήσιο της επιθυμητής τιμής των -30mV , ώστε να χαρακτηρίζονται από σταθερότητα και μειωμένη τάση συσσωμάτωσης.
- ☞ Για τα νανοσυστήματα με παράγοντα διασύνδεσης τον NADES καλύτερη τιμή υδροδυναμικής διαμέτρου, δείκτη πολυδιασποράς και ζ-δυναμικού εμφανίζει το νανοςύστημα με την καφεΐνη περιεκτικότητας 10% w/w σε NADES 0.3% v/v. Ειδικότερα, η μέση υδροδυναμική διάμετρος (size) κυμαίνεται από 218.1 έως 329.3 nm, η τιμή του δείκτη πολυδιασποράς (PDI) από 0.327 έως 0.401 και η τιμή του ζ-δυναμικού από -35.7 έως -27.9 mV, οι οποίες δηλώνουν σταθερή διασπορά με μειωμένη τάση συσσωμάτωσης στην νανοκλίμακα.
- ☞ Για τα νανοσυστήματα με διαλύτη το διάλυμα CaCl_2 καλύτερες τιμές εμφανίζει πάλι το νανοςύστημα με τη χαμηλή περιεκτικότητα καφεΐνης. Μάλιστα, τα νανοσυστήματα με αυξημένη ποσότητα καφεΐνης εμφανίζει αρκετά υψηλότερη τιμή δείκτη πολυδιασποράς (έως 0.889), τιμή που πιθανά οφείλεται στην αυξημένη τάση συσσωμάτωσης και στην ύπαρξη δύο οικογενειών νανοδοματιδίων.
- ☞ Συγκρίνοντας τα νανοσυστήματα με καφεΐνη περιεκτικότητας 10% w/w διαλυμένη σε NADES και σε CaCl_2 , δεν προκύπτει κάποια σημαντική διαφορά στις τιμές υδροδυναμικής διαμέτρου, δείκτη πολυδιασποράς και ζ-δυναμικού, γεγονός που τουλάχιστον υποδηλώνει ότι είναι εξίσου αποτελεσματική η χρήση του NADES έναντι του διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου.

Στη συνέχεια, συγκρίνονται τα νανοσυστήματα ως προς την απόδοση εγκλωβισμού τους, η οποία υπολογίστηκε με τον άμεσο τρόπο, δηλαδή μετρώντας τη μάζα της ουσίας που κατάφερε να εγκλωβιστεί. Τα συμπεράσματα που προκύπτουν είναι τα εξής:

- ☞ Για τα νανοσυστήματα με διαλύτη τον NADES, συγκρίνοντας τα και ως προς σταθερή περιεκτικότητα NADES και ως προς σταθερή περιεκτικότητα καφεΐνης, υψηλότερη απόδοση εγκλωβισμού επιτυγχάνεται σε αυτό με την χαμηλή ποσότητα καφεΐνης (10% w/w) διαλυμένη σε NADES 0.3%v/v, η οποία ήταν 73.2%
- ☞ Για τα νανοσυστήματα με διαλύτη το διάλυμα CaCl₂, δεν προκύπτει κάποια σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών απόδοσης εγκλωβισμού, ωστόσο αξίζει να σημειωθεί πως την υψηλότερη παρουσιάζει αυτό με την καφεΐνη περιεκτικότητας 20% w/w (70.09%). Για τη σύγκριση, όμως, με το αντίστοιχο νανοσύστημα αλγινικού-NADES, γίνεται χρήση της τιμής του νανοσυστήματος με την χαμηλή περιεκτικότητα καφεΐνης (66.90%), καθώς αυτή αποτελεί με διαφορά τη βέλτιστη κατά τη διάλυση σε NADES.
- ☞ Κατά τη σύγκριση, λοιπόν, των δύο νανοσυστημάτων με 10% w/w καφεΐνη, υψηλότερη απόδοση εγκλωβισμού επιτυγχάνεται σε αυτό όπου έγινε χρήση του NADES ως διαλύτη. Συμπεραίνεται, επομένως, ότι για τον εγκλωβισμό ίδιας περιεκτικότητας σε καφεΐνη, όχι μόνο είναι εφικτή η αντικατάσταση του διαλύματος CaCl₂ με τον πράσινο διαλύτη (0.3% v/v), αλλά επιτυγχάνεται και ακόμη υψηλότερη απόδοση εγκλωβισμού.

Τέλος, τα νανοσυστήματα μελετώνται ως προς την *in vitro* αποδέσμευση της καφεΐνης με τη μέθοδο της μεμβράνης διαπήδησης σε συνθήκες προσομοίωσης του ανθρώπινου δέρματος, δηλαδή σε pH=5.5 και θερμοκρασία T=32°C. Σε όλα τα νανοσυστήματα παρουσιάζεται ένα διφασικό προφίλ αποδέσμευσης.

Όσον αφορά στη σχέση του ποσοστού αποδέσμευσης με το χρόνο προκύπτουν τα εξής αποτελέσματα:

- ☞ Στα νανοσυστήματα με σταθερή περιεκτικότητα καφεΐνης (10% w/w) και παράγοντα διασύνδεσης τον NADES περιεκτικότητας 0.3 % v/v, επιτυγχάνεται ποσοστό αποδέσμευσης 87.2%, το οποίο είναι το υψηλότερο.
- ☞ Στα νανοσυστήματα με σταθερή περιεκτικότητα NADES (0.3% v/v) υψηλή τιμή ποσοστού αποδέσμευσης παρουσιάζει και αυτό με την καφεΐνη περιεκτικότητας 20% w/w, δηλαδή 87.5%
- ☞ Για τα νανοσυστήματα με χρήση ως διαλύτη το διάλυμα CaCl₂, δεν προκύπτει κάποιο συμπέρασμα, καθώς και τα 3 παρουσιάζουν παραπλήσιες τιμές απόδοσης εγκλωβισμού (85-89%).

Το κινητικό μοντέλο που περιγράφει κατάλληλα την κινητική αποδέσμευσης της καφεΐνης για όλα τα νανοσυστήματα αλγινικού είναι το μοντέλο Higuchi, με συντελεστή γραμμικής συσχέτισης άνω του 0.9, γεγονός που υποδηλώνει ότι η αποδέσμευσή της βασίζεται στη διάχυση που υπακούει στον πρώτο νόμο του Fick. Παράλληλα, καλή γραμμική συσχέτιση δίνει και το ημι-εμπειρικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas.

Τέλος, συγκρίνοντας το βέλτιστο νανοσύστημα αλγινικού-NADES με το αντίστοιχο αλγινικού- CaCl_2 , δηλαδή αυτό με τη χαμηλή περιεκτικότητα σε καφεΐνη, παρατηρείται ότι σε διάστημα μεγαλύτερο της μίας μέρας επιτυγχάνουν σχεδόν ίσες τιμές ποσοστού αποδέσμευσης, 89-90%. Ωστόσο, κρίθηκε απαραίτητη η αξιολόγησή τους σχετικά με την ικανότητα παρατεταμένης αποδέσμευσης της καφεΐνης. Βάσει αυτής της σύγκρισης, παρατηρείται ότι στο νανοσύστημα όπου η καφεΐνη διαλύθηκε σε NADES επιτυγχάνεται μια πιο παρατεταμένη αποδέσμευση της ουσίας σε σχέση με το νανοσύστημα όπου η καφεΐνη διαλύθηκε σε διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου, καθώς στο τελευταίο επιτυγχάνεται αποδέσμευση του 50% της συνολικής καφεΐνης από τα πρώτα 40 λεπτά, ένα ποσοστό που το πρώτο χρειάζεται πάνω από 60 λεπτά. Επομένως, η αποδέσμευση της καφεΐνης, γίνεται με πιο ελεγχόμενο τρόπο, βελτιώνοντας έτσι τη διαδικασία αποδέσμευσης.

ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Η μελέτη εγκλωβισμού της καφεΐνης σε νανοσυστήματα αλγινικού με διαλύτη NADES, όπως συμπεραίνεται από το σύνολο της παρούσας εργασίας, αποτελεί μία καινοτόμα μελέτη με ιδιαίτερο επιστημονικό ενδιαφέρον και ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Κρίνεται βέβαια σκόπιμο να διερευνηθεί εκτενέστερα. Έτσι προτείνονται οι εξής μελλοντικοί στόχοι:

- Μελέτη θερμικών ιδιοτήτων των νανοσυστημάτων με χρήση της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC) και της θερμοσταθμικής ανάλυσης (TGA)
- Δομικός χαρακτηρισμός των νανοσυστημάτων μέσω φασματοσκοπίας υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FT-IR)
- Αξιολόγηση των βιολογικών δράσεων των νανοσυστημάτων με διάφορες βιοδοκιμές (αντιοξειδωτική δράση, αντιηλιακή δράση)
- Μελέτη της μορφολογίας των νανοσυστημάτων μέσω της τεχνικής ηλεκτρονικής μικροσκοπίας διερχόμενης δέσμης (TEM)
- Μελέτη της σταθερότητας των νανοσυστημάτων σε βάθος χρόνου προκειμένου να εξασφαλιστεί η φυσική σταθερότητα

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

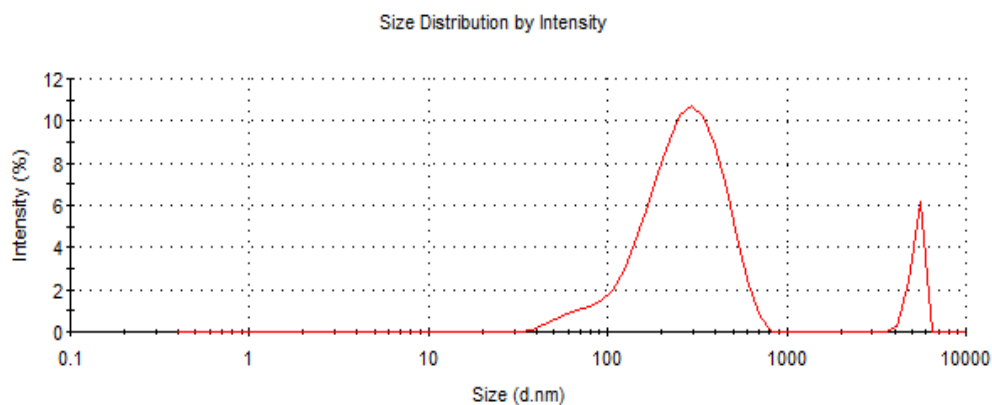
- 1) Hulla, J.; Sahu, S.; Hayes, A. Nanotechnology. *Human & Experimental Toxicology* 2015, 34 (12), 1318–1321. <https://doi.org/10.1177/0960327115603588>.
- 2) Bayda, S.; Adeel, M.; Tuccinardi, T.; Cordani, M.; Rizzolio, F. The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules* 2019, 25 (1), 112. <https://doi.org/10.3390/molecules25010112>.
- 3) Rafique, M.; Tahir, M. B.; Rafique, M. S.; Hamza, M. History and Fundamentals of Nanoscience and Nanotechnology. In *Nanotechnology and Photocatalysis for Environmental Applications*; Elsevier, 2020, 1–25. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821192-2.00001-25>.
- 4) National Nanotechnology Initiative. *Applications of Nanotechnology | National Nanotechnology Initiative*. www.nano.gov. <https://www.nano.gov/about-nanotechnology/applications-nanotechnology>.
- 5) Sim, S.; Wong, N. Nanotechnology and Its Use in Imaging and Drug Delivery (Review). *Biomedical Reports* 2021, 14 (5). <https://doi.org/10.3892/br.2021.1418>.
- 6) Kumar, R.; Kumar, M.; Luthra, G. Fundamental Approaches and Applications of Nanotechnology: A Mini Review. *Materials Today: Proceedings* 2023. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.12.172>.
- 7) Haleem, A.; Javaid, M.; Singh, R. P.; Rab, S.; Suman, R. Applications of Nanotechnology in Medical Field. *Global Health Journal* 2023, 7 (2). <https://doi.org/10.1016/j.glohj.2023.02.008>.
- 8) Jeevanandam, J.; Dable-Tupas, G.; De, M. B. Applications of Nanotechnology in Pharmaceutical Products. *Elsevier eBooks* 2022, 119–156. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-824408-1.00013-2>.
- 9) Jeewantha, A. APPLICATIONS of NANOTECHNOLOGY in PHARMACEUTICS Solid State Drug Delivery Systems View Project Phyto-Drug Screening View Project. *ResearchGate* 2019. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.10279.50084>.
- 10) Attia, M. F.; Anton, N.; Wallyn, J.; Omran, Z.; Vandamme, T. F. An Overview of Active and Passive Targeting Strategies to Improve the Nanocarriers Efficiency to Tumour Sites. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2019, 71 (8), 1185–1198. <https://doi.org/10.1111/jphp.13098>.
- 11) Mazayen, Z. M.; Ghoneim, A. M.; Elbatanony, R. S.; Basalious, E. B.; Bendas, E. R. Pharmaceutical Nanotechnology: From the Bench to the Market. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences* 2022, 8 (1). <https://doi.org/10.1186/s43094-022-00400-0>.
- 12) US EPA. *Basics of Green Chemistry | US EPA*. US EPA. <https://www.epa.gov/greenchemistry/basics-green-chemistry>.
- 13) Jeon, J. Green Chemistry | Britannica. *Encyclopædia Britannica* 2018. <https://www.britannica.com/science/green-chemistry>.
- 14) Gałuszka, A.; Migaszewski, Z.; Namieśnik, J. The 12 Principles of Green Analytical Chemistry and the SIGNIFICANCE Mnemonic of Green Analytical Practices. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 2013, 50, 78–84. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.04.010>.

- 15) Becker, J.; Manske, C.; Randl, S. Green Chemistry and Sustainability Metrics in the Pharmaceutical Manufacturing Sector. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry* 2021, 100562. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2021.100562>.
- 16) Lei, Z.; Chen, B.; Koo, Y.-M.; MacFarlane, D. R. Introduction: Ionic Liquids. *Chemical Reviews* 2017, 117 (10), 6633–6635. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00246>.
- 17) Tang, B.; Bi, W.; Tian, M.; Row, K. H. Application of Ionic Liquid for Extraction and Separation of Bioactive Compounds from Plants. *Journal of Chromatography B* 2012, 904, 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2012.07.020>.
- 18) Lomba, L.; García, C. B.; Ribate, M. P.; Giner, B.; Zuriaga, E. Applications of Deep Eutectic Solvents Related to Health, Synthesis, and Extraction of Natural Based Chemicals. *Applied Sciences* 2021, 11 (21), 10156. <https://doi.org/10.3390/app112110156>.
- 19) Smith, E. L.; Abbott, A. P.; Ryder, K. S. Deep Eutectic Solvents (DESs) and Their Applications. *Chemical Reviews* 2014, 114 (21), 11060–11082. <https://doi.org/10.1021/cr300162p>.
- 20) Perna, F. M.; Vitale, P.; Capriati, V. Deep Eutectic Solvents and Their Applications as Green Solvents. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry* 2020, 21, 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2019.09.004>.
- 21) Omar, K. A.; Sadeghi, R. Physicochemical Properties of Deep Eutectic Solvents: A Review. *Journal of Molecular Liquids* 2022, 360, 119524. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.119524>.
- 22) Yang, Z. Natural Deep Eutectic Solvents and Their Applications in Biotechnology. *Application of Ionic Liquids in Biotechnology* 2018, 31–59. https://doi.org/10.1007/10_2018_67.
- 23) Li, D. Natural Deep Eutectic Solvents in Phytonutrient Extraction and Other Applications. *Frontiers in Plant Science* 2022, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1004332>.
- 24) Nivens, D. E.; Ohman, D. E.; Williams, J.; Franklin, M. J. Role of Alginate and Its O Acetylation in Formation of Pseudomonas Aeruginosa Microcolonies and Biofilms. *Journal of Bacteriology* 2001, 183 (3), 1047–1057. <https://doi.org/10.1128/jb.183.3.1047-1057.2001>.
- 25) Jana, P.; Shyam, M.; Singh, S.; Jayaprakash, V.; Dev, A. Biodegradable Polymers in Drug Delivery and Oral Vaccination. *European Polymer Journal* 2021, 142, 110155. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.110155>.
- 26) Gheorghita Puscaselu, R.; Lobiuc, A.; Dimian, M.; Covasa, M. Alginate: From Food Industry to Biomedical Applications and Management of Metabolic Disorders. *Polymers* 2020, 12 (10), 2417. <https://doi.org/10.3390/polym12102417>.
- 27) Hariyadi, D. M.; Islam, N. Current Status of Alginate in Drug Delivery. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences* 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/8886095>.
- 28) Hasnain, M. S.; Nayak, A. K.; Kurakula, M.; Hoda, M. N. Alginate Nanoparticles in Drug Delivery. *Alginates in Drug Delivery* 2020, 129–152. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817640-5.00006-6>.
- 29) New World Encyclopedia. *Caffeine*. [Newworldencyclopedia.org. https://www.newworldencyclopedia.org/entry/Caffeine](https://www.newworldencyclopedia.org/entry/Caffeine).

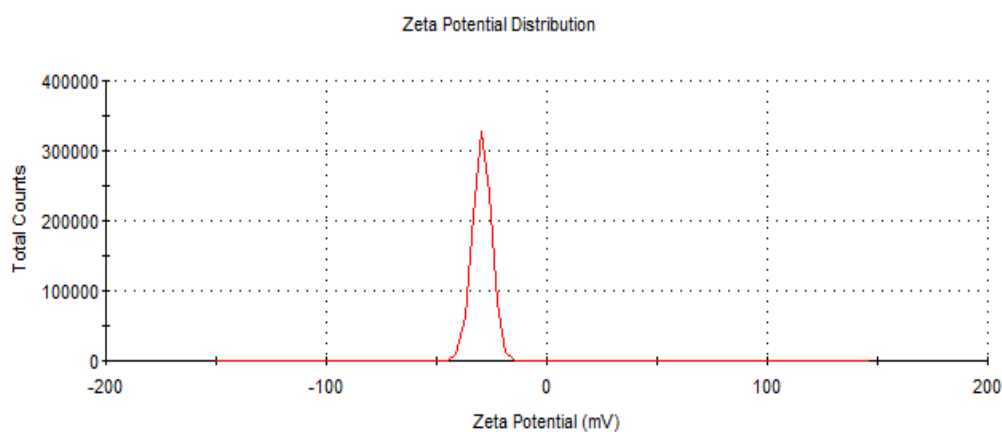
- 30) Harvard School Of Public Health. *Caffeine*. The Nutrition Source. <https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/caffeine/>.
- 31) Nawrot, P.; Jordan, S.; Eastwood, J.; Rotstein, J.; Hugenholtz, A.; Feeley, M. Effects of Caffeine on Human Health. *Food additives and contaminants* 2003, 20 (1), 1–30. <https://doi.org/10.1080/0265203021000007840>.
- 32) Cappelletti, S.; Piacentino, D.; Sani, G.; Mariarosaria Aromatario. Caffeine: Cognitive and Physical Performance Enhancer or Psychoactive Drug? *Current Neuropharmacology* 2022, 13 (1), 71–88. <https://doi.org/10.2174%2F1570159X13666141210215655>.
- 33) Sawynok, J. Pharmacological Rationale for the Clinical Use of Caffeine. *Drugs* 1995, 49 (1), 37–50. <https://doi.org/10.2165/00003495-199549010-00004>.
- 34) Lorist, M. M.; Snel, J. Caffeine, Sleep, and Quality of Life. *Sleep and Quality of Life in Clinical Medicine* 2008, 325–332. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-343-5_33.
- 35) National Library of Chemistry. Calcium chloride. Nih.gov. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Calcium-chloride>.
- 36) Ropp, R. C. Group 17 (H, F, Cl, Br, I) Alkaline Earth Compounds. *Encyclopedia of the Alkaline Earth Compounds* 2013, 25–104. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-59550-8.00002-8>.
- 37) N'Tsoukpoe, K. E.; Rammelberg, H. U.; Lele, A. F.; Korhammer, K.; Watts, B. A.; Schmidt, T.; Ruck, W. K. L. A Review on the Use of Calcium Chloride in Applied Thermal Engineering. *Applied Thermal Engineering* 2015, 75, 513–531. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2014.09.047>.
- 38) Bhattacharjee, S. DLS and Zeta Potential – What They Are and What They Are Not? *Journal of Controlled Release* 2016, 235, 337–351. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017>.
- 39) Falke, S.; Betzel, C. Dynamic Light Scattering (DLS). *Radiation in Bioanalysis* 2019, 8, 173–193. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28247-9_6.
- 40) Raval, N.; Maheshwari, R.; Kalyane, D.; Youngren-Ortiz, S. R.; Chougule, M. B.; Tekade, R. K. Importance of Physicochemical Characterization of Nanoparticles in Pharmaceutical Product Development. *Basic Fundamentals of Drug Delivery* 2019, 369–400. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817909-3.00010-8>.
- 41) I.M. Mahbubul. Stability and Dispersion Characterization of Nanofluid. *Elsevier eBooks* 2019, 47–112. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813245-6.00003-4>.
- 42) Zasoski, R. J. Zeta Potential. *Encyclopedia of earth sciences* 2008, 841–845. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3995-9_644.
- 43) Samimi, S.; Dorkoosh, F. *Zeta Potential - an overview | ScienceDirect Topics*. Sciencedirect.com. <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/zeta-potential>.
- 44) Shah, M. K.; Khatri, P.; Vora, N.; Patel, N. K.; Jain, S.; Lin, S. Lipid Nanocarriers: Preparation, Characterization and Absorption Mechanism and Applications to Improve Oral Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs. *Biomedical Applications of Nanoparticles* 2019, 117–147. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816506-5.00003-6>.
- 45) Talevi, A.; Ruiz, M. E. Drug Release. *The ADME Encyclopedia* 2021, 1–7. https://doi.org/10.1007/978-3-030-51519-5_32-1.

- 46) Huang, X.; Brazel, C. S. On the Importance and Mechanisms of Burst Release in Matrix-Controlled Drug Delivery Systems. *Journal of Controlled Release* 2001, 73 (2-3), 121–136. [https://doi.org/10.1016/s0168-3659\(01\)00248-6](https://doi.org/10.1016/s0168-3659(01)00248-6).
- 47) Narasimhan, B.; Langer, R. Zero-Order Release of Micro- and Macromolecules from Polymeric Devices: The Role of the Burst Effect. *Journal of Controlled Release* 1997, 47 (1), 13–20. [https://doi.org/10.1016/s0168-3659\(96\)01611-2](https://doi.org/10.1016/s0168-3659(96)01611-2).
- 48) Santadkha, T.; Skolpap, W.; Thitapakorn, V. Diffusion Modeling and in Vitro Release Kinetics Studies of Curcumin-Loaded Superparamagnetic Nanomicelles in Cancer Drug Delivery System. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2022, 111 (6), 1690–1699. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2021.11.015>.
- 49) Bruschi, M. L. Mathematical Models of Drug Release. *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems* 2015, 63–86. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100092-2.00005-9>.
- 50) Mircioiu, C.; Voicu, V.; Anuta, V.; Tudose, A.; Celia, C.; Paolino, D.; Fresta, M.; Sandulovici, R.; Mircioiu, I. Mathematical Modeling of Release Kinetics from Supramolecular Drug Delivery Systems. *Pharmaceutics* 2019, 11 (3), 140. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11030140>.
- 51) Siepmann, J.; Peppas, N. A. Higuchi Equation: Derivation, Applications, Use and Misuse. *International Journal of Pharmaceutics* 2011, 418 (1), 6–12. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.03.051>.
- 52) Talevi, A.; María Esperanza Ruiz. Korsmeyer-Peppas, Peppas-Sahlin, and Brazel-Peppas: Models of Drug Release. *Springer eBooks* 2021, 1–9. https://doi.org/10.1007/978-3-030-51519-5_35-1.

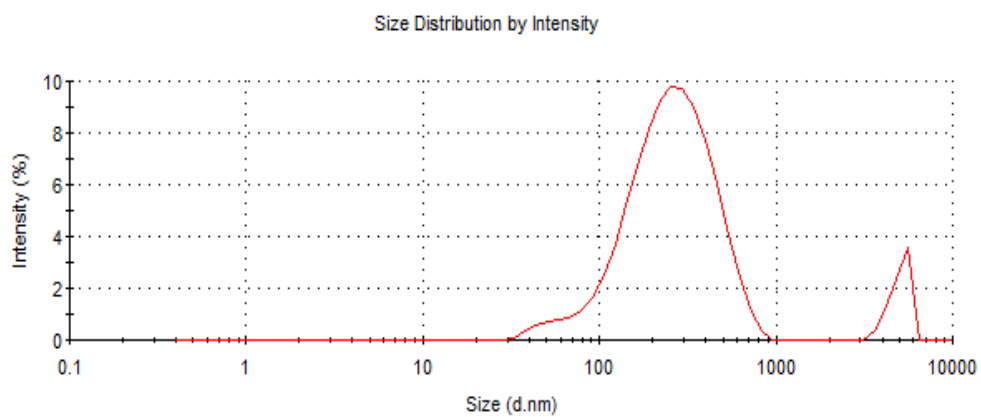
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ



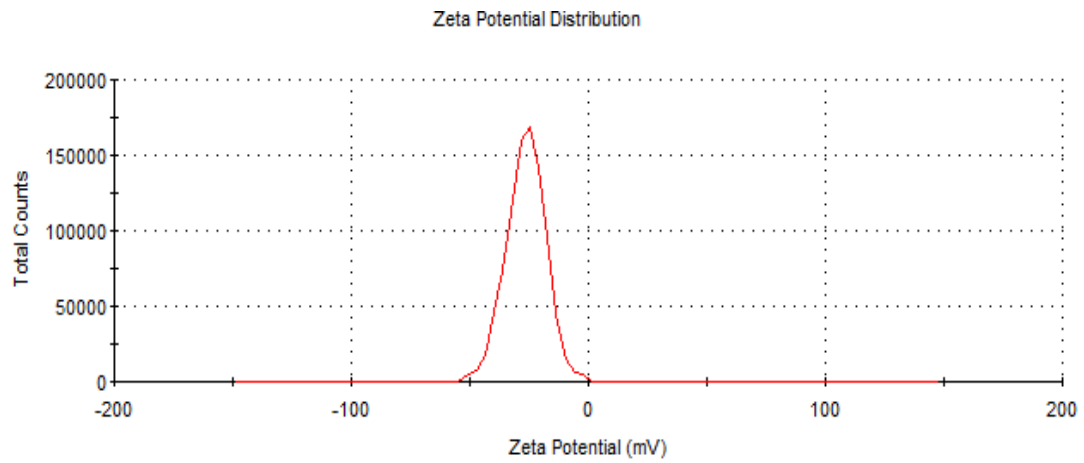
Διάγραμμα 15: Κατανομή μεγέθους του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 10% w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.3% v/v



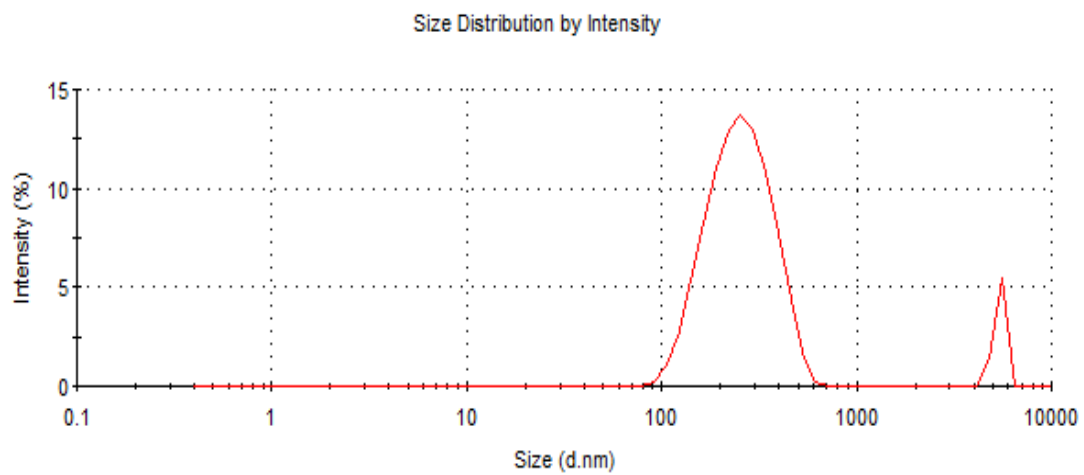
Διάγραμμα 16: Z-δυναμικό του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 10% w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.3% v/v



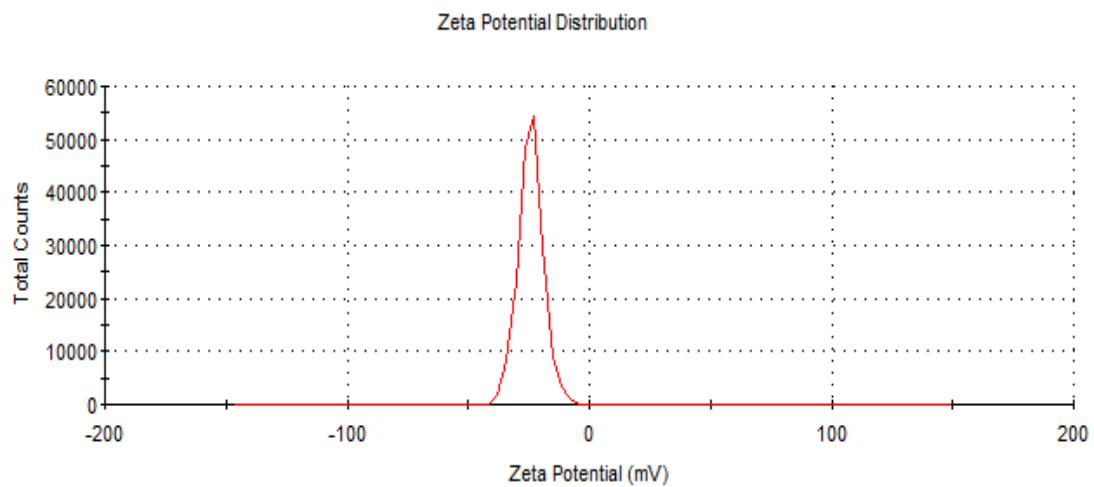
Διάγραμμα 17: Κατανομή μεγέθους του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 10% w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.5% v/v



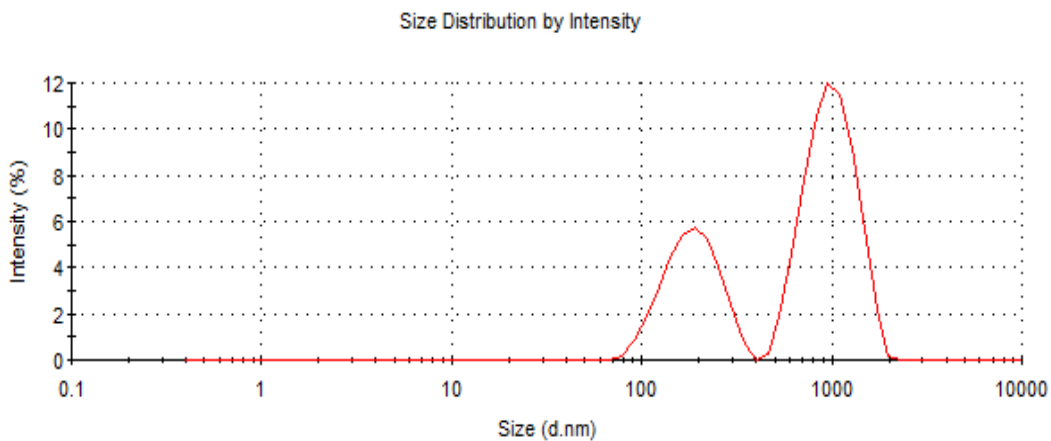
Διάγραμμα 18: Z-δυναμικό του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 10%w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.5% v/v



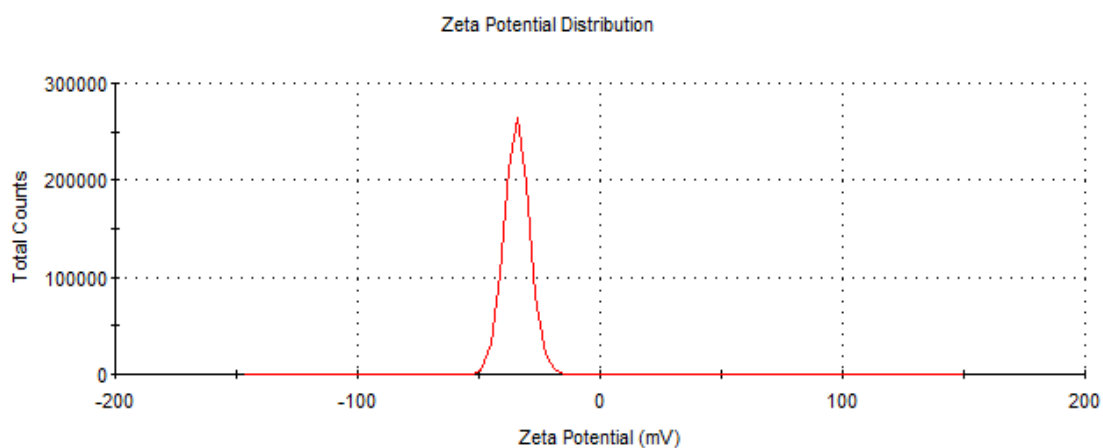
Διάγραμμα 19: Κατανομή μεγέθους του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 10% w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.1% v/v



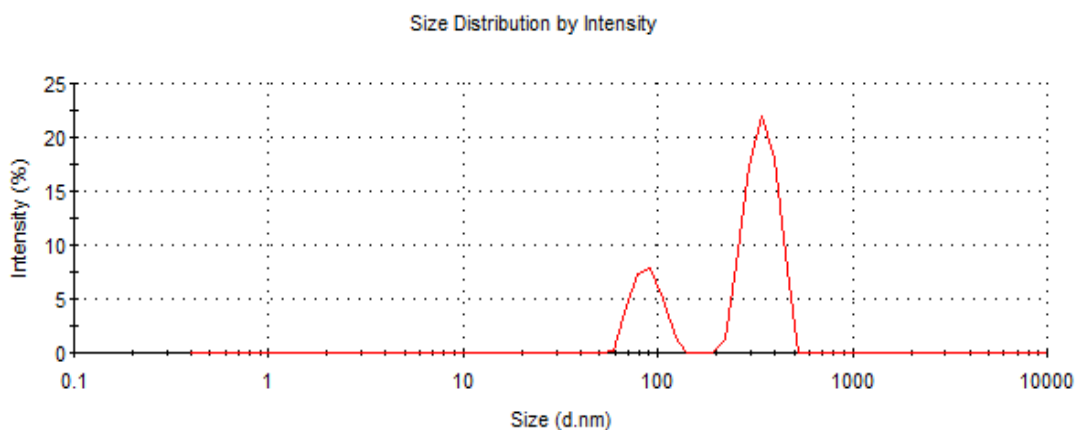
Διάγραμμα 20: Z-δυναμικό του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 10%w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.1% v/v



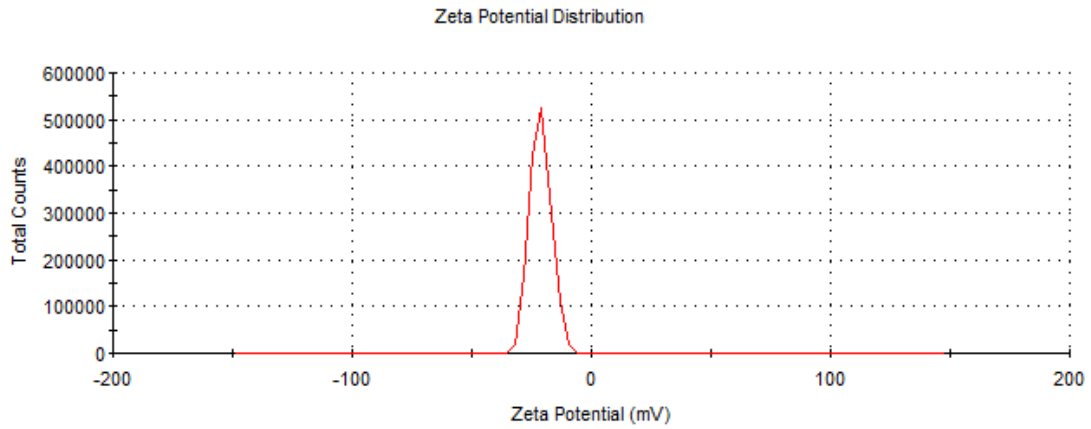
Διάγραμμα 21: Κατανομή μεγέθους του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 20% w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.3% v/v



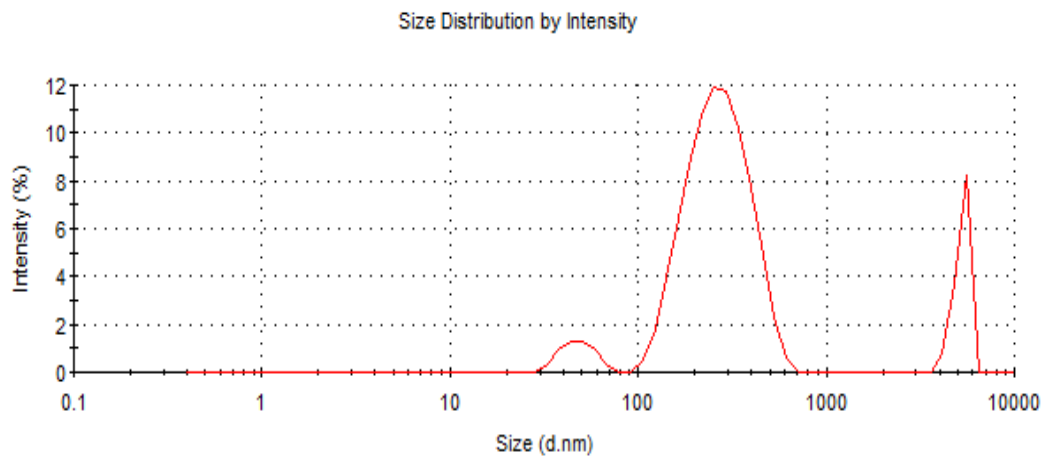
Διάγραμμα 22: Z-δυναμικό του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 20%w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.3% v/v



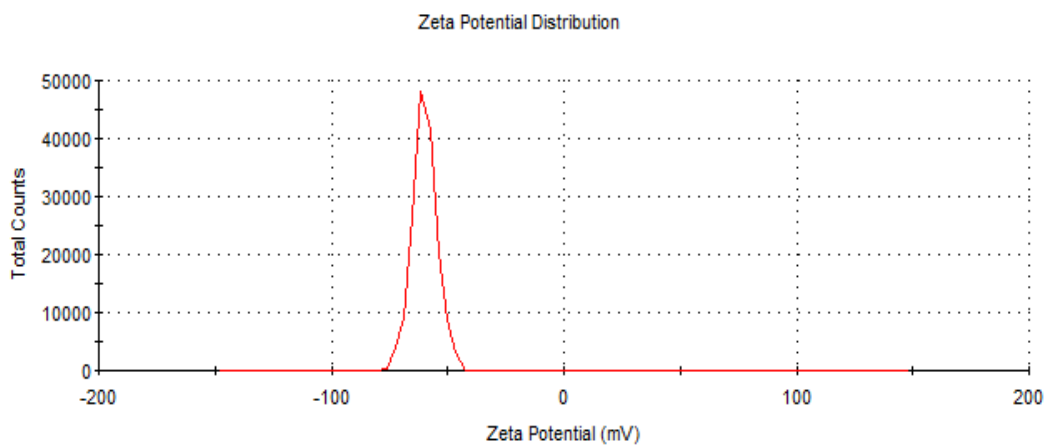
Διάγραμμα 23: Κατανομή μεγέθους του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 30% w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.3% v/v



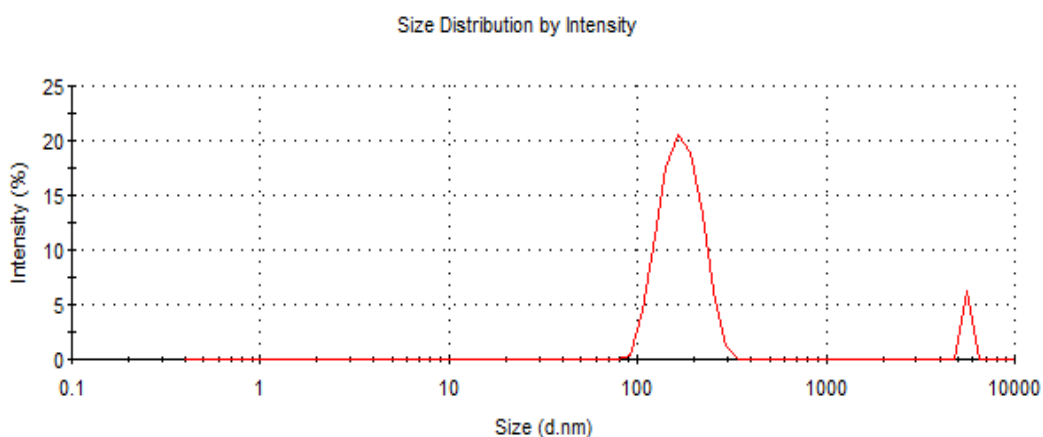
Διάγραμμα 24: Z-δυναμικό του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 20%w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.3% v/v



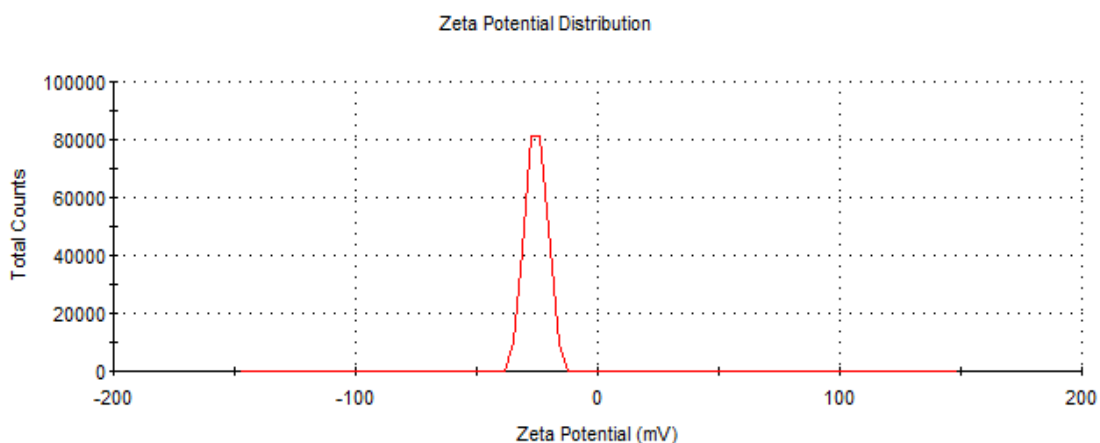
Διάγραμμα 25: Κατανομή μεγέθους του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 10% w/w διαλυμένη σε CaCl₂ περιεκτικότητας 0.05% w/v



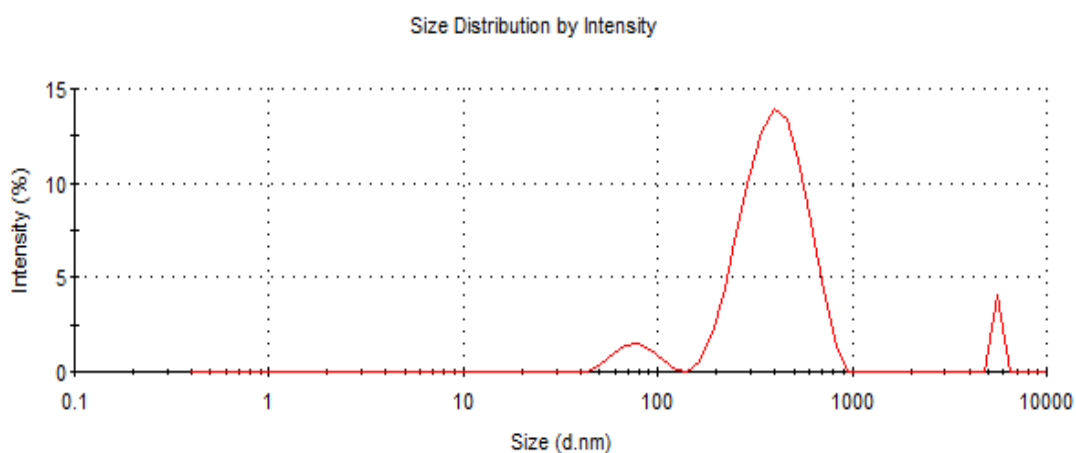
Διάγραμμα 26: Z-δυναμικό του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 10% w/w διαλυμένη σε CaCl₂ περιεκτικότητας 0.05% w/v



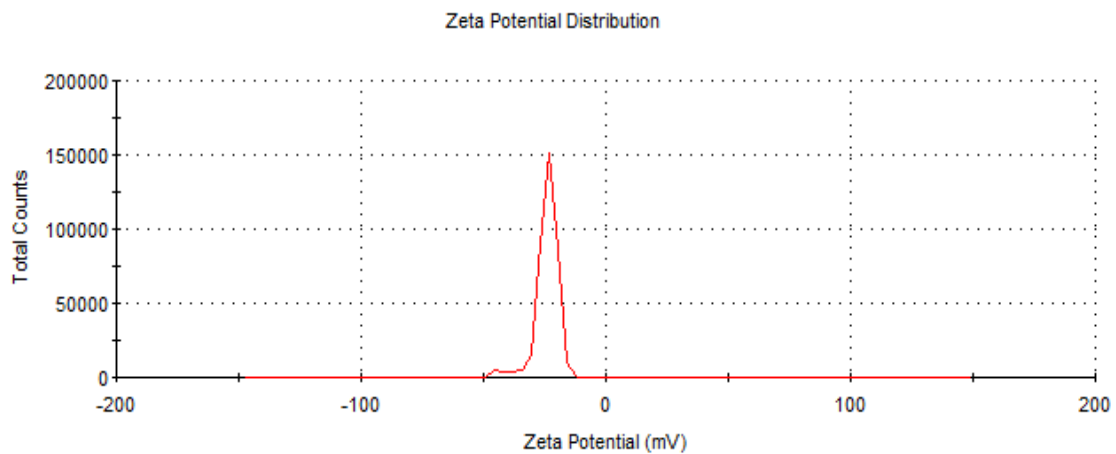
Διάγραμμα 27: Κατανομή μεγέθους του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 20% w/w διαλυμένη σε CaCl₂ περιεκτικότητας 0.05% w/v



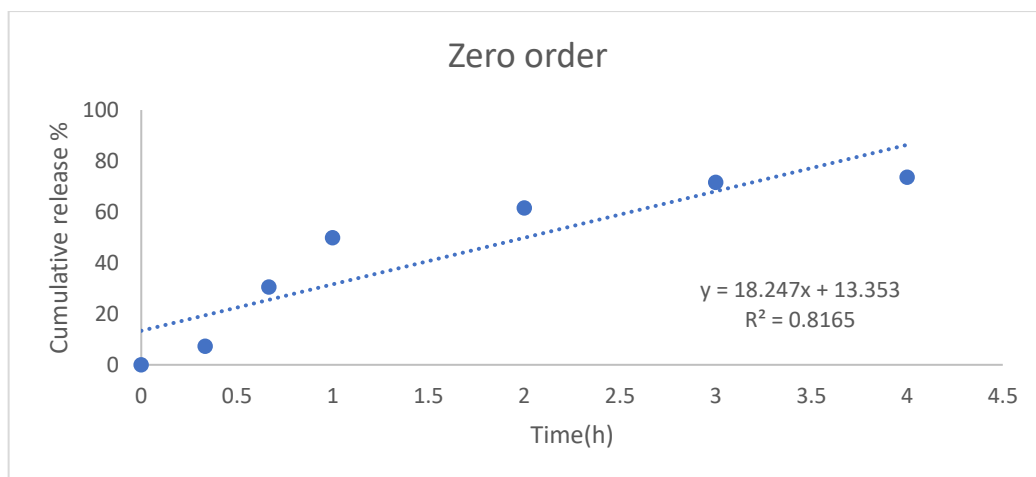
Διάγραμμα 28: Z-δυναμικό του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 20% w/w διαλυμένη σε CaCl₂ περιεκτικότητας 0.05% w/v



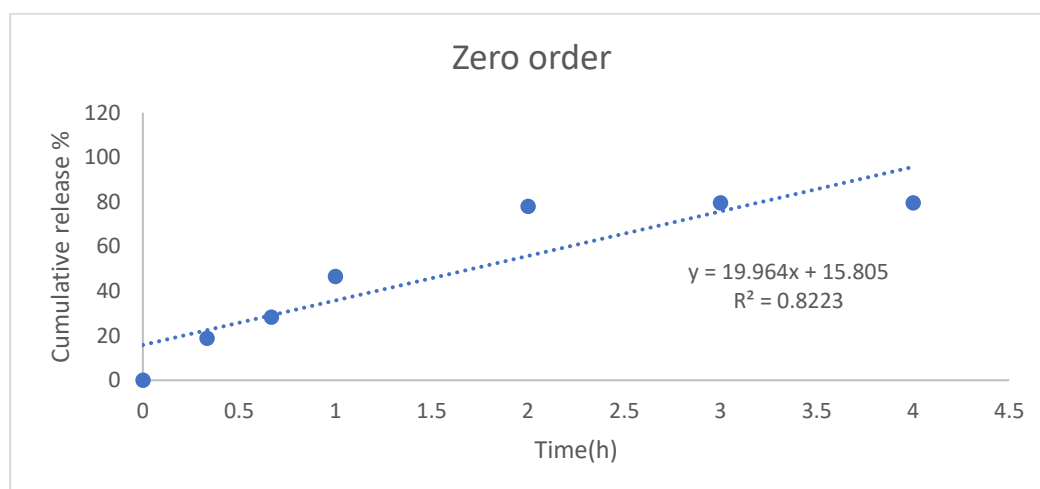
Διάγραμμα 29: Κατανομή μεγέθους του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 30% w/w διαλυμένη σε CaCl₂ περιεκτικότητας 0.05% w/v



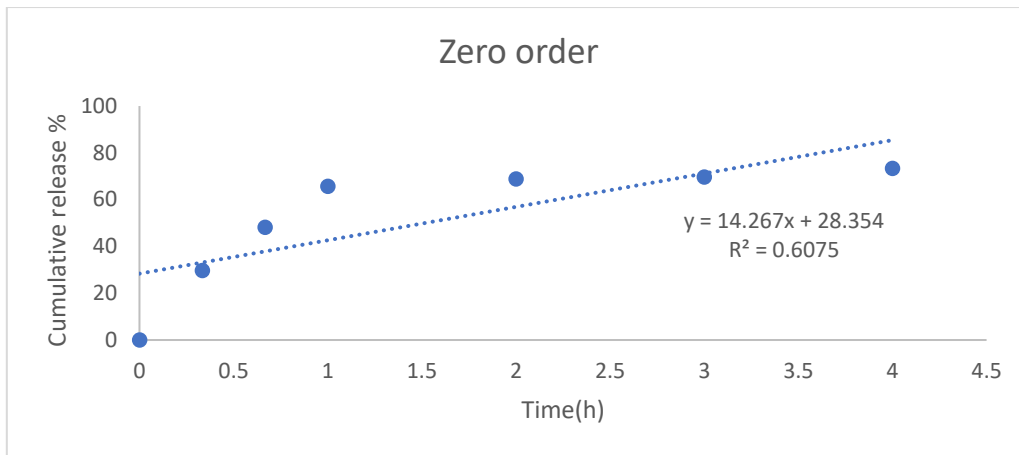
Διάγραμμα 30: Ζ-δυναμικό του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 30% w/w διαλυμένη σε CaCl₂ περιεκτικότητας 0.05% w/v



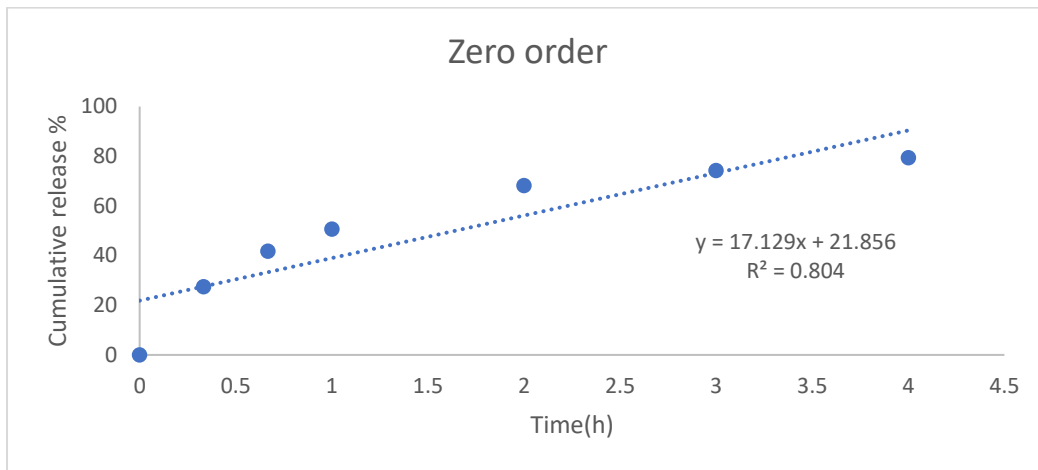
Διάγραμμα 31: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.5% v/v) στο κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης



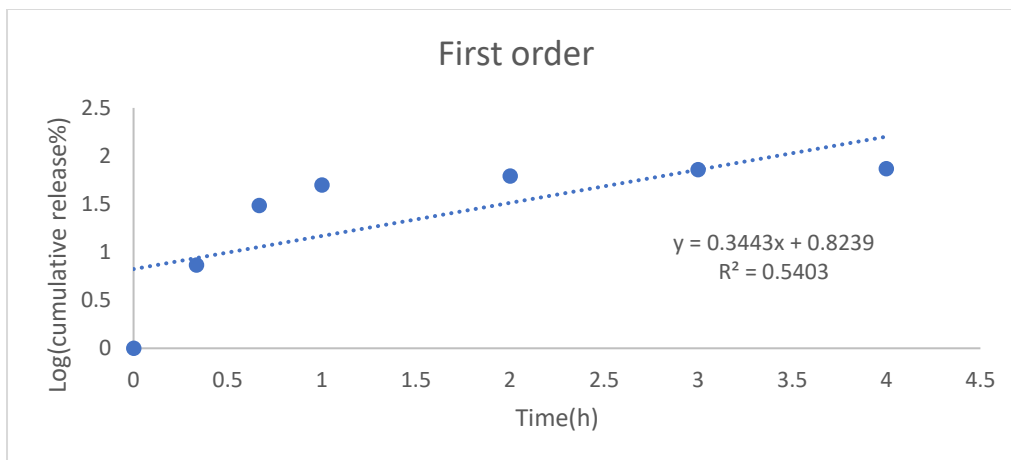
Διάγραμμα 32: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.1% v/v) στο κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης



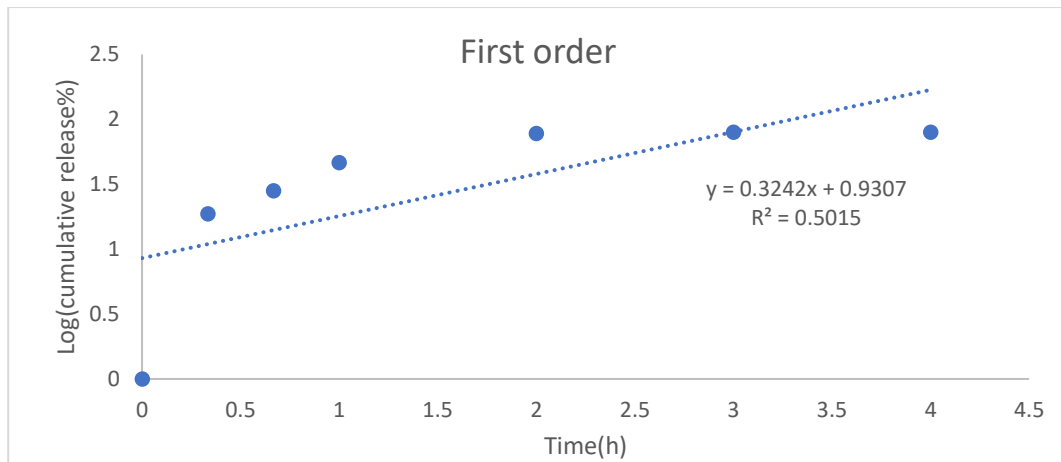
Διάγραμμα 33: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (30% w/w) από τα νανοδοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.3% v/v) στο κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης



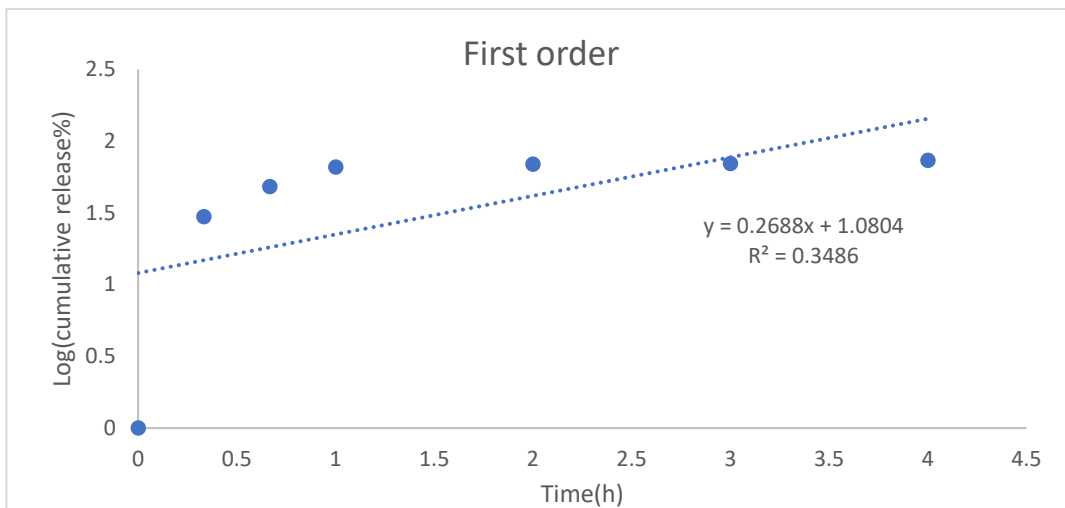
Διάγραμμα 34: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (30% w/w) από τα νανοδοσυστήματα αλγινικού με CaCl₂ (0.05% w/v) στο κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης



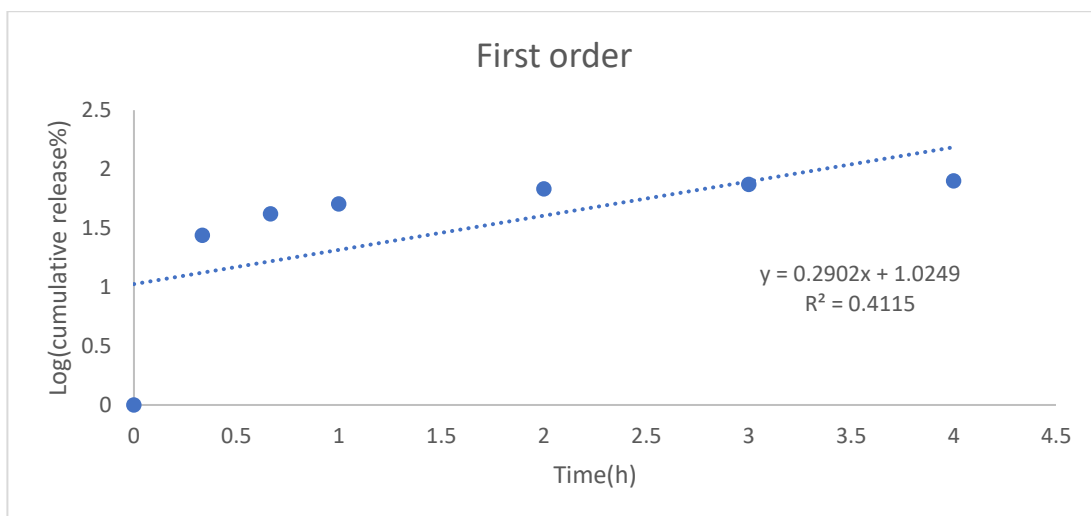
Διάγραμμα 35: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% w/w) από τα νανοδοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.5% v/v) στο κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης



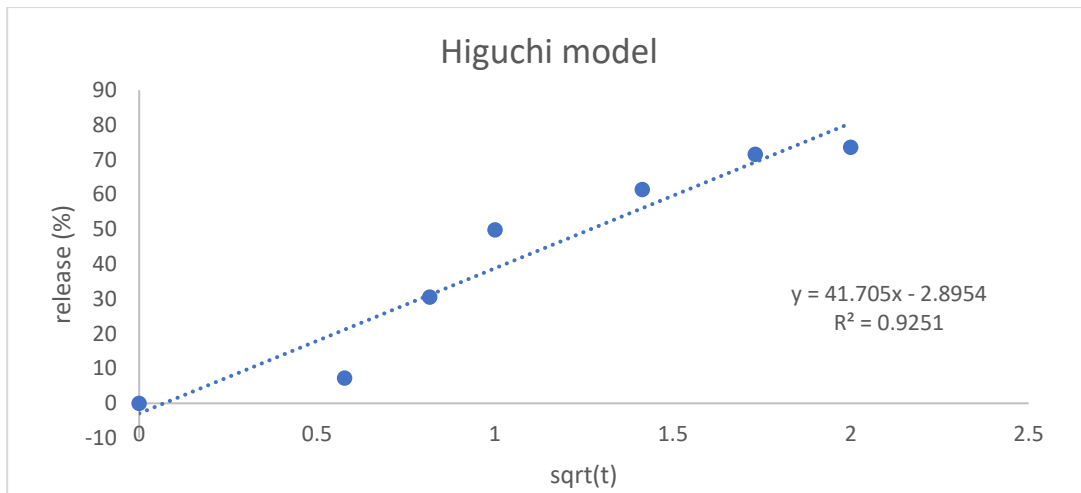
Διάγραμμα 36: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.1% v/v) στο κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης



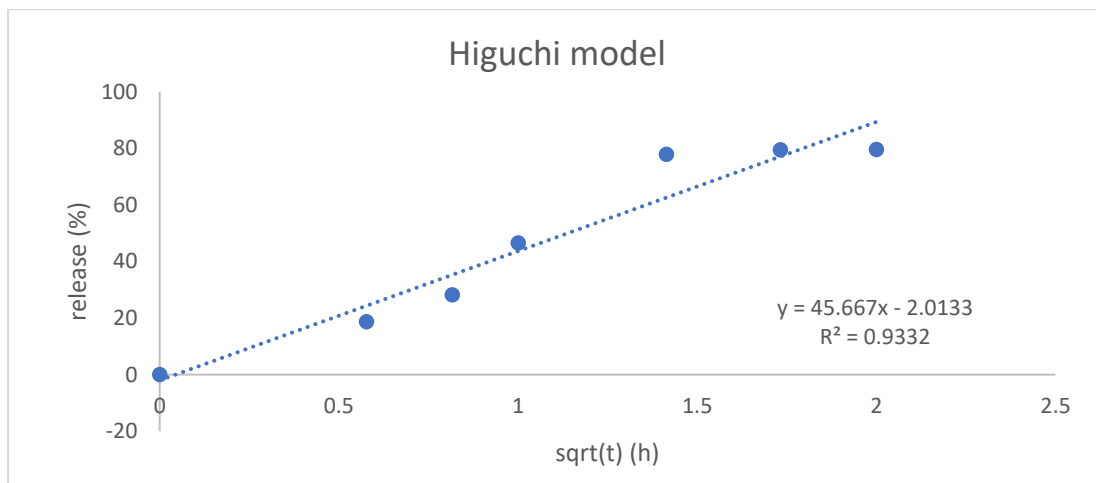
Διάγραμμα 37: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (30% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.3% v/v) στο κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης



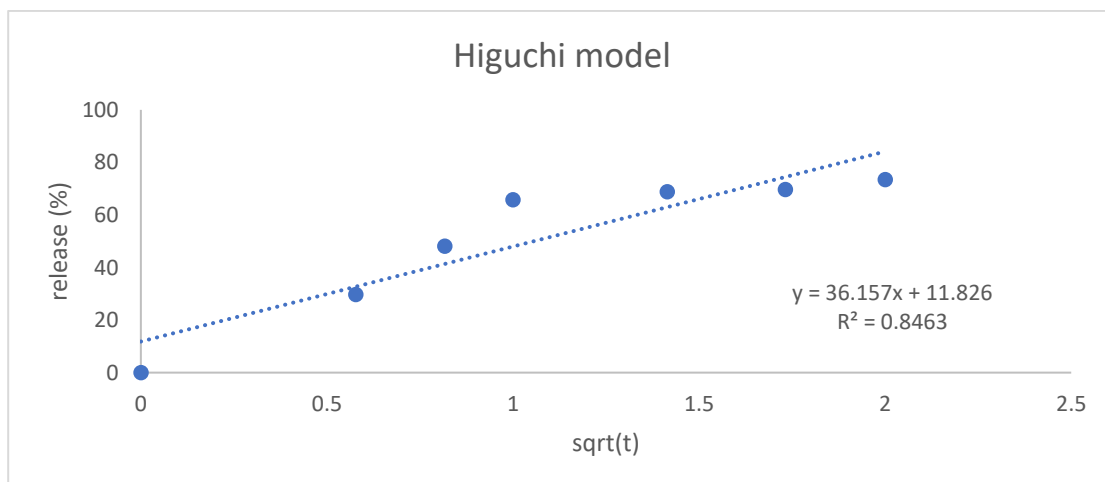
Διάγραμμα 38: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (30% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με CaCl_2 (0.05% w/v) στο κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης



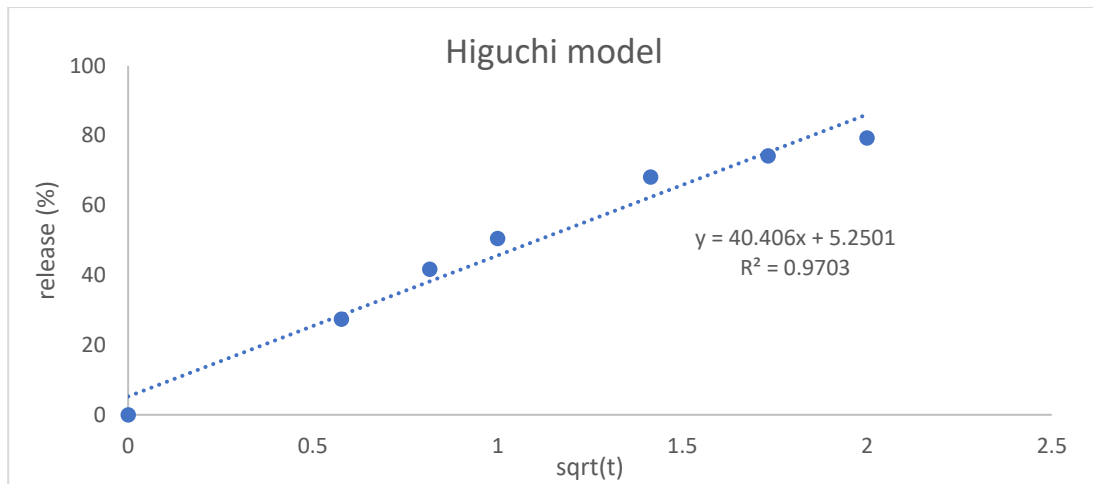
Διάγραμμα 39: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.5% v/v) στο κινητικό μοντέλο Higuchi



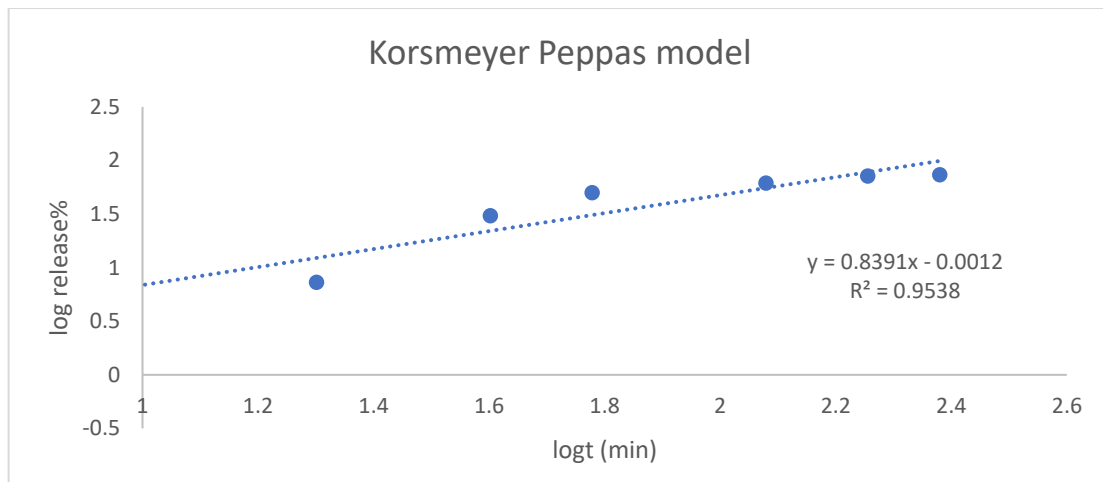
Διάγραμμα 40: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.1% v/v) στο κινητικό μοντέλο Higuchi



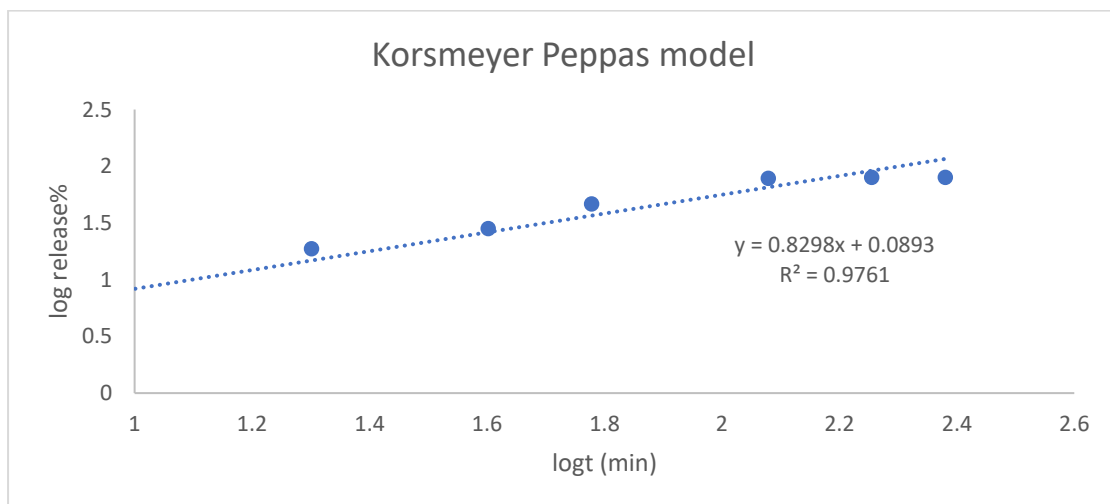
Διάγραμμα 41: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (30% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.3% v/v) στο κινητικό μοντέλο Higuchi



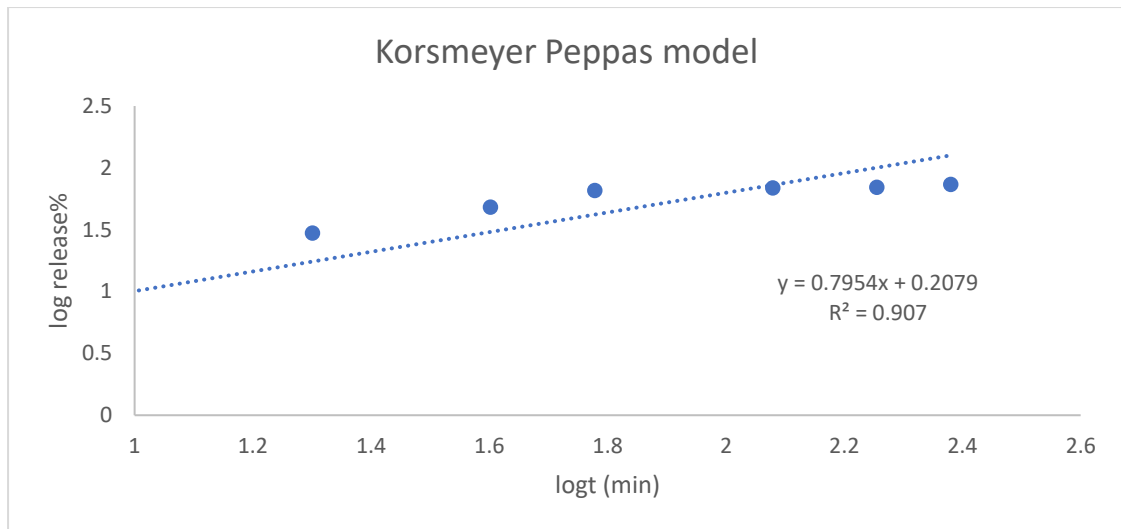
Διάγραμμα 42: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (30% w/w) από τα νανοδοσυστήματα αλγινικού με CaCl₂ (0.05% w/v) στο κινητικό μοντέλο Higuchi



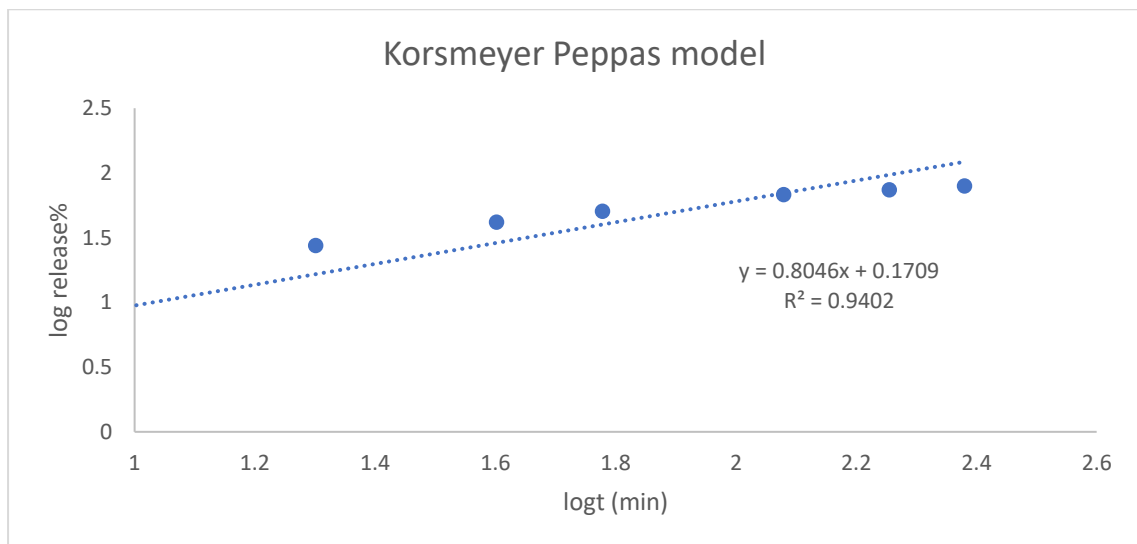
Διάγραμμα 43: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% w/w) από τα νανοδοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.5% v/v) στο ημι-εμπειρικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas



Διάγραμμα 44: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% w/w) από τα νανοδοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.1% v/v) στο ημι-εμπειρικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas



Διάγραμμα 45: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (30% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.3% v/v) στο ημι-εμπειρικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas



Διάγραμμα 46: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (30% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με CaCl₂ (0.05% w/v) στο ημι-εμπειρικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Γραφική περίληψη.....	3
Εικόνα 2: Graphical abstract.....	5
Εικόνα 3: Σύγκριση διαστάσεων νανοκλίμακας.....	10
Εικόνα 4: Εφαρμογές νανοτεχνολογίας στον ιατρικό τομέα	11
Εικόνα 5: Τύποι φαρμακευτικών νανοσυστημάτων που χρησιμοποιούνται στη χορήγηση φαρμάκων	13
Εικόνα 6: Οι δώδεκα αρχές της πράσινης χημείας	14
Εικόνα 7: Ιδιότητες και εφαρμογές των DES στην πράσινη χημεία ^[18]	16
Εικόνα 8: Εφαρμογές των NADES στον επιστημονικό κλάδο.....	17
Εικόνα 9: Χημικές δομές αλγινικού οξέος βάσει τω αλυσίδων G και M	19
Εικόνα 10: Κόκκοι καφέ και βότανα που περιέχουν καφεΐνη	20
Εικόνα 11: Χημική δομή καφεΐνης	21
Εικόνα 12: Χλωριούχο ασβέστιο σε στερεή μορφή λευκών κόκκων	23
Εικόνα 13: Χημική δομή χλωριούχου ασβεστίου, CaCl ₂	24
Εικόνα 14: Σχηματική απεικόνιση της αρχής λειτουργίας της δυναμικής σκέδασης φωτός..	26
Εικόνα 15: Σχηματική απεικόνιση του ζ-δυναμικού και των στρωμάτων γύρω από το σωματίδιο.....	29
Εικόνα 16: Προφίλ αποδέσμευσης δραστικής ουσίας σε σύγκριση με κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης	31
Εικόνα 17: Χρήση NADES ως παράγοντα διασύνδεσης για τον σχηματισμό νανοσωματιδίων αλγινικού	40
Εικόνα 18: Διασπορά νανοσυστήματος με χρήση NADES Glu:LA ως διαλύτη σε ξηρή μορφή έπειτα από την χρήση του vacuum freeze dryer.....	40
Εικόνα 19: Διασπορά νανοσυστήματος με χρήση του διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου ως διαλύτη σε ξηρή μορφή έπειτα από τη χρήση του vacuum freeze dryer	42
Εικόνα 20: Διασπορά σε ξηρή μορφή τοποθετημένη σε σφαιρική φιάλη των 50 mL με 20 mL αιθανόλη	45
Εικόνα 21: Διασπορά νανοσυστημάτων αλγινικού εντός μεμβράνης διαπήδησης υπό ήπια μαγνητική ανάδευση στους 32°C.....	48

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1: Πρότυπη καμπύλη αναφοράς της καφεΐνης	46
Διάγραμμα 2: Προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης περιεκτικότητας 10% w/w από τα νανοσυστήματα αλγινικού με χρήση διαλύτη NADES περιεκτικότητας 0.1, 0.3 και 0.5 % v/v σε pH=5.5 και T=32°C	58
Διάγραμμα 3: Προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης περιεκτικότητας 10, 20 και 30% w/w από τα νανοσυστήματα αλγινικού με χρήση διαλύτη NADES περιεκτικότητας 0.3 % v/v σε pH=5.5 και T=32°C.....	59
Διάγραμμα 4: Προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης περιεκτικότητας 10, 20 και 30% w/w από τα νανοσυστήματα αλγινικού με χρήση διαλύτη CaCl ₂ περιεκτικότητας 0.05 % w/v σε pH=5.5 και T=32°C.....	60
Διάγραμμα 5: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% και 20% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.3% v/v) στο κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης	61
Διάγραμμα 6: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% και 20% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με CaCl ₂ (0.05% w/v) στο κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης	62
Διάγραμμα 7: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% και 20% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.3% v/v) στο κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης	62
Διάγραμμα 8: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με CaCl ₂ (0.05% w/v) στο κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης	63
Διάγραμμα 9: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% και 20% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.3% v/v) στο κινητικό μοντέλο Higuchi.....	63
Διάγραμμα 10: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% και 20% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με CaCl ₂ (0.05% w/v) στο κινητικό μοντέλο Higuchi.....	64
Διάγραμμα 11: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% και 20% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.3% v/v) στο κινητικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas.....	64
Διάγραμμα 12: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% και 20% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με CaCl ₂ (0.05% w/v) στο κινητικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas.....	65
Διάγραμμα 13: Προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης περιεκτικότητας 10% w/w από τα νανοσυστήματα αλγινικού με χρήση διαλύτη NADES περιεκτικότητας 0.3 % v/v και διαλύτη CaCl ₂ περιεκτικότητας 0.05% w/v σε pH=5.5 και T=32°C, έως τις 2 πρώτες μέρες	66
Διάγραμμα 14: Προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης περιεκτικότητας 10% w/w από τα νανοσυστήματα αλγινικού με χρήση διαλύτη NADES περιεκτικότητας 0.3 % v/v και διαλύτη CaCl ₂ περιεκτικότητας 0.05% w/v σε pH=5.5 και T=32°C, έως τις 4 πρώτες ώρες	67
Διάγραμμα 15: Κατανομή μεγέθους του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 10% w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.3% v/v.....	77

Διάγραμμα 16: Z-δυναμικό του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 10% w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.3% v/v.....	77
Διάγραμμα 17: Κατανομή μεγέθους του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 10% w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.5% v/v.....	77
Διάγραμμα 18: Z-δυναμικό του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 10%w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.5% v/v.....	78
Διάγραμμα 19: Κατανομή μεγέθους του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 10% w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.1% v/v.....	78
Διάγραμμα 20: Z-δυναμικό του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 10%w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.1% v/v.....	78
Διάγραμμα 21: Κατανομή μεγέθους του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 20% w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.3% v/v.....	79
Διάγραμμα 22: Z-δυναμικό του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 20%w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.3% v/v.....	79
Διάγραμμα 23: Κατανομή μεγέθους του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 30% w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.3% v/v.....	79
Διάγραμμα 24: Z-δυναμικό του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 20%w/w διαλυμένη σε NADES περιεκτικότητας 0.3% v/v.....	80
Διάγραμμα 25: Κατανομή μεγέθους του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 10% w/w διαλυμένη σε CaCl ₂ περιεκτικότητας 0.05% w/v	80
Διάγραμμα 26: Z-δυναμικό του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 10% w/w διαλυμένη σε CaCl ₂ περιεκτικότητας 0.05% w/v	80
Διάγραμμα 27: Κατανομή μεγέθους του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 20% w/w διαλυμένη σε CaCl ₂ περιεκτικότητας 0.05% w/v	81
Διάγραμμα 28: Z-δυναμικό του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 20% w/w διαλυμένη σε CaCl ₂ περιεκτικότητας 0.05% w/v	81
Διάγραμμα 29: Κατανομή μεγέθους του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 30% w/w διαλυμένη σε CaCl ₂ περιεκτικότητας 0.05% w/v	81
Διάγραμμα 30: Z-δυναμικό του νανοσυστήματος με καφεΐνη περιεκτικότητας 30% w/w διαλυμένη σε CaCl ₂ περιεκτικότητας 0.05% w/v	82
Διάγραμμα 31: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.5% v/v) στο κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης	82
Διάγραμμα 32: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.1% v/v) στο κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης	82
Διάγραμμα 33: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (30% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.3% v/v) στο κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης	83
Διάγραμμα 34: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (30% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με CaCl ₂ (0.05% w/v) στο κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης	83
Διάγραμμα 35: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.5% v/v) στο κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης	83
Διάγραμμα 36: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.1% v/v) στο κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης	84

Διάγραμμα 37: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (30% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.3% v/v) στο κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης	84
Διάγραμμα 38: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (30% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με CaCl ₂ (0.05% w/v) στο κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης	84
Διάγραμμα 39: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.5% v/v) στο κινητικό μοντέλο Higuchi.....	85
Διάγραμμα 40: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.1% v/v) στο κινητικό μοντέλο Higuchi.....	85
Διάγραμμα 41: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (30% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.3% v/v) στο κινητικό μοντέλο Higuchi.....	85
Διάγραμμα 42: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (30% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με CaCl ₂ (0.05% w/v) στο κινητικό μοντέλο Higuchi.....	86
Διάγραμμα 43: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.5% v/v) στο ημι-εμπειρικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas	86
Διάγραμμα 44: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (10% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.1% v/v) στο ημι-εμπειρικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas	86
Διάγραμμα 45: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (30% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με NADES (0.3% v/v) στο ημι-εμπειρικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas	87
Διάγραμμα 46: Προσαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων του προφίλ αποδέσμευσης της καφεΐνης in vitro (30% w/w) από τα νανοσυστήματα αλγινικού με CaCl ₂ (0.05% w/v) στο ημι-εμπειρικό μοντέλο Korsmeyer-Peppas	87

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή και τον χαρακτηρισμό των νανοσυστημάτων	36
Πίνακας 2: Όργανα και συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή και τον χαρακτηρισμό των νανοσυστημάτων	36
Πίνακας 3: Περιεκτικότητες παραμέτρων για τη σύνθεση νανοσυστημάτων αλγινικού με διαλυμένη σε NADES ποσότητα καφεΐνης	39
Πίνακας 4: Περιεκτικότητες παραμέτρων για τη σύνθεση νανοσυστημάτων αλγινικού με διαλυμένη σε CaCl ₂ ποσότητα καφεΐνης.....	43
Πίνακας 5: Αποτελέσματα οργάνου DLS για δείγματα με σταθερή περιεκτικότητα σε καφεΐνη	50
Πίνακας 6:Αποτελέσματα οργάνου DLS για δείγματα με σταθερή περιεκτικότητα σε NADES	50
Πίνακας 7: Αποτελέσματα οργάνου DLS για δείγματα με σταθερή περιεκτικότητα σε διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου.....	52
Πίνακας 8: Αποτελέσματα οργάνου DLS για δείγματα με σταθερή περιεκτικότητα σε καφεΐνη και χρήση διαφορετικού διαλύτη	53
Πίνακας 9: Αποτελέσματα αποδόσεων εγκλωβισμού σε συστήματα με σταθερής περιεκτικότητας καφεΐνη διαλυμένη σε NADES	55
Πίνακας 10: Αποτελέσματα αποδόσεων εγκλωβισμού σε συστήματα με καφεΐνη διαλυμένη σε σταθερής περιεκτικότητας NADES	55
Πίνακας 11: Αποτελέσματα αποδόσεων εγκλωβισμού σε συστήματα με καφεΐνη διαλυμένη σε σταθερής περιεκτικότητας διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου	56
Πίνακας 12: Αποτελέσματα αποδόσεων εγκλωβισμού σε συστήματα με καφεΐνη σταθερής περιεκτικότητας διαλυμένη σε NADES και CaCl ₂	57