



**ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ  
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ  
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ  
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ  
ΪΔΡΥΜΑ  
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

---

ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗ ΑΛΒΟΥΜΙΝΗΣ ΑΠΟ ΥΔΡΟΠΗΚΤΕΣ ΑΜΥΛΟΥ

**ΚΑΡΑΜΑΛΛΑΚΗ ΜΑΡΓΑΡΙΤΑ**  
**ΣΑΡΙΔΟΥ ΕΛΙΝΑ**

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2017

ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗ ΑΛΒΟΥΜΙΝΗΣ ΑΠΟ ΥΔΡΟΠΗΚΤΕΣ ΑΜΥΛΟΥ

---

**ΚΑΡΑΜΑΛΛΑΚΗ ΜΑΡΓΑΡΙΤΑ**  
**ΣΑΡΙΔΟΥ ΕΛΙΝΑ**

Υποβολή Πτυχιακής διατριβής που αποτελεί μέρος των απαιτήσεων για την απονομή του Πτυχίου του τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων του ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης.

ΙΟΥΝΙΟΣ 2017

Εισηγητής: Βασίλης Καραγεωργίου

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα θέλαμε να εκφράσουμε τις ευχαριστίες μας στον καθηγητή μας και επιβλέποντα της πτυχιακής μας Καραγεωργίου Βασίλη για την εμπιστοσύνη που μας έδειξε, και την υπομονή που έκανε καθώς και για την πρόσφορα των συμβουλών του καθ' όλη την διάρκεια της συγγραφής αυτής της πτυχιακής εργασίας.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα θέλαμε να εκφράσουμε στην καθηγήτρια του τμήματος Ιατρικών Εργαστηρίων κα. Μακρή για την παραχώρηση του εργαστηριακού χώρου και των μηχανημάτων του τμήματος της, καθώς και στον Δρ Κώστα Τσιόπτσια για την καθοδήγηση και την βοήθεια του κατά τη διάρκεια υλοποίησης της πτυχιακής μας εργασίας.

# ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗ ΑΛΒΟΥΜΙΝΗΣ ΑΠΟ ΥΔΡΟΠΗΚΤΕΣ ΑΜΥΛΟΥ

ΚΑΡΑΜΑΛΛΑΚΗ ΜΑΡΓΑΡΙΤΑ

ΣΑΡΙΔΟΥ ΕΛΙΝΑ

ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας και Τεχνολογίας Τροφίμων & Διατροφής, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, 54101 Θεσσαλονίκη, Τ.Θ. 14561

## Περίληψη

Οι υδροπηκτές έχουν γίνει πολύ δημοφιλείς λόγω των μοναδικών ιδιοτήτων τους, όπως η υψηλή περιεκτικότητα σε νερό, η δομή τους, η ελαστικότητα και η βιοσυμβατότητα τους. Φυσικά και συνθετικά υδρόφιλα πολυμερή μπορεί να συνδεθούν φυσικώς ή χημικώς με σταυροειδείς δεσμούς με σκοπό την παραγωγή υδροπηκτών. Στην παρούσα εργασία έχει μελετηθεί, η απελευθέρωση αλβουμίνης από δίκτυα υδροπηκτών οι οποίες είναι φτιαγμένες από φυσικό άμυλο πατάτας με παράγοντα διασύνδεσης το τριμεταφωσφορικό τρινάτριο. Η μετρήσεις έγιναν στο σύνολο των 5 ωρών. Ακόμη μελετήθηκε η αποδόμηση των υδροπηκτών στον χρόνο για 6 εβδομάδες, η δομή τους με την χρήση συνεστιακού μικροσκοπίου σάρωσης με ακτίνες Laser καθώς και οι μηχανικές τους ιδιότητες. Οι μηχανικές ιδιότητες που μελετήθηκαν ήταν το μέτρο ελαστικότητας και το πορώδες με έγχυση υπερκρίσιμου διοξειδίου του άνθρακα και χωρίς. Το συμπέρασμα που εξήχθη είναι πως γίνεται να προσαρμοστούν οι τελικές μηχανικές ιδιότητες και η μορφολογία των υδροπηκτών με την μεταβολή των παραμέτρων επεξεργασίας χρησιμοποιώντας υπερκρίσιμο διοξείδιο άνθρακα για την αύξηση του πορώδους. Παρατηρήθηκε η βραδεία αποδόμηση των υδροπηκτών αφού στις 6 εβδομάδες είχαν απώλεια βάρους λιγότερο από 40%. Όσον αφορά την απελευθέρωση της αλβουμίνης, οι δομές αυτές έδειξαν ταχεία απελευθέρωση της πρωτεΐνης (περίπου 80% στις 4 ώρες), απόδοση η οποία δεν είναι πάντα επιθυμητή στον τομέα της μεταφοράς φαρμάκων .

<b>Εισαγωγή</b>	<b>1</b>
<b>1 Βιβλιογραφική ανασκόπηση</b>	<b>2</b>
1.1 Άμυλο	2
1.2 Αμυλόζη και αμυλοπηκτίνη	2
1.2.1 Αμυλόζη	2
1.2.2 Αμυλοπηκτίνη	3
1.3 Υδροπηκτές	5
1.3.1 Πολυμερή και υλικά υδροπηκτών	6
1.3.1.1 Συνθετικά πολυμερή	6
1.3.1.2 Φυσικά πολυμερή	7
1.3.2 Ταξινόμηση με βάση τη φυσική δομή	7
1.3.3 Ταξινόμηση με βάση τους σταυροδεσμούς	7
1.3.4 Δημιουργία πόρων	8
1.3.5 Εφαρμογές υδροπηκτών	10
1.3.5.1 Υδροπηκτές για μεταφορά φαρμάκων	11
1.3.6 Υδροπηκτές αμύλου	12
1.3.7 Συστήματα μεταφοράς φαρμάκων/θρεπτικών συστατικών	15
1.3.8 Μηχανικές ιδιότητες υδροπηκτών	16
1.3.8.1 Μέτρο ελαστικότητας (Young's modulus)	17
1.3.8.2 Μηχανισμός απορρόφησης νερού	18
1.3.8.3 Μηχανισμοί διόγκωσης	19
1.4 Αποδόμηση υδροπηκτών	20
1.4.1 Μη ενζυμική αποδόμηση	21
1.4.2 Ενζυμική αποδόμηση	21
1.5 Υπερκρίσιμα ρευστά	22
1.5.1 Υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα	23
1.5.2 Υδροπηκτές με χρήση υπερκρίσιμων ρευστών ή διοξειδίου του άνθρακα	24
<b>2 Σκοπός εργασίας</b>	<b>26</b>
<b>3 Πειραματικό μέρος</b>	<b>27</b>
3.1 Υλικά	27
3.1.1 Αντιδραστήρια	27
3.1.2 Σκεύη	27
3.1.3 Συσκευές και όργανα μέτρησης	28
3.1.4 Μέθοδοι παρασκευής και αναλύσεων	28
3.1.4.1 Παρασκευή υδροπηκτών αμύλου	28
3.1.4.2 Επεξεργασία με υπερκρίσιμο διοξείδιο άνθρακα	29
3.1.4.3 Μακροσκοπική εκτίμηση	29
3.1.4.4 Τομές σε ψυχόμενο μικροτόμο	29
3.1.4.5 Συνεστιακή μικροσκόπηση	29
3.1.4.6 Μέτρηση πορώδους	29
3.1.4.7 Ανάλυση μηχανικών ιδιοτήτων	30
3.1.4.8 Απελευθέρωση Αλβουμίνης	30

3.1.4.9	Αποδόμηση υδροπηκτών	30
3.1.4.10	Στατιστική ανάλυση	31
<b>4</b>	<b>Αποτελέσματα</b>	<b>32</b>
4.1	Μακροσκοπική εκτίμηση	32
4.2	Συνεστιακή μικροσκόπηση	32
4.3	Μέτρηση πορώδους	33
4.4	Μέτρο ελαστικότητας	34
4.5	Απελευθέρωση αλβουμίνης	36
4.6	Αποδόμηση υδροπηκτών	37
<b>5</b>	<b>Συμπεράσματα</b>	<b>38</b>
<b>6</b>	<b>Προτάσεις για μελλοντική έρευνα</b>	<b>39</b>
<b>7</b>	<b>Βιβλιογραφία</b>	<b>40</b>

## Εισαγωγή

Υδροπηκτή είναι ένα δυαδικό σύστημα πολυμερούς και υγρού, τα οποία σχηματίζουν τρισδιάστατη δομή πλέγματος που συγκρατεί μεγάλη ποσότητα του νερού ή βιολογικών υγρών στο εσωτερικό του (Sudhakar *et al.*, 2015). Οι υδροπηκτές έχουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά όπως η διόγκωση τους και οι μηχανικές τους ιδιότητες, και λόγω αυτών έχουν μεγάλες δυνατότητες να χρησιμοποιηθούν σε πολλές βιοϊατρικές επιστήμες, από την οφθαλμολογία ως φακοί επαφής μέχρι και σε συστήματα ελεγχόμενης έκλυσης ουσιών σε συστήματα χορήγησης φαρμάκων και την μηχανική ιστών (Lanza *et al.*, 2000).

Οι ερευνητές με την πάροδο των χρόνων έχουν ορίσει τις υδροπηκτές με πολλούς διαφορετικούς τρόπους. Ο πιο κοινός από αυτούς είναι ότι οι υδροπηκτές είναι ένα εγκάρσια συνδεδεμένο πολυμερικό δίκτυο, το οποίο διογκώνεται στο νερό, και παράγεται από την απλή αντίδραση ενός ή περισσότερων μονομερών. Ένας άλλος ορισμός είναι αυτός του πολυμερούς υλικού που έχει την ικανότητα να διογκώνεται και να διατηρεί ένα σημαντικό κλάσμα νερού εντός της δομής του, αλλά δεν διαλύεται στο νερό. Οι υδροπηκτές έχουν λάβει ιδιαίτερη προσοχή τα τελευταία 50 χρόνια, λόγω της χρησιμότητας τους σε ευρύ φάσμα εφαρμογών. Κατέχουν επίσης έναν βαθμό ευελιξίας πολύ παρόμοιο με τον φυσικό ιστό λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας τους σε νερό (Ahmed *et al.*, 2012).

Το άμυλο είναι μια μακρομοριακή ουσία που αποτελείται κυρίως από αμυλόζη και αμυλοπηκτίνη. Έχει χρησιμοποιηθεί ως πρώτη ύλη στον τομέα της τεχνολογίας τροφίμων όσο και στον τομέα της βιοϊατρικής λόγω των χαρακτηριστικών του τα οποία είναι το χαμηλό κόστος, η βιοαποικοδομητικότητα, η μη τοξικότητα του, η αφθονία του στη φύση και το γεγονός ότι η απομόνωσή του είναι σχετικά απλή (Li *et al.*, 2009).

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της απελευθέρωσης της αλβουμίνης από υδροπηκτές αμύλου, η δημιουργία των πόρων στο δίκτυο με τη χρήση υπερκρίσιμου διοξειδίου του άνθρακα, η ανάλυση των μηχανικών τους ιδιοτήτων καθώς και η αποδόμηση των παραπάνω υδροπηκτών.

# 1 Βιβλιογραφική ανασκόπηση

## 1.1 Άμυλο

Το άμυλο είναι ευρέως κατανεμημένο στα διάφορα όργανα των φυτών ως αποθηκευτικός υδατάνθρακας. Ως συστατικό πολλών τροφίμων, είναι επίσης η σημαντικότερη πηγή υδατανθράκων στην διατροφή των ανθρώπων (Belitz & Grosch, 2006). Είναι ένα φυσικό άφθονο πολυμερές το οποίο είναι , όπως και η χιτοζάνη, βιοσυμβατό, βιοδιασπώμενο και μη τοξικό. Επιπλέον η μη ιονική φύση του το καθιστά συμβατό με διάφορα είδη των πολυμερών συμπεριλαμβανομένης και της χιτοζάνης. Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, οι φυσικές ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένης της ευελιξίας υδροπηκτών χιτοζάνης μπορεί να βελτιωθεί με την ανάμιξη χιτοζάνης με προζελατινοποιημένο άμυλο (Jaturorn *et al.*, 2010). Οι αμυλόκοκκοι σχηματίζονται στους αμυλοπλάστες. Αυτοί οι κόκκοι είναι απλοί ή σύνθετοι και αποτελούνται από ομόκεντρες ή έκκεντρες στοιβάδες διαφορετικής πυκνότητας. Είναι ποικίλου μεγέθους (2-150μm), κατανομής μεγέθους, και μορφής. Εκτός από την αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη, συνήθως περιέχουν μικρές ποσότητες πρωτεϊνών και λιπιδίων. Με βάση πειράματα περίθλασης ακτινών X, οι αμυλόκοκκοι θεωρείται ότι έχουν ημικρυσταλλικό χαρακτήρα, που δείχνει μεγάλο βαθμό προσανατολισμού των μορίων των γλυκανών. Περίπου το 70% της μάζας ενός αμυλοκόκκου θεωρείται ότι είναι άμορφο και περίπου το 30% είναι κρυσταλλικό. Οι άμορφες περιοχές περιέχουν την κύρια ποσότητα της αμυλόζης, άλλα και ένα σημαντικό μέρος της αμυλοπηκτίνης. Οι κρυσταλλικές περιοχές αποτελούνται πρώτιστα από αμυλοπηκτίνη (Belitz & Grosch, 2006).

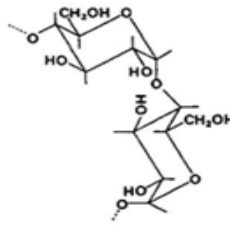
Ως υδροκολλοειδής παράγοντας ζελατινοποίησης, το άμυλο στη φυσική του κατάσταση μπορεί να χρησιμοποιηθεί άμεσα στην επεξεργασία τροφίμων λόγω των ιδιοτήτων του. Επιπλέον μπορεί να τροποποιηθεί σε μεγάλο βαθμό φυσικά, χημικά και ενζυμικά έτσι ώστε να βελτιωθούν οι λειτουργικές του ιδιότητες για επιθυμητές εφαρμογές. (Enas *et al.*, 2012)

## 1.2 Αμυλόζη και αμυλοπηκτίνη

### 1.2.1 Αμυλόζη

Η αμυλόζη είναι ένα πολυμερές αλυσίδας α-D-γλυκοπυρανοζυλικών μορίων με σύνδεση 1-4 όπως φαίνεται στο Σχήμα 1.





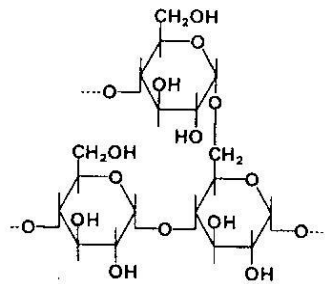
**Σχήμα 1** Δομή της αμυλόζης (Belitz & Grosch, 2006)

Η αμυλόζη ουσιαστικά είναι ένα γραμμικό πολυμερές ενωμένο με γλυκοζιτικούς δεσμούς τύπου 1,4. Το μοριακό βάρος και ο βαθμός πολυμερισμού της αμυλόζης γενικά κυμαίνεται από 105 έως 106 και 700 σε 5000 μονάδες άνυδρης γλυκόζης, αντίστοιχα. Η αμυλόζη από άμυλο δημητριακών έχει πολύ μικρότερο μέσο μοριακό μέγεθος από εκείνα που απαντώνται σε ρίζες και κονδύλους (Enas *et al.*, 2012).

Ο βαθμός πολυμερισμού στο άμυλο σιταριού είναι 1.000-2.000, ενώ στην πατάτα μπορεί να φτάσει 4.500. Αυτό αντιστοιχεί σε μοριακό βάρος 150.000-750.000 g/mole. Πειράματα περίθλασης ακτινών X που πραγματοποιήθηκαν σε προσανατολισμένες ίνες αμυλόζης που είχαν υποστεί χημική κατεργασία, κάνουν δυνατή την κατάταξη σε καθορισμένα μοριακά δομικά στοιχεία, τύπου A και B. Τα δομικά στοιχεία του τύπου B είναι αριστερόστροφες διπλές έλικες οι οποίες στοιβάζονται σε παράλληλη διάταξη. Μια στροφή της διπλής έλικας είναι 2,1 nm σε μήκος, που αντιστοιχεί σε 6 μόρια γλυκόζης, δηλαδή, τρία μόρια από κάθε αλυσίδα γλυκάνης. Οι γέφυρες υδρογόνου μεταξύ των μορίων αμυλόζης σταθεροποιούν την διπλή έλικα. Το κεντρικό κανάλι που περιβάλλεται από έξι διπλές έλικες γεμίζει με νερό (36 μόρια νερού ανά μονάδα κελιού). Ο A-τύπος είναι εξαιρετικά παρόμοιος με τον B-τύπο, εκτός από το ότι το κεντρικό κανάλι καταλαμβάνεται από μια άλλη διπλή έλικα, καθιστώντας τη στοιβάξη πιο πυκνή. Σε αυτόν τον τύπο, παρεμβάλλονται μόνο οχτώ μόρια νερού ανά μονάδα κελιού μεταξύ των διπλών ελίκων (Belitz & Grosch, 2006).

### 1.2.2 Αμυλοπηκτίνη

Η αμυλοπηκτίνη είναι μια διακλαδισμένη γλυκάνη με πλευρικές αλυσίδες που συνδέονται στην 6-θέση των μορίων γλυκόζης της κύριας αλυσίδας όπως φαίνεται στο Σχήμα 2.



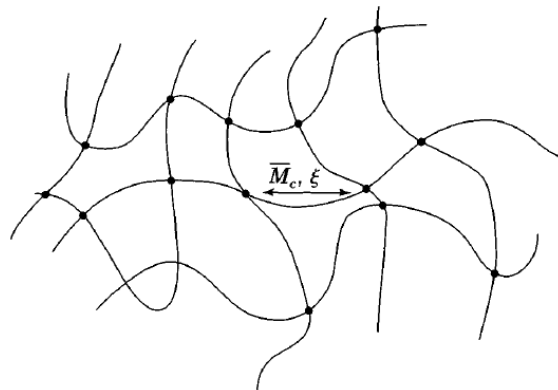
**Σχήμα 2** Δομή της αμυλοπηκτίνης (Belitz & Grosch, 2006)

Ένας μέσος όρος 15-30 μορίων γλυκόζης βρίσκονται στις βραχείς διακλαδώσεις της αλυσίδας και κάθε μια από αυτές τις αλυσίδες των διακλαδώσεων ενώνεται με διασύνδεση του C-1 στο C-6 της επόμενης αλυσίδας. Το δομικό μοντέλο της αμυλοπηκτίνης έχει τις διπλές έλικες σε παράλληλη διάταξη όπως και η αμυλόζη. Το μοριακό βάρος της αμυλοπηκτίνης είναι πολύ μεγάλο, στην κλίμακα  $10^7$  έως  $7 \times 10^8$  και ένα μόριο φωσφορικού οξέος υπάρχει για κατά μέσο όρο 400 μόρια γλυκόζης. Η αμυλοπηκτίνη, όταν θερμαίνεται στο νερό, σχηματίζει ένα διαφανές, ιδιαίτερα ιξώδες διάλυμα, το οποίο είναι γλοιώδες, κολλώδες και συνεκτικό. Αντίθετα με την αμυλόζη, δεν υπάρχει καμία τάση προς αναδιάταξη (Belitz & Grosch, 2006).

Η αμυλόζη και η αμυλοπηκτίνη είναι σημαντικές στα τρόφιμα και σε εφαρμογές στις βιοϊατρικές επιστήμες, δεδομένου ότι έχουν εντελώς διαφορετικές δομές και φυσικοχημικές ιδιότητες. Άμυλο που περιέχει αμυλόζη σε διάφορες περιεκτικότητες παρουσιάζει ενδιαφέρον λόγω της χρησιμότητας του σε διαφορετικές εφαρμογές και της σημαντικής επίδρασης του στα χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων. Το άμυλο με χαμηλή και υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη παρέχει εντελώς διαφορετικές δομές και φυσικοχημικές ιδιότητες κατά την διάρκεια των διάφορων εφαρμογών του. Η αναλογία αμυλόζης-αμυλοπηκτίνης είναι σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την δομή και τις ιδιότητες του αμύλου (Zhou *et al.*, 2015).

### 1.3 Υδροπηκτές

Οι υδροπηκτές έχουν τραβήξει το ενδιαφέρον λόγω της υψηλής περιεκτικότητας τους σε νερό και της σχετικής δυνατότητας τους για εφαρμογή σε πολλές βιοϊατρικές εφαρμογές. Αποτελούν μια μοναδική ομάδα υλικών με αρκετά μεγάλο φάσμα εφαρμογών. Οι πρώτες χρήσεις τους στην ιατρική περιελάμβαναν την κατασκευή μαλακών φακών επαφής και εμπλάστρων από πολυμερή μεθακρυλικού. Τα πλέγματα τους αποτελούνται από ομοπολυμερή ή συμπολυμερή και είναι αδιάλυτα παρουσία χημικών ή φυσικών διασυνδετών (crosslinkers). Επίσης, έχουν την ικανότητα να διογκώνονται σε ένα υδατικό μέσο και μπορούν να συγκρατούν νερό από 10-20% μέχρι και πάνω από χιλιάδες φορές το ξηρό τους βάρος (Peppas *et al.*, 2000). Οι υδροπηκτές ταξινομούνται με βάση τη φύση των δεσμών μεταξύ των πολυμερών. Έτσι, χωρίζονται σε φυσικές και χημικές. Οι φυσικές ορίζονται αυτές που τα μόρια των πολυμερών συγκρατούνται με μοριακούς δεσμούς και δευτερογενείς δυνάμεις περιλαμβάνοντας ιοντικές αλληλεπιδράσεις, δεσμούς υδρογόνου, υδρόφοβους δεσμούς και δυνάμεις Vander Waals. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις μπορεί να παύουν να ισχύουν όταν συμβαίνουν αλλαγές στην ιοντική ισχύ, το pH, την θερμοκρασία, την εφαρμογή πίεσης και την προσθήκη ειδικών διαλυμένων ουσιών. Οι χημικές υδροπηκτές ορίζονται αυτές που τα πολυμερή συγκρατούνται με ομοιοπολικούς δεσμούς.



**Σχήμα 3** Σχηματική αναπαράσταση της δομής της υδροπηκτής με διασταυρούμενους δεσμούς.  $\bar{M}_c$  είναι το μοριακό βάρος της αλυσίδας ανάμεσα στους διασταυρούμενους δεσμούς (•) και  $\xi$  είναι το μέγεθος του βρόχου. (Ganji *et al.*, 2010)

Οι υδροπηκτές έχουν οριστεί ως συστήματα δύο ή πολλαπλών συστατικών, τα οποία αποτελούνται από ένα τρισδιάστατο δίκτυο αλυσίδων πολυμερούς και νερού το οποίο γεμίζει

το χώρο μεταξύ των μακρομορίων. Ανάλογα με τις ιδιότητες του πολυμερούς ή των πολυμερών που χρησιμοποιούνται, τη φύση καθώς και την πυκνότητα των δεσμών του δικτύου, τα δίκτυα αυτά σε κατάσταση ισορροπίας μπορεί να περιέχουν διάφορες ποσότητες νερού. Συνήθως, στη διογκωμένη κατάσταση, το κλάσμα μάζας του νερού σε μια υδροπηκτική τέτοιων δικτύων είναι πολύ μεγαλύτερο από το κλάσμα μάζας του πολυμερούς. Στην πράξη για να επιτευχθεί μεγάλος βαθμός διόγκωσης, συνηθίζεται η χρήση συνθετικών πολυμερών τα οποία είναι υδατοδιαλυτά όταν δεν βρίσκονται συνδεδεμένα με σταυροδεσμούς (Enas, 2015).

Οι υδροπηκτές μπορούν να συντεθούν με αρκετούς «κλασσικούς» χημικούς τρόπους. Αυτοί περιλαμβάνουν διαδικασίες ενός σταδίου όπως ο πολυμερισμός και η παράλληλη σύνδεση πολυλειτουργικών μονομερών με διασταυρούμενους δεσμούς, καθώς και διαδικασίες πολλών σταδίων που περιλαμβάνουν τη σύνθεση των μορίων του πολυμερούς το οποίο περιέχει ομάδες που αντιδρούν και επέρχεται η σύνδεση τους με διασταυρούμενους δεσμούς, ενδεχομένως και με την αντίδραση των πολυμερών με κατάλληλους παράγοντες διασυνδέσεως (Enas, 2015).

### **1.3.1 Πολυμερή και υλικά υδροπηκτών**

Υπάρχει μεγάλη ποικιλία συνθετικών και φυσικών υλικών, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή υδροπηκτών. Χρησιμοποιούνται συνθετικά υλικά στα οποία συμπεριλαμβάνονται το οξείδιο του πολυαιθυλενίου (PEO), πολυβινυλική αλκοόλη (PVA) και τα πολυπεπτίδια. Επίσης αντιπροσωπευτικά φυσικά πολυμερή που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή υδροπηκτών είναι η αγαρόζη, η χιτοζάνη, το κολλαγόνο, η ζελατίνη και το υαλουρονικό οξύ (HA) (Barbucci, 2009).

#### **1.3.1.1 Συνθετικά πολυμερή**

Τα συνθετικά πολυμερή συνήθως χρησιμοποιούνται στην μηχανική ιστών λόγω του ότι η χημεία τους και οι ιδιότητες τους είναι ελεγχόμενες και επαναλήψιμες. Για παράδειγμα, τα συνθετικά πολυμερή μπορούν να παρασκευαστούν με επαναληψιμότητα με ειδικά μοριακά βάρη, δομές, αποικοδομήσιμους δεσμούς, και διασταυρούμενους δεσμούς. Αυτές οι ιδιότητες καθορίζουν την πυκνότητα των διασταυρούμενων δεσμών, τις μηχανικές ιδιότητες και τις ιδιότητες αποδόμησης των υδροπηκτών (Barbucci, 2009).

### **1.3.1.2 Φυσικά πολυμερή**

Τα φυσικά πολυμερή χρησιμοποιούνται συχνά στις εφαρμογές στην μηχανική ιστών γιατί είτε είναι συστατικά είτε έχουν μακρομοριακές ιδιότητες παρόμοιες με τη φυσική εξωκυττάρια θεμελιώδη ουσία (ECM). Για παράδειγμα, το κολλαγόνο είναι η κύρια πρωτεΐνη της ECM των ιστών των θηλαστικών και αποτελεί το 25% της μάζας των ολικών πρωτεϊνών των περισσότερων θηλαστικών. Παρομοίως, το υαλουρονικό οξύ βρίσκεται σε διάφορες ποσότητες σε όλους τους ιστούς ενήλικων ζώων. Όπως και το υαλουρονικό οξύ έτσι και η χιτοζάνη είναι υδροφιλική, γραμμικοί πολυσακχαρίτες. Επίσης έχουν δείξει ότι αντιδρούν με ευνοϊκό τρόπο *in vivo* και για αυτό χρησιμοποιούνται ως υλικά παρασκευής ικριωμάτων υδροπηκτών (Barbucci, 2009).

### **1.3.2 Ταξινόμηση με βάση τη φυσική δομή**

Η ταξινόμηση των υδροπηκτών εξαρτάται από την φυσική τους δομή και τη χημική τους σύσταση και χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: άμορφη δομή (μη-κρυσταλλική), ημικρυσταλλική δομή (σύμπλεγμα άμορφης και κρυσταλλικής φάσης) και κρυσταλλική δομή. Εμφανίζονται με τη μορφή πλέγματος, φιλμ ή μικροσφαιριδίων ανάλογα από την τεχνική πολυμερισμού που εφαρμόζεται στην διαδικασία παρασκευής (Enas *et al.*, 2012).

### **1.3.3 Ταξινόμηση με βάση τους σταυροδεσμούς**

Οι υδροπηκτές χωρίζονται σε δύο κατηγορίες βάσει της χημικής ή φυσικής ένωσης των σταυροδεσμών. Οι ενώσεις οι οποίες γίνονται με χημικούς σταυροδεσμούς έχουν μόνιμη σύνδεση, ενώ στα φυσικά συνδεδεμένα δίκτυα οι ενώσεις είναι παροδικές οι οποίες προκύπτουν από το «μπέρδεμα» των αλυσίδων των μακρομορίων ή φυσικές αλληλεπιδράσεις όπως ιοντικοί δεσμοί, δεσμοί υδρογόνου ή υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μακρομορίων (Enas *et al.*, 2012). Στον Πίνακα 1 φαίνονται οι μέθοδοι παρασκευής υδροπηκτών με βάση την διακλάδωση που γίνεται.

**Πίνακας 1** Μέθοδοι παρασκευής υδροπηκτών

	Τύπος υδροπηκτής	Μέθοδος παρασκευής	Πηγή
<b>Φυσική Διακλάδωση</b>	Υδροπηκτική Πολυαιθυλενογλυκόλης- πολυγαλακτικού οξέος	Θέρμανση/ψύξη διαλύματος πολυμερούς	(Hennink & Nostrum, 2002)
	Υδροπηκτική Χιτοζάνης- δεξτράνης	Ιοντική αλληλεπίδραση	(Hennink & Nostrum, 2002)
	Πολυανιονική ξανθάνη με πολυκατιονική χιτοζάνη – πολυιοντικό σύμπλοκο υδροπηκτής.	Συσσωμάτωση συμπλόκων	(Magnin <i>et al.</i> , 2004)
	Υδροπηκτές καρβοξυμεθυλοκυτταρίνης	Δημιουργία δεσμών υδρογόνου	(Takigami <i>et al.</i> , 2007)
	Υδροπηκτές από κόμμι ghatti	Ωρίμανση (Συσσωμάτωση με θερμότητα)	(Al-Assaf <i>et al.</i> , 2009)
<b>Χημική διακλάδωση</b>	Υδροπηκτές πολυβινλικής αλκοόλης και ξανθάνης	Ψύξη-απόψυξη	(Hoffman, 2002)
	Υδροπηκτές αμύλου και πολυβινλικής αλκοόλης	Χημικοί παράγοντες διασύνδεσης	(Pal <i>et al.</i> , 2008)
	Υδροπηκτές καρβοξυμεθυλικού αμύλου	Δημιουργία δεσμών με ακτινοβολία	(Yoshii & Kume, 2003)

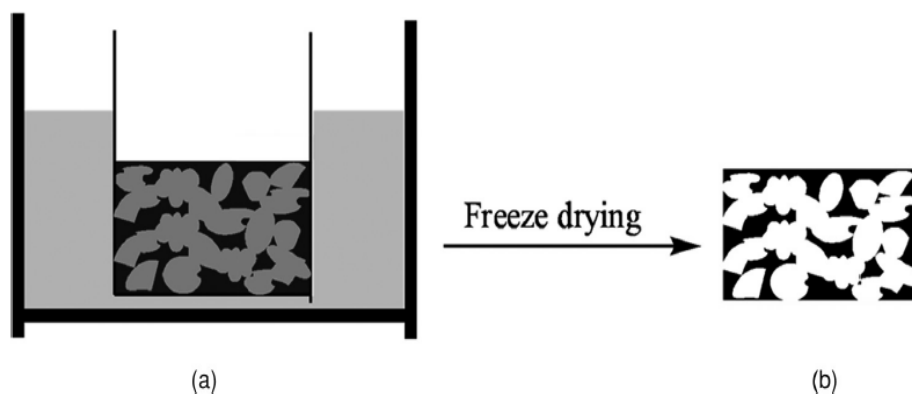
#### 1.3.4 Δημιουργία πόρων

Τα πορώδη πολυμερή έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως σε πολλές εφαρμογές, όπως μηχανική ιστών, μεταφορά φαρμάκων, διαχωρισμούς κλπ. Υπάρχει μια σειρά μεθόδων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή πορωδών πολυμερών. Η ενσωμάτωση πορογόνων ουσιών και η αναστροφή φάσης για την παραγωγή πορωδών πολυμερών δομών είναι κάποιες από αυτές τις μεθόδους. Ένα πορογόνο μπορεί να ενσωματωθεί σε ένα πλέγμα πολυμερούς και κατόπιν να απομακρυνθεί για να δημιουργηθούν οι πόροι στο πολυμερές. Για παράδειγμα, μικροσωματίδια μπορεί να αναμιχθούν με ένα διάλυμα πολυμερούς. Μετά την στερεοποίηση του διαλύματος του πολυμερούς και την απομάκρυνση των σωματιδίων, παράγεται μια πορώδης πολυμερής δομή. Αυτή η μέθοδος είναι γνωστή ως “εκχύλιση σωματιδίων”, η οποία μπορεί να συνδυαστεί και με άλλες μεθόδους για την δημιουργία πολλαπλών πορωδών δομών (Silverstein *et al.*, 2011). Ένα πορογόνο μπορεί να είναι και ένας διαλύτης ο οποίος συμβάλλει στις ιδιότητες των πολυμερών. Αυτές οι ουσίες θα πρέπει να έχουν υψηλό σημείο βρασμού και να είναι αδρανής. Μερικές φορές η επιλογή των πορογόνων μπορεί να έχει κάποια μειονεκτήματα όπως η εσφαλμένη επιλογή ή μπορεί να χρειαστούν πειράματα δοκιμής και σφάλματος. Η επιλογή εξαρτάται από την πολικότητα και την διαλυτότητα του μονομερούς, του πολυμερούς και του πορογόνου και την αλληλεπίδραση μεταξύ τους (Mane, 2016). Διαφορετικοί τύποι διαλυτών ενσωματώνονται ως πορογόνα. Ο διαχωρισμός φάσης προκαλείται κατά τη διάρκεια του πολυμερισμού εντός

των διαλυμάτων με ρύθμιση των ιδιοτήτων του διαλύτη ή με κατάψυξη των διαλυμάτων. Η απομάκρυνση του πορογόνου διαλύτη αφήνει πίσω τις κοιλότητες και δημιουργεί πόρους στα πολυμερή (Silverstein *et al.*, 2011).

Υπάρχουν και άλλοι τρόποι για τον διαχωρισμό φάσεων σε πολυμερή διαλύματα ή πηκτές. Τα υπερκρίσιμα ρευστά είναι διαλύτες που χρησιμοποιούνται στη θερμοκρασία και την πίεση πάνω από το κρίσιμο σημείο τους. Οι ιδιότητες της διαλυτότητας τους μπορούν απλά να ρυθμιστούν με αλλαγή της θερμοκρασίας και της πίεσης. Τα υπερκρίσιμα ρευστά χρησιμοποιούνται επίσης ως πορογόνα ή παράγοντες αφρισμού για την παραγωγή πορωδών πολυμερών ή χρησιμοποιούνται ως μη διαλύτες σε διαδικασία αναστροφής φάσης για την παρασκευή πορωδών μεμβρανών. Εκτός από τον θερμικά προκαλούμενο διαχωρισμό φάσης, που γίνεται φέρνοντας ένα διάλυμα πολυμερούς σε επαφή με έναν μη διαλύτη, χρησιμοποιείται για την δημιουργία πορωδών μεμβρανών ή μικροκυτταρικών αφρών (Silverstein *et al.*, 2011).

Πολυμερή διαλύματα που παρασκευάζονται σε θερμοκρασία δωματίου ή αυξημένη θερμοκρασία, μπορούν επίσης να καταψυχθούν με επαφή με ένα κρύο υγρό όπως υγρό άζωτο. Ο κατεψυγμένος διαλύτης απομακρύνεται με λυοφιλίωση για να παραχθούν πορώδη πολυμερή υλικά. Το μέγεθος και ο προσανατολισμός των κατεψυγμένων κρυστάλλων του διαλύτη όπως ο πάγος μπορεί να συντονιστούν με ρύθμιση των συνθηκών κατάψυξης. Αυτό θα μπορούσε να οδηγήσει σε ένα εύκολο έλεγχο της πορώδους δομής (Silverstein *et al.*, 2011; Mane, 2016). Η λυοφιλίωση είναι μια διαδικασία κατά την οποία ένα διάλυμα καταψύχεται και στη συνέχεια τοποθετείται σε έναν λυοφιλιωτή για την απομάκρυνση του κατεψυγμένου διαλύτη υπό κενό. Ο κατεψυγμένος διαλύτης λειτουργεί σαν πορογόνο. Η πορώδης δομή δημιουργείται αφού απομακρυνθεί το πορογόνο με εξάχνωση υπό κενό όπως φαίνεται στο *Σχήμα 4*. Το κλειδί για την επιτυχία της λυοφιλοποίησης είναι ότι τα δείγματα πρέπει να παραμείνουν κατεψυγμένα καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας για να σταθεροποιήσουν στη δομή. Εναλλακτικά, ο ρυθμός εξάχνωσης του διαλύτη πρέπει να είναι ταχύτερος από τον ρυθμό τήξης του κατεψυγμένου διαλύτη (Silverstein *et al.*, 2011).



**Σχήμα 4** Λυοφιλίωση για δημιουργία παρόδων υλικών. (a) το διάλυμα καταψύχεται και (b) το πορώδες υλικό ανακτάται μετά την εξάχνωση του διαλύτη. (Silverstein *et al.*, 2011)

### 1.3.5 Εφαρμογές υδροπηκτών

Με την δημιουργία των πρώτων συνθετικών υδροπηκτών, η τεχνολογία αυτή μπορεί να εφαρμοστεί σε προϊόντα υγιεινής, στον γεωργικό τομέα, σε συστήματα χορήγησης φαρμάκων, για αφυδάτωση άνθρακα, για παρασκευή τεχνητού χιονιού, σε πρόσθετα τροφίμων, σε φαρμακευτικά προϊόντα, σε βιοϊατρικές εφαρμογές μηχανικής των ιστών και φάρμακα για ανάπλαση, για την κάλυψη τραυμάτων κλπ. (Enas *et al.*, 2012).

Το συνεχώς αυξανόμενο φάσμα των λειτουργικών μονομερών και μακρομερών διευρύνει τη δυνατότητα εφαρμογής τους. Έχουν χρησιμοποιηθεί σε υλικά για απορρόφηση νερού βασισμένα σε βιοπολυμερή με εμβολιασμό υδρόφιλων μονομερών σε άμυλο και άλλους πολυσακχαρίτες. Τα προϊόντα από υδροπηκτές που χρησιμοποιούνται για εφαρμογές που έχουν σχέση με την υγιεινή βασίζονται κυρίως στο ακρυλικό οξύ και τα άλατα του. Το ακρυλαμίδιο είναι ένα κύριο συστατικό που χρησιμοποιείται για την παρασκευή γεωργικών προϊόντων από υδροπηκτές. Σε διάφορες δημοσιεύσεις επί του θέματος αυτού έχουν συζητηθεί λεπτομερώς οι συνθετικές μέθοδοι και οι εφαρμογές των υδροπηκτών (Πίνακας 2) (Enas *et al.*, 2012).



**Πίνακας 2** Εφαρμογές υδροπηκτών και τύποι πολυμερών (Gulrez *et al.*,2011).

Εφαρμογές	Πολυμερή (Υδροπηκτές)
<b>Περιποίηση τραυμάτων</b>	Πολυουρεθάνιο,
	Πολυαιθυλενογλυκόλη (polyethylene glycol)
	πολυπροπυλενογλυκόλη (polypropylene glycol)
	Πολυβινυλοπυρρολιδόνη (polyvinylpyrrolidone)
	Ξανθάνη, Μεθυλοκυτταρίνη (methyl cellulose)
	Καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη (carboxymethyl cellulose)
<b>Μεταφορά φαρμάκων , φαρμακευτικές εφαρμογές</b>	Υαλουρονάνη και άλλα υδροκολλοειδή
	Αμυλο, Χιτοζάνη
	Πολυακρυλικό οξύ (polyacrylic acid)
	Καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη (carboxymethyl cellulose)
	Πολυβινλική αλκοόλη (polyvinyl alcohol)
	Υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη (hydroxypropyl methyl cellulose)
	Μεθακρυλικό οξύ (methacrylic acid)
Κ-καραγεννάνη (κ-carrageenan)	
<b>Οδοντιατρικά υλικά</b>	Υδροκολλοειδή (Ghatti, Karaya, Kerensis gum)
<b>Μηχανική ιστών, εμφυτεύματα</b>	Πολυακρυλικό οξύ (polyacrylic acid)
	Υαλουρονάνη (yaluronan)
	Κολλαγόνο
<b>Ενέσιμα πολυμερικά συστήματα</b>	Χιτοζάνη
	Πολυεστέρες
<b>Τεχνικά προϊόντα (καλλυντικά, φαρμακευτικά)</b>	Αμυλο, χιτίνη, χιτοζάνη, ξανθάνη, πηκτίνη
	Καραγεννάνη, κόμμι γκουάρ
<b>Άλλα (Γεωργία, επεξεργασία αποβλήτων, διαχωρισμός κ.λπ.)</b>	Αμυλο, ξανθάνη
	Πολυβινυλομεθυλαιθέρα (poly vinyl methyl ether)

### 1.3.5.1 Υδροπηκτές για μεταφορά φαρμάκων

Οι συνθετικές υδροπηκτές χρησιμοποιούνται στη μεταφορά φαρμάκων κυρίως λόγω του ότι η διαπερατότητα τους μπορεί να ελεγχθεί για υδατοδιαλυτές ουσίες και εμφανίζουν γενικά καλή βιοσυμβατότητα. Οι υδροπηκτές είναι πολυμερή υλικά που μπορούν να απορροφήσουν και να διατηρήσουν νερό εντός της δομής τους. Αυτή η ικανότητα τους τα κάνει χρήσιμα σε εφαρμογές μεταφοράς φαρμάκων. Η φυσική κατάσταση του φαρμάκου σε τέτοια συστήματα μεταφοράς εξαρτάται από τη διαλυτότητα του φαρμάκου στο πλέγμα. Το φάρμακο θα μπορούσε είτε να διαλυθεί τελείως στο πλέγμα ή ένα κλάσμα του ενσωματωμένου φαρμάκου θα μπορούσε να διαλυθεί και το υπόλοιπο να διασπαρθεί στο πλέγμα. Για να μοντελοποιηθεί

η κινητική της απελευθέρωσης του φαρμάκου από αυτές τις μορφές δοσολογίας είναι απαραίτητο να είναι γνωστή η φυσική κατάσταση του φαρμάκου στο πλέγμα. (Chasin & Langer, 1990)

Οι υδροπηκτές διογκώνονται απορροφώντας νερό αλλά δεν διαλύονται. Η αύξηση του όγκου περιορίζεται από το βαθμό των διασταυρούμενων δεσμών. Ο ελάχιστος αριθμός των διασταυρούμενων δεσμών που χρειάζονται για να διαμορφωθεί τρισδιάστατο πλέγμα είναι κατά προσέγγιση 1,5 δεσμοί ανά αλυσίδα και αυτός ο αριθμός αποδίδει την μέγιστη δυνατή διαστολή χωρίς να διαχωρίζονται οι αλυσίδες σε ένα ομοιογενές διάλυμα. Μια υδροπηκτική μπορεί να περιέχει περισσότερο από 95% του βάρους της σε νερό και έτσι έχει πολλά κοινά με ζωντανούς μαλακούς ιστούς.

Οι υδροπηκτές έχουν πολλές πιθανές χρήσεις στον τομέα της βιοϊατρικής, οι οποίες κυμαίνονται από υλικά για την κατασκευή προσθετικού μέλους για μαλακούς ιστούς ή επενδύσεις για καρδιακές βαλβίδες ή πρόσθεση των αιμοφόρων αγγείων, σε πλέγματα που απορροφούν μόρια φαρμάκου και να τα απελευθερώνουν με διάχυση.

Επιπλέον μελλοντικές εφαρμογές περιλαμβάνουν την χρήση τους ως υποστρώματα για ένζυμα ή ακινητοποίηση αντιγόνων και ως υλικά που ευνοούν την ανάπτυξη των ιστών. Οι υδροπηκτές μπορεί να είναι βιοσταθερές ή μπορεί να είναι βιοδιαβρώσιμες. Η διάβρωση μπορεί να συμβεί με υδρόλυση των αλυσίδων ή με διάσπαση των διασταυρούμενων δεσμών. (Chasin & Langer, 1990)

### 1.3.6 *Υδροπηκτές αμύλου*

Οι υδροπηκτές αμύλου παίζουν σημαντικό ρόλο ως μέσο μεταφοράς σε βιοϊατρικές και φαρμακευτικές εφαρμογές λόγω του ότι είναι υδρόφιλες, βιοσυμβατές και βιοαποικοδομήσιμες. Παρασκευάζονται συνήθως με ακτινοβολία και χημική τροποποίηση για να ενισχυθεί η υδροφιλικότητα του φυσικού αμύλου και να αξιοποιηθεί η μη-τοξικότητα τους, η βιοσυμβατότητα τους, η βιοαποικοδομητικότητα τους και η αντιβακτηριδιακή τους δράση σε ευρείες εφαρμογές στους τομείς της βιοϊατρικής, φαρμακευτικής, της γεωργίας, της βιολογίας και της περιβαλλοντικής προστασίας (Lapidot & Kost, 2001). Άλλοι τρόποι παρασκευής τους φαίνονται στον *Πίνακα 3*.

**Πίνακας 3** Τρόποι παρασκευής υδροπηκτών αμύλου

Υδροπηκτές	Τρόπος παρασκευής	Πηγή
Άμυλο καλαμποκιού/ Αιθυλενο-συν-βινυλική αλκοόλη	Πολυμερισμός ελεύθερων ριζών ακρυλαμιδίου και ακρυλικού οξέος	(Elvira <i>et al.</i> , 2002)
Άμυλο αραβοσίτου	Συμπολυμερισμός μονομερών βινυλίου σε πολυσακχαρίτη παρουσία ενός παράγοντα δημιουργίας σταυροδεσμών.	(Athawale & Lele., 1998)
Άμυλο/N-βινυλοπυρρολιδόνη	Συμπολυμερισμός με ακτινοβολία και επεξεργασία σταυροδεσμών	(Raafat <i>et al.</i> , 2013)
Μικροσωματίδια από άμυλο	Δημιουργία σταυροδεσμών στο γαλάκτωμα παρουσία παράγοντα διασύνδεσης	(Li <i>et al.</i> , 2009)
Άμυλο-χιτοζάνη	Δημιουργία σταυροδεσμών με αναγωγική αλκυλίωση	(Baran <i>et al.</i> , 2004)

Οι υδροπηκτές με βάση το άμυλο χρησιμοποιούνται ως φορείς φαρμάκων για παρατεταμένη έκλυση φαρμάκων σε συγκεκριμένη περιοχή με διόγκωση, διάχυση ή υδρολυτική αποικοδόμηση. Η ζελατινοποίηση είναι η χαρακτηριστική διαδικασία στην οποία ζελατινοποιημένα μόρια αμύλου αρχίζουν να επανασυνδέονται και σχηματίζουν ένα τρισδιάστατο δίκτυο υδροπηκτής κατά την ψύξη, κυρίως λόγω των δεσμών υδρογόνου μεταξύ των υδροξυλικών ομάδων των αλυσίδων αμύλου. Μετά τη ζελατινοποίηση και κατά την ψύξη, ειδικά κατά την αποθήκευση, γίνεται αναδιαμόρφωση ως αποτέλεσμα της επανασύνδεσης και ανακρυστάλλωσης των μορίων του αμύλου, που τροποποιεί περαιτέρω την δομή του δικτύου της υδροπηκτής, η οποία επηρεάζει την υφή και την διάρκεια ζωής των πηκτών αμύλου (Elvira *et al.*, 2002).

Σε πολλά άμυλα, η επίδραση του pH επί της αντοχής της πηκτής είναι οριακή. Ωστόσο, στο άμυλο πατάτας, η μέγιστη αντοχή της πηκτής λαμβάνει χώρα σε pH 8.5 και μειώνεται σημαντικά με την προσθήκη αλάτων, λόγω των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των φωσφορικών ομάδων και των προστιθέμενων κατιόντων, τα οποία αναστέλλουν τους

φυσιολογικούς σταυροειδείς δεσμούς. Η προσθήκη των αλάτων επηρεάζει την ζελατινοποίηση του αμύλου, την διόγκωση, την ρεολογία, το βαθμό ζελοποίησης, την αντοχή της πηκτής και της αναδιαμόρφωσης, ανάλογα με τον τύπο του άλατος και την συγκέντρωσή του. (Susheel, 2016)

Στον τομέα της γεωργίας, οι υδροπηκτές αμύλου που παρασκευάζονται είτε με σταυροειδείς δεσμούς είτε με πολυμερισμό ενεργούν ως υπεραπορροφητικά προϊόντα για την κατακράτηση νερού από το έδαφος και την ύδρευση των φυτών και επίσης χρησιμοποιούνται ως συστήματα ελεγχόμενης έκλυσης για τη βελτίωση της ανάπτυξης των φυτών και την παραγωγή φυτικών προϊόντων. Τα συστήματα ελεγχόμενης έκλυσης παρουσιάζουν πολλά πλεονεκτήματα, όπως στην ελεγχόμενη ή βραδεία έκλυση της βασικής δραστικής ουσίας (λιπάσματα και φυτοφάρμακα), μείωση της δοσολογίας, σταθεροποίηση της βασικής δραστικής ουσίας ενάντια στην περιβαλλοντική αποικοδόμηση (φως, αέρας, υγρασία, μικροοργανισμοί), μείωση της ρύπανσης του περιβάλλοντος. (Ahmed *et al.*, 2012)

Οι υδροπηκτές αμύλου, χρησιμοποιούνται για την διατήρηση τροφίμων ως μεμβράνες για να ρυθμίζουν την υγρασία και την συγκέντρωση οξυγόνου/διοξειδίου του άνθρακα σε φρούτα και λαχανικά και ως ψυκτικό μέσο για να διατηρηθούν φρέσκα τα τρόφιμα. Επίσης οι υδροπηκτές αμύλου έχουν την εξαιρετική ικανότητα να απομακρύνουν ιόντα βαρέων μετάλλων από υγρά απόβλητα. Μείγματα αμύλου με αιθυλενοβινυλική αλκοόλη, οξική κυτταρίνη, πολυκαπρολακτόνη και πολυγαλακτικό οξύ έχουν προταθεί ως πιθανά εναλλακτικά βιοαποικοδομήσιμα υλικά για ένα ευρύ φάσμα βιοϊατρικών εφαρμογών, συμπεριλαμβανομένων των υδροπηκτών για ελεγχόμενη χορήγηση φαρμάκου και υποκατάστατων των οστών. Η δομή και οι λειτουργικές ιδιότητες αυτών των υλικών εξαρτώνται από τα συστατικά του μίγματος, την τεχνική επεξεργασίας υλικού, την ενσωμάτωση και τη φύση των προσθέτων και τα ενισχυτικά πληρωτικά υλικά. Με την ενσωμάτωση των α-αμυλασών και των ενζύμων κυτταρίνης σε συστήματα ικριωμάτων με βάση το άμυλο, οι ρυθμοί αποικοδόμησης μπορούν να προσαρμοστούν (Dumitriu & Popa, 2013).

Ως κάλυμμα για επούλωση πληγών, οι υδροπηκτές αμύλου βοηθούν να διατηρηθεί μια σχετικά σταθερή θερμοκρασία με την εφαρμογή τους στο δέρμα και δρουν ως εμπόδιο για τους μικροοργανισμούς όπως ακριβώς και οι ιατρικές ταινίες.

Στα συστήματα μεταφοράς φαρμάκων, τα φάρμακα και τα βιοενεργά συστατικά παγιδεύονται στην μήτρα της πηκτής κατά τον πολυμερισμό ή εισάγονται με απορρόφηση

διαλύματος φαρμάκου στην πηκτή (Ahmed *et al.*, 2012).Στον Πίνακα 4 παρουσιάζονται ουσίες που έχουν εγκλειστεί σε υδροπηκτές αμύλου ή σε μικροσωματίδια αμύλου.

**Πίνακας 4** Ουσίες που έχουν εγκλειστεί σε υδροπηκτές ή μικροσωματίδια αμύλου

	<b>Υλικό</b>	<b>ουσία</b>	<b>Πηγή</b>
<b>Υδροπηκτές</b>	Άμυλο πατάτας	Λυσοζύμη	(Hennink <i>et al.</i> , 2012)
	Άμυλο/N-βινυλοπυρρολιδόνη	Βιταμίνη B12	(Eid, 2008)
	Άμυλο/ πολυμεθακρυλικό οξύ	μυκητοκτόνο thiram	(Singh <i>et al.</i> , 2008)
	Άμυλο καλαμποκιού	Αλβουμίνη	(Guilherme <i>et al.</i> ,2012)
<b>Μικροσωματίδια</b>	Τροποποιημένο άμυλο πατάτας	Μελλοφαινικό άλας νατρίου	(Malafaya <i>et al.</i> ,2006)
	Άμυλο πατάτας	τολβουταμίδη	(Malakar <i>et al.</i> ,2013)
	Άμυλο αραβοσίτου	A-αμυλάση	(Azevedo & Reis, 2009)

Επιπλέον, οι υδροπηκτές αμύλου χρησιμοποιούνται και σαν λιπαντικό για χειρουργικά γάντια και ουροκαθετήρες. Στη μηχανική ιστών και μεταμόσχευση κυττάρων, οι υδροπηκτές με βάση το άμυλο μπορούν να χρησιμοποιηθούν προσωρινά ή ημιμόνιμα, όπως τα διασπώμενα ικρίωματα, προσωρινά τεχνητά υποκατάστατα δέρματος, προστατευτικά ιστών για την πρόληψη της μετεγχειρητικής προσκόλλησης και επιχρίσματα για συσκευές καλλιέργειας κυττάρων. Άλλες εμπορικές δυνατότητες μπορεί να περιλαμβάνουν προϊόντα προσωπικής φροντίδας και βιομηχανίες παιχνιδιών (Ahmed *et al.*, 2012).

### 1.3.7 Συστήματα μεταφοράς φαρμάκων/θρεπτικών συστατικών

Ένα σύστημα μεταφοράς φαρμάκου ορίζεται ως ένα σκεύασμα ή μία συσκευή που επιτρέπει την εισαγωγή μιας θεραπευτικής ουσίας στο σώμα και βελτιώνει την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια του ελέγχοντας τον ρυθμό, την ώρα και τον τόπο απελευθέρωσης των ουσιών στο σώμα. Ένα σύστημα μεταφοράς φαρμάκου αποτελεί διασύνδεση μεταξύ του ασθενούς και του φαρμάκου. Μπορεί να είναι ένα σκεύασμα φαρμάκου που χορηγείται για θεραπευτικό σκοπό ή μια διάταξη που χρησιμοποιείται για να μεταφέρει μια ουσία (Kewal, 2008).

Ιστορικά, η πιο βολική και συνήθως χρησιμοποιούμενη οδός χορήγησης φαρμάκων είναι η κατάποση. Το πρώτο σύστημα ελεγχόμενης απελευθέρωσης φαρμακευτικών ουσιών ήταν τα χάπια με επικάλυψη. Η τεχνολογία επικάλυψης αναπτύχθηκε στα μέσα έως τα τέλη του 1800 με την ανακάλυψη της ζελατίνης και την επικάλυψη με ζάχαρη (Ranade *et al.*, 2004).

Στα μέσα έως τα τέλη της δεκαετίας του 1960, ο όρος «ελεγχόμενη μεταφορά φαρμάκων» χρησιμοποιήθηκε για να περιγράψουν νέες τεχνικές και μορφές δοσολογίας. Αυτές οι τεχνικές συνήθως περιελάμβαναν τον έλεγχο της διάλυσης του φαρμάκου, αλλά είχαν και επιπλέον στόχους. Οι κύριοι στόχοι ενός συστήματος ελεγχόμενης απελευθέρωσης ήταν να ενισχυθεί η ασφάλεια και να παρατείνει τη διάρκεια της δράσης του φαρμάκου. Σήμερα, υπάρχουν έχουμε επίσης συστήματα ελεγχόμενης απελευθέρωσης τα οποία έχουν σχεδιαστεί για να παράγουν πιο αξιόπιστη απορρόφηση και βελτιώνουν την βιοδιαθεσιμότητα και την αποτελεσματικότητα της μεταφοράς της ουσίας (Ranade *et al.*, 2004).

Αν και μερικά φάρμακα έχουν παρενέργειες που δεν μπορούν να εξαλειφθούν σε οποιαδήποτε μορφή δοσολογίας, πολλά φάρμακα εμφανίζουν ανεπιθύμητη συμπεριφορά που σχετίζεται ειδικά με μια συγκεκριμένη οδό χορήγησης. Μία πρόσφατη προσπάθεια να εξαλειφθούν μερικά από τα προβλήματα των παραδοσιακών μορφών δοσολογίας είναι η ανάπτυξη συστημάτων διαδερμικής χορήγησης (Ranade *et al.*, 2004).

Χορήγηση των φαρμάκων από το στόμα έχει ασκηθεί για αιώνες και, πιο πρόσφατα, με την χορήγηση δισκίων και καψουλών. Ενέσιμα σκευάσματα άρχισαν να χρησιμοποιούνται περίπου πριν από 130 χρόνια, αλλά έχουν γίνει αποδεκτά με την σωστή αποστείρωση. Η τοπική εφαρμογή έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για αιώνες, κυρίως στην θεραπεία τοπικών ασθενειών του δέρματος. Η τοπική θεραπεία γίνεται μόνο με το φάρμακο να διαπερνά τα εξωτερικά στρώματα του δέρματος για τη θεραπεία της περιοχής που νοσεί, με την ελπίδα ότι αυτό συμβαίνει με ελάχιστη ή καμία συστηματική συσσώρευση (Ranade *et al.*, 2004).

### 1.3.8 Μηχανικές ιδιότητες υδροπηκτών

Η κατανόηση των μηχανικών ιδιοτήτων των υδροπηκτών είναι πολύ σημαντική για την συγκέντρωση πληροφοριών για την δομή τους. Η μηχανική συμπεριφορά τους μπορεί να περιγραφεί χρησιμοποιώντας θεωρίες οι οποίες αναλύουν την δομή των πολυμερών και καθορίζουν το ενεργό μοριακό βάρος ανάμεσα στους διασταυρούμενους δεσμούς, όπως επίσης δίνουν και πληροφορίες για τον αριθμό των ενεργών ελαστικών αλυσίδων.

### 1.3.8.1 Μέτρο ελαστικότητας (Young's modulus)

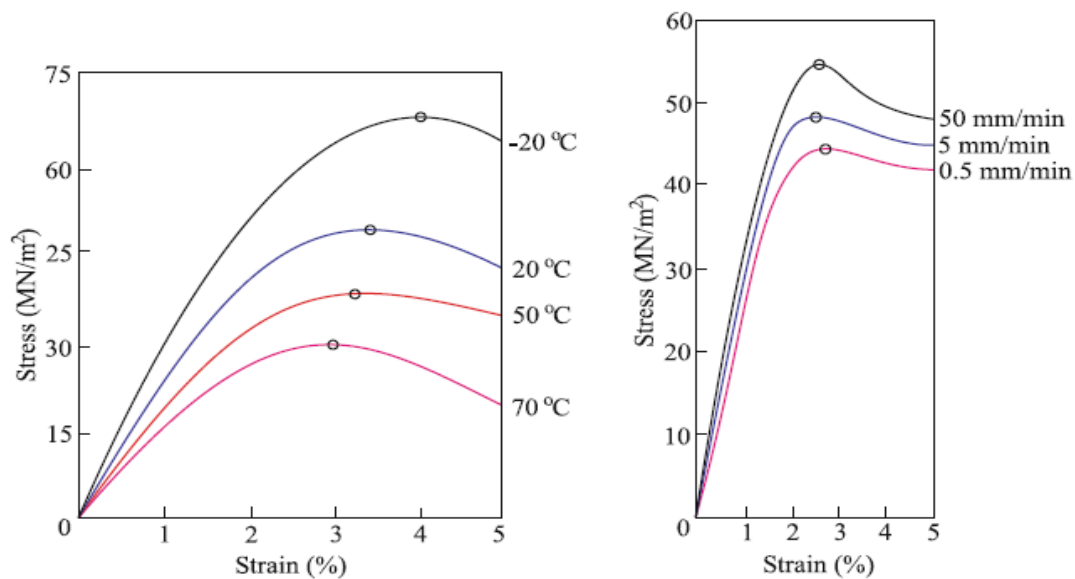
Οι φυσικές ιδιότητες του πολυμερούς εξαρτώνται από το βαθμό της διασταύρωσης, από το μοριακό βάρος και από την κανονικότητα του πλέγματος. Όσο αυξάνεται η πυκνότητα των συνδέσεων διασταύρωσης, μειώνεται η ελαστικότητα.

Το γραμμικό πολυμερές μέχρι την ανάπτυξη διασταυρούμενων συνδέσεων που αντιστοιχούν στην εμφάνιση πήγματος, υπακούει στους νόμους της ιξωδοελαστικότητας. Η συνεχιζόμενη ανάπτυξη της πυκνότητας των συνδέσεων διασταύρωσης μέχρι μετρίως πυκνών πλεγμάτων, αλλάζει τη μηχανική συμπεριφορά του υλικού, που υπακούει στους νόμους της ελαστικότητας ελαστομερούς. Η επιπλέον ανάπτυξη της πυκνότητας των συνδέσεων οδηγεί σε πολύ πυκνά πλέγματα. Οι ιδιότητες του ελαστομερούς καταστρέφονται και το προϊόν υπακούει στο νόμο της ελαστικής συμπεριφοράς, κατά Hooke (Lorour *et al.*, 1990).

Τα διαγράμματα της καμπύλης τάσης - παραμόρφωσης δείχνουν τη σχέση τάσης - παραμόρφωσης κατά τη θραύση. Μέσω αυτών των διαγραμμάτων είναι δυνατός ο προσδιορισμός ορισμένων χαρακτηριστικών μεγεθών, όπως το μέτρο ελαστικότητας και η τάση θραύσης, και εκφράζεται από την ακόλουθη εξίσωση:

$$\tau = E \cdot \gamma \quad (1)$$

όπου :  $\tau$  είναι η τάση,  $E$  το μέτρο ελαστικότητας ή μέτρο Young,  $\gamma$  η παραμόρφωση. Από το σημείο που η καμπύλη παύει να είναι ευθύγραμμη, εμφανίζεται δηλαδή μια κλίση, μπορεί να υπολογιστεί το μέτρο ελαστικότητας το οποίο σχετίζεται με τη δυσκαμψία του υλικού και την αντοχή του στη παραμόρφωση. Στο σημείο διαρροής η τάση παραμένει σταθερή ενώ η παραμόρφωση συνεχίζει να αυξάνεται. Μετά το σημείο διαρροής η τάση αυξάνεται και το δοκίμιο θραύεται (Schmitz, 1966). Εξαιτίας της ιξωδοελαστικής φύσης των πολυμερών η τάση-παραμόρφωση εξαρτάται άμεσα από τη θερμοκρασία και το ρυθμό παραμόρφωσης όπως φαίνεται στο διάγραμμα στο Σχήμα 5.



**Σχήμα 5** Διάγραμμα τάσης-παραμόρφωσης σε σχέση με τη θερμοκρασία και το ρυθμό παραμόρφωσης. Τυπική συμπεριφορά πολυμερούς (Brinson & Brinson, 2015).

Η ελαστική αντοχή του υλικού στην παραμόρφωση υπολογίζεται από το μέτρο ελαστικότητας, για υλικά με γραμμική σχέση τάσης - παραμόρφωσης στην ελαστική περιοχή. Το μέτρο ελαστικότητας σαν πηλίκο της τάσης δια της παραμόρφωσης δεν έχει σταθερή τιμή, αλλά εξαρτάται από τη θερμοκρασία και από το ρυθμό φόρτισης. Η αύξηση της θερμοκρασίας οδηγεί στη μείωση της δυσκαμψίας που αντίθετα αυξάνεται με την αύξηση του ρυθμού του ρυθμού φόρτισης (Schmitz, 1966).

Ένα υλικό λέγεται ότι είναι δύσκαμπτο, όταν το μέτρο ελαστικότητας είναι μεγάλο. Αυτό σημαίνει ότι για τις ίδιες τάσεις η δυσκαμψία ή το μέτρο ελαστικότητας αναλογούν σε μικρές παραμορφώσεις. Όταν ισχύει η σχέση του Hooke το μέτρο ελαστικότητας αποτελεί σταθερή παράμετρο του υλικού, ανεξάρτητη από τη θερμοκρασία και το ρυθμό φόρτισης (Lorouir *et al.*, 1990; Schmitz, 1966).

### 1.3.8.2 Μηχανισμός απορρόφησης νερού

Ο χαρακτήρας του νερού σε μια υδροπηκτή μπορεί να προσδιορίσει την συνολική διαπερατότητα των θρεπτικών ουσιών μέσα στην πηκτή. Όταν η πηκτή είναι ξηρή αρχίζει να απορροφάει νερό, τα πρώτα μόρια του νερού που εισέρχονται στο πήκτωμα ενυδατώνουν τις πιο πολικές ομάδες, τις υδροφιλικές, και με αυτόν τον τρόπο γίνεται η πρωτογενής δέσμευση του νερού. Αφού ενυδατώνονται οι πολικές ομάδες, το δίκτυο διογκώνεται και εκθέτει τις υδροφοβικές ομάδες με τις οποίες γίνεται η δευτερογενής δέσμευση του νερού. Μετά την



αλληλεπίδραση των υδροφοβικών και υδροφιλικών ομάδων με τα μόρια του νερού το δίκτυο απορροφάει επιπλέον νερό λόγω της οσμωτικής πίεσης που ασκείται στο δίκτυο. Η απορρόφηση του επιπλέον νερού προκαλεί την διόγκωση η οποία αντισταθμίζεται με τους ομοιοπολικούς ή διασταυρούμενους δεσμούς και έτσι το δίκτυο γίνεται ελαστικό. Με αυτόν τον τρόπο η υδροπηκτική φτάνει σε ένα επίπεδο διόγκωσης όπου επέρχεται η ισορροπία. Το νερό που απορροφάται αφού φτάσουν οι πολικές και οι υδρόφοβες ομάδες σε κορεσμό ονομάζεται «ελεύθερο νερό» και καταλαμβάνει τον χώρο μεταξύ των αλυσίδων του δικτύου και το κέντρο των μεγαλύτερων πόρων ή κενών που διαθέτει η πηκτή (Hoffman, 2002).

#### **1.3.8.3 Μηχανισμοί διόγκωσης**

Η θεωρία της διόγκωσης αναπτύχθηκε από τους Flory και Rehner το 1943. Εάν ένα μη διασταυρωμένο πολυμερές διαλύεται σε ένα διαλύτη τότε και το διασταυρωμένο πολυμερές θα διογκωθεί στο συγκεκριμένο διαλύτη. Η διόγκωση αποτελεί μια σημαντική μέθοδο προσδιορισμού ιδιοτήτων του πλέγματος, όπως η πυκνότητα. Τα πλέγματα είναι αδιάλυτα σε όλους τους διαλύτες που δεν τα διασπούν. Η επίδραση ενός διαλύτη σε δεδομένο πολυμερές πλέγματος μπορεί να είναι αμελητέα ή οδηγεί στη διόγκωση του (Lorour *et al.*, 1990).

Οι μηχανισμοί διόγκωσης των υδροπηκτών γίνονται με δυο διαφορετικούς μηχανισμούς: βάση της κινητικής που ακολουθούν οι οποίοι είναι οι μηχανισμοί που υπακούουν τον νόμο του Fick (ελεγχόμενοι από διάχυση) και αυτοί που δεν υπακούουν στον νόμο του Fick (ελεγχόμενοι από χαλάρωση). Όταν η διάχυση του νερού συμβαίνει πολύ πιο γρήγορα από την διάταξη των αλυσίδων τότε η κινητική διόγκωσης υπακούει στον νόμο του Fick. (Peppas & Colombo, 1997) Στον Πίνακα 5 αναφέρονται οι κατηγορίες που ταξινομούνται οι υδροπηκτές με βάση το πορώδες, την δομή του και πώς επηρεάζεται ο ρυθμός διόγκωσης τους (Hoffman, 2002).

**Πίνακας 5** Κατηγορίες υδροπηκτών με βάση το πορώδες (Ganji *et al.*, 2010).

Τύπος	Μορφολογία	Τύπος απορροφημένου νερού	Κύριος μηχανισμός διόγκωσης	Ρυθμός διόγκωσης	Εφαρμογές
Μη-πορώδη	Χωρίς πορώδες δίκτυο	Κυρίως δεσμευμένο	Διάχυση μέσω του ελεύθερου όγκου	Πολύ αργός	Ποικίλες εφαρμογές πχ φακούς επαφής, τεχνητούς μύες
Μικρο-πορώδη	Διακύμανση πορώδους με δομή κλειστών κελιών (100-1000Å)	Κυρίως δεσμευμένο	Συνδυασμός μοριακής διάχυσης και συναγωγής	Αργός	Κυρίως βιοϊατρικές εφαρμογές
Μακρο-πορώδη	Διακύμανση πορώδους με δομή κλειστών κελιών (0,1-1μm)	Κυρίως δεσμευμένο	Διάχυση	Γρήγορος	Κυρίως σε μορφή υπεραπορροφητικών σε πάνες μωρών
Υπερ-πορώδη	Μεγάλο πορώδες με δομή διασυνδεδεμένων ανοιχτών κελιών	Κυρίως ελεύθερο	Τριχοειδής δυνάμεις	Πολύ γρήγορος	Μηχανική ιστών

#### 1.4 Αποδόμηση υδροπηκτών

Πολλά συνθετικά πολυμερή, τα οποία είναι ανθεκτικά στην χημική και φυσική αποδόμηση, παράγονται και χρησιμοποιούνται σε διάφορους κλάδους. Αυτά τα πολυμερή παρουσιάζουν προβλήματα απόρριψης όταν δεν είναι χρήσιμα πια. Ειδικά για τα γεωργικά πλαστικά απόβλητα η μέθοδος απόρριψης τους είναι η βιοαποικοδόμηση. Η βιοαποικοδόμηση αφορά τα ειδικά σχεδιασμένα βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή. Οι αυξημένες ποσότητες παραγόμενων συνθετικών πολυμερών οδηγούν σε αυξανόμενο ενδιαφέρον για την βιοαποικοδόμηση τους. Στην αγορά υπάρχει ένας σημαντικός αριθμός υλικών τα οποία είναι γνωστά για την βιοαποικοδόμηση τους (π.χ. υλικά με βάση το άμυλο, πολυμερή από κυτταρίνη, βακτηριακοί πολυεστέρες). Το κύριο πρόβλημα για τον σχεδιασμό βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών είναι η βελτιστοποίηση των χημικών, φυσικών και μηχανικών τους ιδιοτήτων ( Leja & Lewandowicz, 2010).

Η αποδόμηση των πολυμερών μπορεί να πραγματοποιηθεί με δύο κύριες οδούς την μη-ενζυματική και την ενζυμική αποδόμηση. Αν και η βιοαποικοδόμηση σαν όρος συνήθως ορίζεται ως η αποδόμηση που προκαλείται από βιολογική δραστηριότητα π.χ. ένζυμα,

συνήθως συμβαίνει ταυτόχρονα με την μη-ενζυματική δραστηριότητα όπως π.χ. φωτοαποικοδόμηση και απλή υδρόλυση (Bastioli, 2005).

#### 1.4.1 *Μη ενζυμική αποδόμηση*

Ένας μεγάλος αριθμός πολυμερών υπόκειται σε υδρόλυση, όπως πολυεστέρες, πολυανυδρίτες, πολυαμίδια, πολυανθρακικά, πολυουρεθάνες, πολυουρίες, πολυακετάλες και πολυορθοεστέρες. Τα απαραίτητα στοιχεία για την καταλυτική δραστηριότητα, όπως οξέα και βάσεις, κατιόντα κ.α. συνήθως υπάρχουν στα περισσότερα περιβάλλοντα. Σε αντίθεση με την ενζυμική αποδόμηση όπου ένα υλικό αποδομείται σταδιακά από την επιφάνεια προς το εσωτερικό (κυρίως επειδή τα μακρομοριακά ένζυμα δεν μπορούν να διαχέονται στο εσωτερικό του υλικού), η χημική υδρόλυση ενός στερεού υλικού μπορεί να λάβει χώρα σε όλη την διατομή του, εκτός από τα πολύ υδρόφοβα πολυμερή. Σημαντικά χαρακτηριστικά που επηρεάζουν την υποβάθμιση και τη χημική αποδόμηση και τη διάβρωση του πολυμερούς περιλαμβάνουν τον τύπο των χημικών δεσμών, το pH, τη θερμοκρασία, τη σύνθεση του συμπολυμερούς και την υδροφιλικότητα του (Bastioli, 2005).

Έχει μελετηθεί με μη-ενζυμική αποδόμηση η απώλεια βάρους υδροπηκτών από ακρυλικό οξύ και ακρυλαμίδιο σε διάφορες συγκεντρώσεις. Έχει σημειωθεί ότι κατά τις πρώτες 20 μέρες οι υδροπηκτές έχουν απώλεια βάρους μέχρι 30% ενώ η συνολική απώλεια βάρους κατά την διάρκεια 90 ημερών δεν ξεπέρασε το 40%, ενώ έχει αναφερθεί ότι η απώλεια βάρους αυξάνεται όταν υπάρχει μεγαλύτερη ποσότητα συγκρατημένου νερού στις πηκτές (Elvira *et al.*, 2002).

#### 1.4.2 *Ενζυμική αποδόμηση*

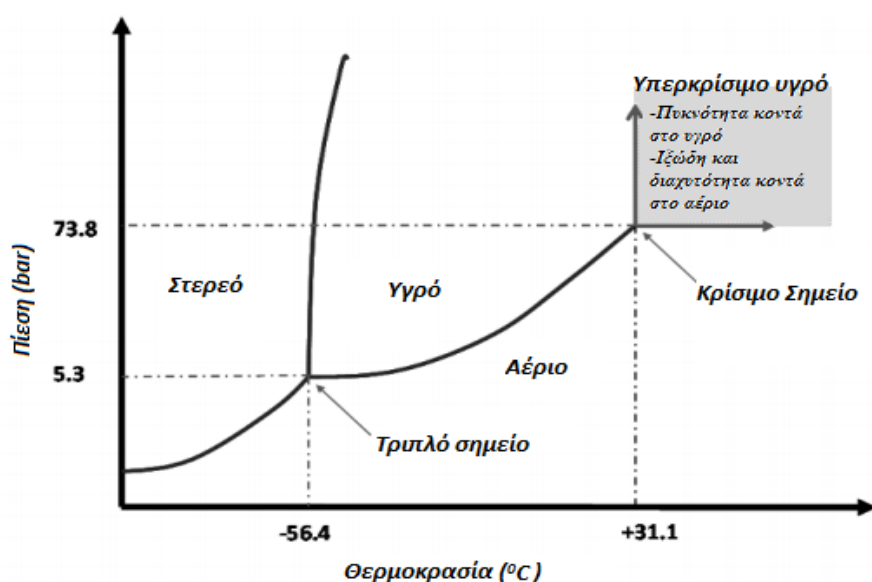
Τα φυσικά πολυμερή αντιπροσωπεύουν τα κύρια συστατικά των ζωντανών κυττάρων τα οποία είναι τα πιο σημαντικά για τον μεταβολισμό, την γενετική πληροφορία (νουκλεϊνικά οξέα) και την δομή (συστατικά κυτταρικών τοιχωμάτων, πρωτεΐνες) των κυττάρων. Αυτά τα πολυμερή πρέπει να αποικοδομούνται εντός των κυττάρων προκειμένου να είναι διαθέσιμα για περιβαλλοντικές μεταβολές και σε άλλους οργανισμούς κατά τη λύση των κυττάρων.

Υπάρχουν πολλοί διαφορετικοί μηχανισμοί αποδόμησης που λειτουργούν συνδυαστικά στη φύση για να αποδομήσουν τα πολυμερή. Η μικροβιολογική αποικοδόμηση μπορεί να λάβει χώρα μέσω της δράσης ενζύμων ή προϊόντων (όπως οξέα και υπεροξειδία) που εκκρίνονται από μικροοργανισμούς (βακτήρια, ζύμες, μύκητες κλπ.). Επίσης, οι μικροοργανισμοί μπορούν να τρώνε και, μερικές φορές, να αφομοιώνουν τα πολυμερή και να προκαλούν μηχανική, χημική ή ενζυματική γήρανση (Bastioli, 2005).

Ενζυμική αποδόμηση με α-αμυλάση σε μικροσφαιρίδια αμύλου έχει δείξει ότι ο ρυθμός αποδόμησης του όγκου των μικροσφαιριδίων αυξάνεται με την αύξηση των ενζυμικών μονάδων στο διάλυμα που βυθίζονται. Επίσης παρατηρήθηκε από τους Hamdi *et al.* ότι αν και η αποδόμηση των μικροσφαιριδίων εξαρτάται από τον αριθμό των ενζυμικών μονάδων και την διάμετρο τους, η αποδόμηση γινόταν στην επιφάνεια των σφαιριδίων προχωρώντας στο εσωτερικό υποδηλώνοντας ότι η ενζυματική αποδόμηση των μικροσφαιριδίων αμύλου είναι ελεγχόμενη στην επιφάνεια (Hamdi *et al.*, 1998)

## 1.5 Υπερκρίσιμα ρευστά

Ένα υπερκρίσιμο ρευστό είναι ένα ρευστό πυκνής φάσης του οποίου η πίεση και η θερμοκρασία είναι πάνω από το κρίσιμο σημείο του. Στο κρίσιμο σημείο μιας ουσίας, εμφανίζεται μία ενιαία φάση η οποία παρουσιάζει πυκνότητα τύπου υγρού, διαπερατότητα τύπου αερίου και πολύ χαμηλή επιφανειακή τάση όπως φαίνεται στο Σχήμα 6. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι πάνω από την κρίσιμη θερμοκρασία, η συμπίεση δίνει μια συνεχή αύξηση στην πυκνότητα του υγρού χωρίς η ουσία να συμπυκνώνεται σε υγρή φάση. Αυτές οι ιδιότητες μπορούν εύκολα να συντονιστούν με αλλαγές στην πίεση και θερμοκρασία, σε αντίθεση με τους συμβατικούς οργανικούς διαλύτες των οποίων οι ιδιότητες είναι πολύ λιγότερο εξαρτώμενοι από τη θερμοκρασία και σχεδόν αμετάβλητες με την πίεση (Bhamidipati *et al.*, 2013).



Σχήμα 4 Διάγραμμα φάσεων CO<sub>2</sub> γύρω από το κρίσιμο σημείο του. (Rivera *et al.*, 2011)

### 1.5.1 Υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα

Το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο υπερκρίσιμο ρευστό είναι υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα ( $\text{ScCO}_2$ ) λόγω της μη αναφλεξιμότητας, μη τοξικότητας και χαμηλής κρίσιμης θερμοκρασίας και πίεσης του. Λόγω του ότι η υπερκρίσιμη κατάσταση του διοξειδίου του άνθρακα μπορεί να επιτευχθεί εύκολα, το κόστος λειτουργίας της διεργασίας είναι χαμηλό σε σχέση με άλλα υπερκρίσιμα ρευστά (Silverstein *et al.*, 2011).

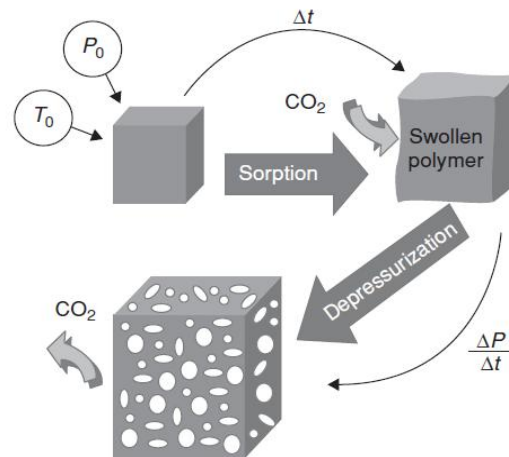
Το διοξείδιο του άνθρακα έχει μία σχετικά χαμηλή κρίσιμη θερμοκρασία και πίεση ( $T_c = 31,1 \text{ }^\circ \text{C}$  και  $P_c = 73,8 \text{ bar}$ ), το οποίο το καθιστά κατάλληλο για την επεξεργασία θερμοευαίσθητων ενώσεων. Η ανάκτηση των τελικών προϊόντων και η απομάκρυνση του  $\text{CO}_2$  μπορεί να γίνει εύκολα χωρίς να αφήνει υπολείμματα (Bhamidipati *et al.*, 2013).

Το  $\text{ScCO}_2$  έχει χρησιμοποιηθεί για την επεξεργασία πολυμερικών υλικών σε τομείς όπως ο πολυμερισμός, και η παραγωγή σωματιδίων ή πορωδών υλικών. Ειδικά για την παραγωγή των πορωδών υλικών, πολυάριθμες τεχνικές έχουν ακολουθηθεί όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 1.3.4. Η κατανομή μεγέθους των πόρων των δομών που δημιουργούνται ποικίλλει ανάλογα με την μέθοδο που εφαρμόζεται και κυμαίνεται από μερικά νανόμετρα έως μερικά μικρόμετρα (Tsiptsias & Panayiotou, 2008).

Το  $\text{ScCO}_2$  προτιμάται για την δημιουργία πορωδών υλικών λόγω του εύκολου διαχωρισμού απλά μειώνοντας την πίεση και της απουσίας υπολειμμάτων από οργανικούς διαλύτες στις διαμορφωμένες δομές (Silverstein *et al.*, 2011). Πορώδη πολυμερή μπορούν να σχηματιστούν με την μέθοδο αφρισμού του αερίου. Σύμφωνα με αυτήν την μέθοδο, το πολυμερές είναι κορεσμένο με ένα αέριο ή υπερκρίσιμο υγρό (συνήθως  $\text{CO}_2$  ή  $\text{N}_2$ ) σε σταθερή θερμοκρασία και πίεση. Τότε το σύστημα έρχεται σε υπερκορεσμένη κατάσταση είτε μειώνοντας την πίεση, είτε αυξάνοντας την θερμοκρασία με αποτέλεσμα την πυρήνωση και την ανάπτυξη πόρων στο εσωτερικό του πολυμερούς (Tsivintzelis *et al.*, 2007).

Ο αφρισμός των πολυμερών με αέρια ή υπερκρίσιμα υγρά επιτρέπει την παραγωγή μικροπορωδών πολυμερών όπως φαίνεται στο *Σχήμα 7*. Τέτοιες δομές αποτελούνται από πόρους με διάμετρο μικρότερη από 10 nm και πυκνότητα πληθυσμού μεγαλύτερα από 10<sup>9</sup> πόρους ανά  $\text{cm}^3$ . Σε σύγκριση με συμπαγή υλικά, οι αφοί αυτοί εμφανίζουν σημαντικά πλεονεκτήματα. Προσφέρουν μειωμένη πυκνότητα όγκου που προκαλεί την εξοικονόμηση υλικών και μειώνει το κόστος μεταφοράς. Επίσης, συχνά εμφανίζουν υψηλή αντοχή στην κρούση, υψηλή σκληρότητα, υψηλή αναλογία ακαμψίας προς βάρος, καθώς και χαμηλή

διηλεκτρική σταθερά και χαμηλή θερμική αγωγιμότητα. Αυτές οι μοναδικές ιδιότητες υποδηλώνουν μικροπορώδη πολυμερή ως υποψήφια υλικά για πολλές βιομηχανικές εφαρμογές, οι οποίες περιλαμβάνουν αεροπλάνα και εξαρτήματα αυτοκινήτων, αθλητικό εξοπλισμό, θερμομόνωση, μικροηλεκτρονικές εφαρμογές και οπτικές συσκευές (Tzivintzelis *et al.*, 2007).



**Σχήμα 5** Σχηματική απεικόνιση αφρισμού με  $\text{ScCO}_2$ .  $P_0$  και  $T_0$  δείχνουν την πίεση και θερμοκρασία δωματίου αντίστοιχα (Silverstein *et al.*, 2011).

### 1.5.2 Υδροπηκτές με χρήση υπερκρίσιμων ρευστών ή διοξειδίου του άνθρακα

Τα πορώδη πολυμερή υλικά έχουν ένα ευρύ πεδίο εφαρμογών, συμπεριλαμβανομένων των διεργασιών διαχωρισμού, των υλικών συσκευασίας, απορροφητικών υλικών, ικριωμάτων στην μηχανική ιστών κ.λπ. Σε γενικές γραμμές και δεδομένου ότι τα πολυμερή χρησιμοποιούνται σε πλήθος εφαρμογών στην καθημερινή ζωή, η επεξεργασία πολυμερών με εναλλακτικούς πράσινους διαλύτες (πχ υπερκρίσιμα υγρά) έχει μεγάλη σημασία σήμερα, λόγω των περιβαλλοντικών ζητημάτων που υπάρχουν (Tzivintzelis *et al.*, 2016).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρατηρείται στην παραγωγή νέων πορωδών υλικών με την επεξεργασία πολυμερών με  $\text{ScCO}_2$  μέσα από μια ποικιλία προσεγγίσεων, όπως αφρισμού, αναστροφή φάσης, σχηματισμό γαλακτωμάτων κλπ. Αν σε ένα σύστημα πολυμερούς-διοξειδίου του άνθρακα επιτευχθεί υπερκορεσμός (είτε με μείωση της πίεσης ή με αύξηση της θερμοκρασίας), σχηματίζονται πυρήνες και αυξάνεται το μέγεθος των πόρων για όσο το πολυμερές παραμένει στην ελαστική κατάσταση. Η πορώδης δομή που δημιουργείται σταθεροποιείται όταν το πολυμερές εισέρχεται στην υαλώδη κατάσταση.

Αυτή η μέθοδος αφρισμού μπορεί να εφαρμοστεί σε άμορφα ή ημικρυσταλλικά πολυμερή με χαμηλό έως μέτριο βαθμό κρυσταλλικότητας. Η παρουσία μιας εξαιρετικά κρυσταλλικής δομής δεν επιτρέπει την ρόφηση του CO<sub>2</sub> από το πολυμερές. Ωστόσο, αν η επεξεργασία γίνεται πάνω από το σημείο τήξης του πολυμερούς τότε είναι εφικτή η ρόφηση του CO<sub>2</sub> και η δημιουργία πορώδους δομής. Σε αυτή την περίπτωση η σταθεροποίηση της δομής που δημιουργείται επιτυγχάνεται με ψύξη και κρυστάλλωση του πολυμερούς (Tsivintzelis *et al.*, 2016).

Ο αφρισμός πολυμερών με ScCO<sub>2</sub> δεν χρειάζονται συνήθως τη χρήση επιβλαβών οργανικών διαλυτών. Ένα τέτοιο πλεονέκτημα καθιστά την μέθοδο κατάλληλη για επεξεργασία πολυμερών για διάφορες βιοϊατρικές εφαρμογές και ιδιαίτερα για παραγωγή πορωδών δομών βιοσυμβατών και βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ικριώματα για εφαρμογές στην μηχανική ιστών. Οι τρέχουσες διεργασίες αφρισμού περιλαμβάνουν τον αφρισμό παρτίδας ή αφρισμό με εξώθηση και χύτευση με έγχυση. Η τεχνική παρτίδας, μερικές φορές αναφέρεται ως στερεά κατάσταση αφρισμού, επιτρέπει την επεξεργασία των πολυμερών σε σημαντικά χαμηλότερες θερμοκρασίες από αυτές που απαιτούνται σε εξώθηση ή χύτευση με έγχυση. Τέτοια μείωση της θερμοκρασίας οδηγεί σε σημαντική αύξηση της διαλυτότητας του CO<sub>2</sub> σε άμορφα πολυμερή, τα οποία στην συνέχεια έχουν ως αποτέλεσμα την μεγαλύτερη πυκνότητα και μικρότερα μεγέθη των πόρων. Αυτά τα χαρακτηριστικά του αφρού όπως η πυκνότητα των πόρων και το μέγεθος τους επίσης βελτιώνονται ταυτόχρονα με τις μηχανικές ιδιότητες, με την προσθήκη μιας μικρής ποσότητας ναοπληρωτικών στο πλέγμα του πολυμερούς. Κατά συνέπεια ο αφρισμός ναοσύνθετων πολυμερών υλικών έχει ως αποτέλεσμα την πορώδη δομή με βελτιωμένες μηχανικές ιδιότητες, αυξημένη πυκνότητα και μειωμένο μέγεθος των πόρων (Tsivintzelis *et al.*, 2016).

## **2 Σκοπός εργασίας**

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη των μηχανικών ιδιοτήτων των υδροπηκτών οι οποίες είναι φτιαγμένες από φυσικό άμυλο πατάτας, η διακύμανση των πόρων που δημιουργούνται στο δίκτυο με την έγχυση υπερκρίσιμου διοξειδίου του άνθρακα, η απελευθέρωση αλβουμίνης από τις υδροπηκτές ως προς τον χρόνο καθώς και η αποδόμηση των υδροπηκτών σε βάθος χρόνου.



## 3 Πειραματικό μέρος

### 3.1 Υλικά

#### 3.1.1 Αντιδραστήρια

- Άμυλο πατάτας
- Τριμεταφωσφορικό τρινάτριο  $\text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_9$
- Καυστικό νάτριο
- Νερό απεσταγμένο και βρύσης
- Χρωστική ουσία Acridine Orange
- Υπερκρίσιμο διοξείδιο άνθρακα

#### 3.1.2 Σκεύη

- Ποτήρια ζέσεως
- Μαγνητάκια ανάδευσης
- Φελοκόφτης
- Τριβλία πετρί
- Παραφίλμ
- Σπάτουλες
- Ογκομετρικό σιφόνιο 1ml, 5ml και 10ml
- Ογκομετρικός κύλινδρος 100ml και 50ml
- Χειρουργικό νυστέρι
- Σύριγγα των 5ml

### 3.1.3 *Συσκευές και όργανα μέτρησης*

- Αναλυτικός ζυγός
- Θερμαινόμενος μαγνητικός αναδευτήρας
- Θερμόμετρο υδραργύρου
- Θερμαινόμενος κλίβανος
- Πιλοτικός λυοφιλοποιητής (Christ, Γερμανία)
- Ψυχόμενος μικροτόμος
- Συσκευή υπερκρίσιμης εκχύλισης
- Συνεστιακό μικροσκόπιο σάρωσης laser (Carl Zeiss, Γερμανία)
- Αναλυτής υφής (TA.XT Plus-StableMicroSystems, Ηνωμένο Βασίλειο)
- Φασματοφωτόμετρο υπεριώδους /ορατού (Thermo, Αμερική)

### 3.1.4 *Μέθοδοι παρασκευής και αναλύσεων*

#### 3.1.4.1 *Παρασκευή υδροπηκτών αμύλου*

Σε αιωρήματα αμύλου πατάτας συγκεντρώσεων 10% w/w, προστέθηκε τριμεταφωσφορικό τρινάτριο (TPP) σε συγκέντρωση 40% w/w επί της ποσότητας αμύλου. Τα μίγματα αναμίχθηκαν για 30 λεπτά στους 50<sup>0</sup>C. Στα 30 λεπτά ανάδευσης, στο κάθε μίγμα προστέθηκαν 3.5ml καυστικό νάτριο (NaOH) 2M. Με την προσθήκη NaOH παρατηρήθηκε άμεση ζελοποίηση και πήξη του μίγματος. Τα μίγματα σφραγίστηκαν με παραφίλμ και αφέθηκαν για 48 ώρες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Οι σχηματισμένες υδροπηκτές κόπηκαν, με φελοκόπη, σε κυλινδρικό σχήμα 15mm μήκος και 13mm διάμετρο, καταψύχθηκαν στους -20°C και ξηράνθηκαν σε λυοφιλιωτή (-25°C, 1030mbar) για 24 ώρες. Τα ξηρά πλέον δείγματα εμβαπτίστηκαν σε καθαρή αιθανόλη για 45 λεπτά και αφέθηκαν για 2 ώρες στον απαγωγό για την απομάκρυνση της.

### 3.1.4.2 Επεξεργασία με υπερκρίσιμο διοξείδιο άνθρακα

Κάποιες από τις υδροπηκτές που παρασκευάστηκαν τοποθετήθηκαν σε συσκευή υπερκρίσιμης εκχύλισης σε διάφορους συνδυασμούς θερμοκρασίας και πίεσης όπως φαίνονται στον Πίνακα 6. Στην συνέχεια αναλύθηκαν ως προς τις μηχανικές τους ιδιότητες

Πίνακας 6 Συνθήκες επεξεργασίας υδροπηκτών με ScCO<sub>2</sub>.

Συνδυασμός	Θερμοκρασία (°C)	Πίεση (bar)	Χρόνος (min)
1	60	120	90
2	60	200	90
3	45	200	90

### 3.1.4.3 Μακροσκοπική εκτίμηση

Παρατηρήθηκαν μακροσκοπικά οι υδροπηκτές ως προς την δομή, διαύγεια και το χρώμα τους.

### 3.1.4.4 Τομές σε ψυχόμενο μικροτόμο

Οι πηκτές εμβαπτίστηκαν για 5 λεπτά σε υδατικό διάλυμα 0,1% w/w της χρωστικής Acridine Orange και μετά σε ειδικό gel ψύξης και κόπηκαν σε ψυχόμενο μικροτόμο.. Οι λεπτές τομές είχαν πάχος 3 και 10 χιλιοστών, ώστε να υποβληθούν σε μικροσκοπική ανάλυση. Η διεργασία αυτή συνδυάζεται με ιδιαίτερα χαμηλές θερμοκρασίες όπου βρίσκεται ο μικροτόμος. Αυτό συμβαίνει για να διατηρηθεί η δομή της υδροπηκτής και να μην καταστραφεί κατά την κοπή με τον μικροτόμο.

### 3.1.4.5 Συνεστιακή μικροσκόπηση

Η παρατήρηση των τομών των υδροπηκτών από τον ψυχόμενο μικροτόμο έγινε με συνεστιακό μικροσκόπιο σάρωσης Laser με μήκος κύματος διέγερσης 488nm.

### 3.1.4.6 Μέτρηση πορώδους

Το πορώδες το οποίο συμβολίζεται με το γράμμα  $\pi$  υπολογίστηκε από την παρακάτω εξίσωση:

$$\pi = \left(1 - \frac{\rho_{\pi}}{\rho_{\mu}}\right) \cdot 100 \quad (2)$$

όπου  $\rho_{\pi}$  είναι η πυκνότητα του πορώδους υλικού (υπολογιζόμενο από το βάρος και τον όγκο των δειγμάτων) και  $\rho_{\mu}$  είναι η πυκνότητα του υλικού όταν δεν είναι πορώδες (υπολογιζόμενο από τις πυκνότητες του αμύλου και του τριμεταφωσφορικού τρινατρίου) (Karageorgiou *et al.*, 2005)

### **3.1.4.7 Ανάλυση μηχανικών ιδιοτήτων**

Οι υδροπηκτές εξετάστηκαν ως προς το μέτρο ελαστικότητας και την τάση και παραμόρφωση σε αναλυτή υφής. Τα δείγματα, αφού ενυδατώθηκαν για 10 λεπτά σε αποσταγμένο νερό, μετρήθηκαν ως προς τις διαστάσεις τους και τοποθετήθηκαν στον αναλυτή υφής. Οι υδροπηκτές εξετάστηκαν ως προς την αντοχή τους στην συμπίεση μέχρι 60% παραμόρφωση με ταχύτητα κεφαλής 1mm/s. Για τον υπολογισμό του μέτρου ελαστικότητας, της τάσης και της παραμόρφωσης, τα αποτελέσματα αναλύθηκαν με το υπολογιστικό πρόγραμμα Microsoft Excel 2007. Ως ελαστική περιοχή θεωρήθηκε το αρχικό τμήμα της καμπύλης τάσης – παραμόρφωσης για το οποίο η γραμμική γραμμή τάσης είχε κατ' ελάχιστο  $R^2 = 0,99$ .

### **3.1.4.8 Απελευθέρωση Αλβουμίνης**

Για το πείραμα της απελευθέρωσης αλβουμίνης, υδροπηκτές οι οποίες είχαν παρασκευαστεί με τον τρόπο που αναφέρεται στο κεφάλαιο 3.1.4.1. τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια και στην συνέχεια βυθίστηκαν σε υδατικό διάλυμα αλβουμίνης με συγκέντρωση 1mg/ml και παρέμειναν για 24 ώρες στο ψυγείο. Κατόπιν οι υδροπηκτές μεταφέρθηκαν σε φιαλίδια με 3 ml νερό και ανά 1 ώρα λαμβανόταν δείγμα 2 ml το οποίο αντικαθίστατο με 2 ml νερό. Τα δείγματα ελήφθησαν για 4 ώρες συνολικά. Ο προσδιορισμός της αλβουμίνης που απελευθερωνόταν έγινε με μέτρηση των δειγμάτων σε φασματοφωτόμετρο υπεριώδους /ορατού σε μήκος κύματος 280nm με τη χρήση καμπύλης βαθμονόμησης που προέκυψε από διαλύματα αλβουμίνης γνωστών συγκεντρώσεων και εξίσωσης

$$y = 0.6083x - 0.0595 \quad (3)$$

Όπου  $y$  είναι η απορρόφηση της αλβουμίνης και  $x$  η συγκέντρωση της αλβουμίνης (mg/ml).

### **3.1.4.9 Αποδόμηση υδροπηκτών**

Οι υδροπηκτές που παρασκευάστηκαν (κεφάλαιο 3.1.4.1.) τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια με αποσταγμένο νερό αφού πρώτα ζυγίστηκαν για την καταγραφή του αρχικού τους βάρους και στην συνέχεια αφέθηκαν για 6 εβδομάδες. Κάθε δυο εβδομάδες δείγματα ξηραίνονταν σε λυοφιλιωτή και ζυγίζονταν για την καταγραφή του τελικού τους βάρους. Στην συνέχεια υπολογίστηκε η απώλεια βάρους που είχαν κατά την διάρκεια αυτού του χρόνου με την παρακάτω εξίσωση

$$\left(1 - \frac{W_f}{W_a}\right) \cdot 100 \quad (4)$$

Όπου  $W_a$  είναι ο μέσος όρος των αρχικών βαρών των δειγμάτων και  $W_f$  ο μέσος όρος των τελικών βαρών των δειγμάτων.

#### ***3.1.4.10 Στατιστική ανάλυση***

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων, όπως οι συγκρίσεις μέσω των όρων του μέτρου Young, του πορώδους, η εξέταση της αποδόμησης των υδροπηκτών καθώς και ο ρυθμός απελευθέρωσης της αλβουμίνης της πραγματοποιήθηκε με την χρήση του στατιστικού προγράμματος Minitab v.17.

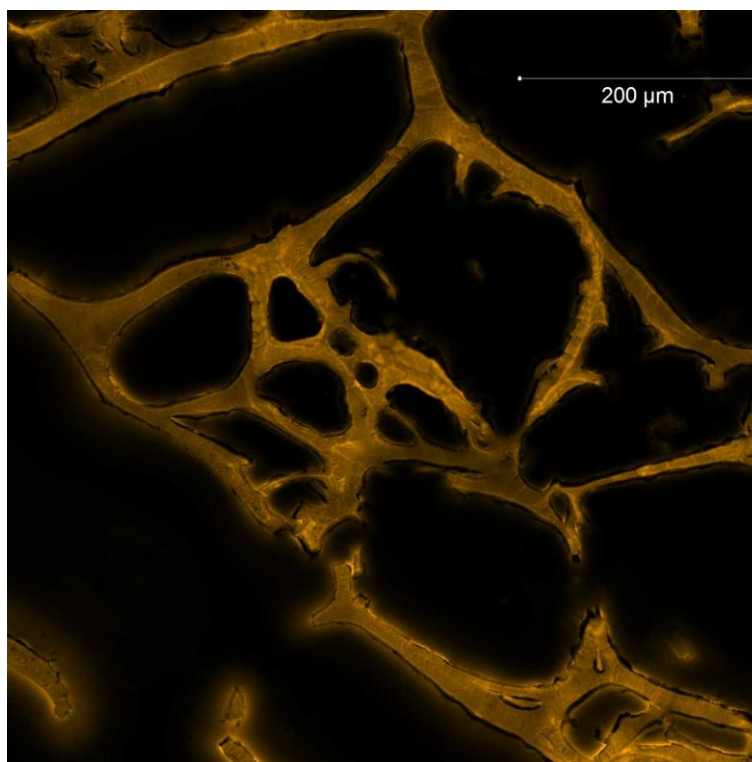
## 4 Αποτελέσματα

### 4.1 Μακροσκοπική εκτίμηση

Μακροσκοπικά οι υδροπηκτές είχαν συνεκτική μορφή χωρίς ραγίσματα στην δομή τους, πάραυτα παρατηρήθηκαν λευκές κηλίδες από μερικώς αδιάλυτο άμυλο στο ημιδιαφανές χρώμα που αναπτύχθηκε.

### 4.2 Συνεστιακή μικροσκόπηση

Με την παρατήρηση στο συνεστιακό μικροσκόπιο (Σχήμα 6) έγινε αντιληπτό το πλέγμα της ενυδατωμένης πηκτής και οι πόροι που δημιουργήθηκαν, οι οποίοι έχουν μέγεθος που κυμαίνεται από 50 έως 350μm περίπου, ενώ τα τοιχώματα κυμαίνονται από 10 έως 30 μm.



**Σχήμα 6** Η δομή των πηκτών αμύλου/τριμεταφωσφορικού τρινατρίου μετά από συνεστιακή μικροσκόπηση με Laser.

### 4.3 Μέτρηση πορώδους

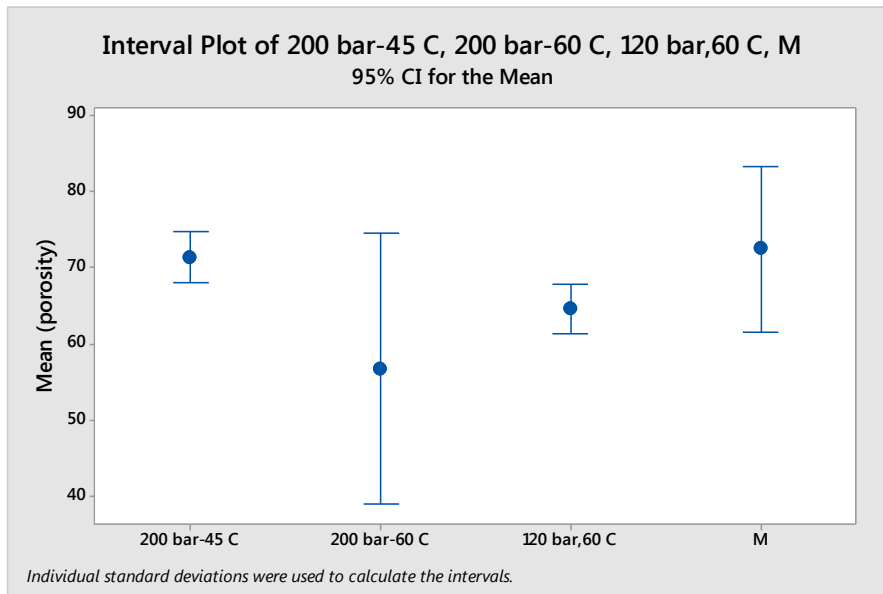
Όπως φαίνεται στον Πίνακα 7 το δείγμα με το μεγαλύτερο πορώδες παρουσιάζει το δείγμα Μ (μάρτυρας) το οποίο δεν έχει υποστεί επεξεργασία με υπερκρίσιμο διοξείδιο άνθρακα και οι πόροι του δικτύου έχουν δημιουργηθεί με λυοφιλίωση. Στην συνέχεια ακολουθεί το δείγμα 2 στο οποίο έγινε έγχυση υπερκρίσιμου διοξειδίου του άνθρακα σε συνθήκες πίεσης 200bar και θερμοκρασίας 45<sup>0</sup>C, μετά ακολουθεί το δείγμα 3 σε πίεση 120bar και 60<sup>0</sup>C και τέλος το δείγμα 4 το οποίο επεξεργάστηκε στα 200bar και στους 60<sup>0</sup>C. Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 9 δεν υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά στο πορώδες των δειγμάτων 2 και 3 που έχουν επεξεργαστεί με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα ενώ υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά ανάμεσα στον μάρτυρα (δείγμα 1) και στο δείγμα 4, όπου ο μάρτυρας που δεν έχει επεξεργαστεί με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα παρουσιάζει μεγαλύτερο πορώδες από το δείγμα 4 στο οποίο έγινε έγχυση υπερκρίσιμου διοξειδίου του άνθρακα στους 60 <sup>0</sup>C υπό πίεση 200 bar. Όταν αυξάνεται η πίεση και μειώνεται η θερμοκρασία τότε αυξάνεται η διαλυτότητα του ScCO<sub>2</sub> και έτσι οι πόροι που δημιουργούνται είναι μικρότερης διαμέτρου (Tsvintzelis *et al.*, 2007), αυτό διακρίνεται στο μειωμένο πορώδες των δειγμάτων που μελετήθηκαν στην μεγαλύτερη πίεση (200bar), ενώ δεν παρατηρείται το ίδιο στην χαμηλότερη θερμοκρασία (45°C).

**Πίνακας 7** Σύγκριση μέσων όρων των τιμών του πορώδους των δειγμάτων. Οι μέσοι όροι που ανήκουν σε διαφορετικές ομάδες (A και B), στατιστικά διαφέρουν σημαντικά (p<0,05)

Δείγμα	Μέσος όρος	Τυπική Απόκλιση	Ομάδα
1 M	72.48	6.83	A
2 200 bar-45 C	71.44	2.11	A B
3 120 bar,60 C	64.67	2.03	A B
4 200 bar-60 C	56.77	16.93	B

\*Παράρτημα 2.

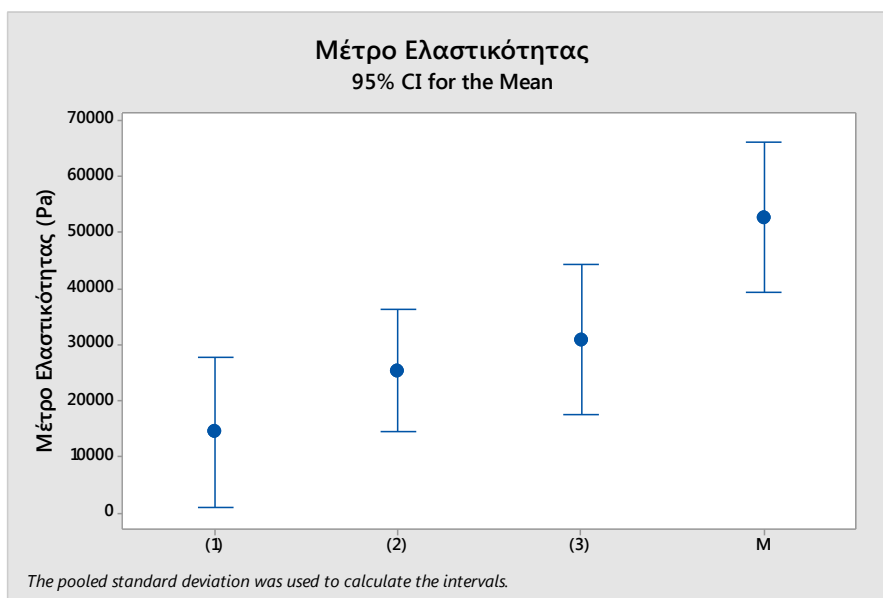
Μετά την επεξεργασία με το υπερκρίσιμο διοξείδιο άνθρακα τα αποτελέσματα που πάρθηκαν για την μέτρηση του πορώδους απεικονίζονται στο Σχήμα 9 που ακολουθεί.



**Σχήμα 7** Διάγραμμα σύγκρισης πορώδους μεταξύ τριών συνδυασμών πίεσης και θερμοκρασίας αφού επεξεργάστηκαν με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα και ενός μάρτυρα.

#### 4.4 Μέτρο ελαστικότητας

Στο διάγραμμα στο Σχήμα 10 παρατηρείται το μέτρο ελαστικότητας το οποίο είναι εμφανές μικρότερο από τον μάρτυρα ο οποίος δεν είχε επεξεργαστεί καθόλου με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα.



**Σχήμα 8** Σύγκριση μέτρου ελαστικότητας (Young) μεταξύ τριών συνδυασμών πίεσης και θερμοκρασίας αφού επεξεργάστηκαν με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα και ενός μάρτυρα. (1) 200bar-45°C, (2) 200bar-60°C, (3) 120bar-60°C, (M) μάρτυρας.



Στον Πίνακα 8, παρουσιάζονται οι μέσες τιμές του μέτρου ελαστικότητας του κάθε δείγματος που επεξεργάστηκε διαφορετικά με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα. Τα δείγματα που δέχθηκαν έγχυση με υπερκρίσιμο διοξείδιο άνθρακα στους 60<sup>0</sup>C σε πιέσεις 120bar και 200bar, έδειξαν ιδιαίτερα μειωμένο μέτρο ελαστικότητας με τιμές που κυμαίνονταν από 30833Pa και 25321Pa αντίστοιχα και ακόμα πιο μειωμένες τιμές είχαν οι υδροπηκτές που επεξεργάστηκαν στους 45<sup>0</sup>C και σε 200bar με μέτρο ελαστικότητας 14377Pa. Αυτές οι τιμές είναι ορατά μειωμένες σε σύγκριση με τις υδροπηκτές που δεν επεξεργάστηκαν με το υπερκρίσιμο διοξείδιο άνθρακα με μέτρο ελαστικότητας 52638Pa.

**Πίνακας 8** Μέσοι όροι των τιμών του μέτρου ελαστικότητας. Οι μέσοι όροι που ανήκουν σε διαφορετικές ομάδες (A και B), στατιστικά διαφέρουν σημαντικά (p<0,05)

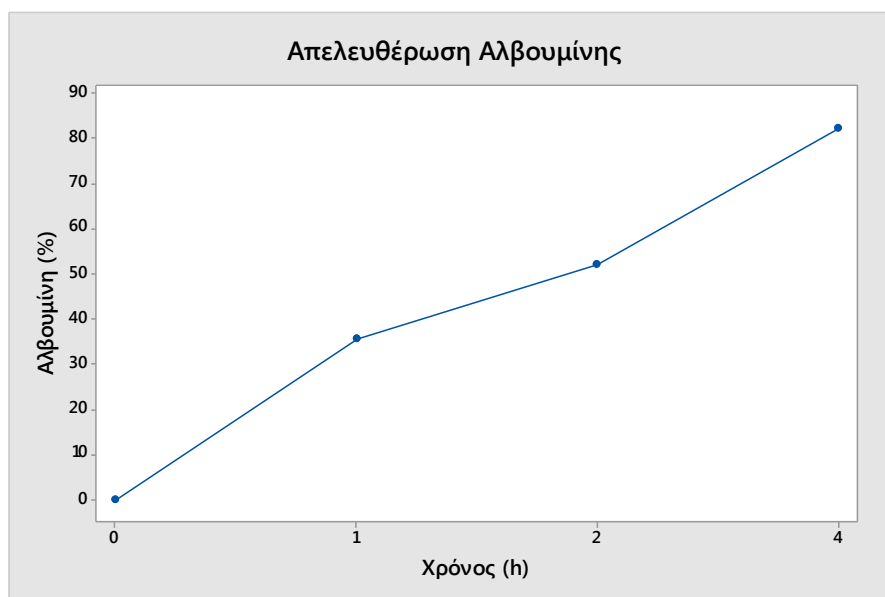
Δείγμα	Μέσος Όρος (Pa)	Τυπική Απόκλιση	Ομάδα
<b>M</b>	52638	20802	A
<b>120bar, 60 C (3)</b>	30833	14759	B
<b>200bar,60 C (2)</b>	25321	5174	B
<b>200bar, 45 C (1)</b>	14377	5836	B

*\*Παράρτημα 1*

Σε υδροπηκτές χιτοζάνης έχει βρεθεί μέτρο ελαστικότητας 80kPa, ενώ υδροπηκτές που είχαν σαν δομικά υλικά την χιτοζάνη και μετάξι από φιβροΐνη σε αναλογία 2:1 παρουσίασαν μέτρο ελαστικότητας γύρω στα 300kPa (Bhardwaj & Kundu, 2011), αυτό δείχνει ότι οι υδροπηκτές αμύλου έχουν εξαιρετικά χαμηλές τιμές ελαστικότητας σε σχέση με υδροπηκτές που αποτελούνται από χιτοζάνη και μετάξι από φιβροΐνη σε συνδυασμό, ενώ είναι πολύ κοντά σε αυτές που αποτελούνται μόνο από χιτοζάνη. Το μέτρο ελαστικότητας που έχει μια υδροπηκτική, επηρεάζεται κυρίως από το υλικό που είναι φτιαγμένες και τις ιοντικές αλληλεπιδράσεις οι οποίες μπορούν να αυξήσουν το μέτρο ελαστικότητας . Έχει επίσης βρεθεί ότι σε ικρίωματα τα οποία είναι παρασκευασμένα με άμυλο καλαμποκιού και αιθυλενοβινιλική αλκοόλη η ελαστικότητα ήταν πολύ υψηλή και κυμαινόταν στα 117.5±3.7MPa (Salgado *et al.*,2004)

#### 4.5 Απελευθέρωση αλβουμίνης

Στο διάγραμμα που απεικονίζεται στο Σχήμα 11 φαίνεται η απελευθέρωση της αλβουμίνης στον χρόνο. Όπως παρατηρούμε στην πρώτη ώρα απελευθερώθηκε περίπου το 35% ενώ στην δεύτερη και τρίτη ώρα απελευθερώθηκε περίπου το 20% κάθε φορά, οι τιμές αναφέρονται στον Πίνακα 9.



Σχήμα 9 . Διάγραμμα απελευθέρωσης αλβουμίνης επί τις εκατό ως προς τον χρόνο.

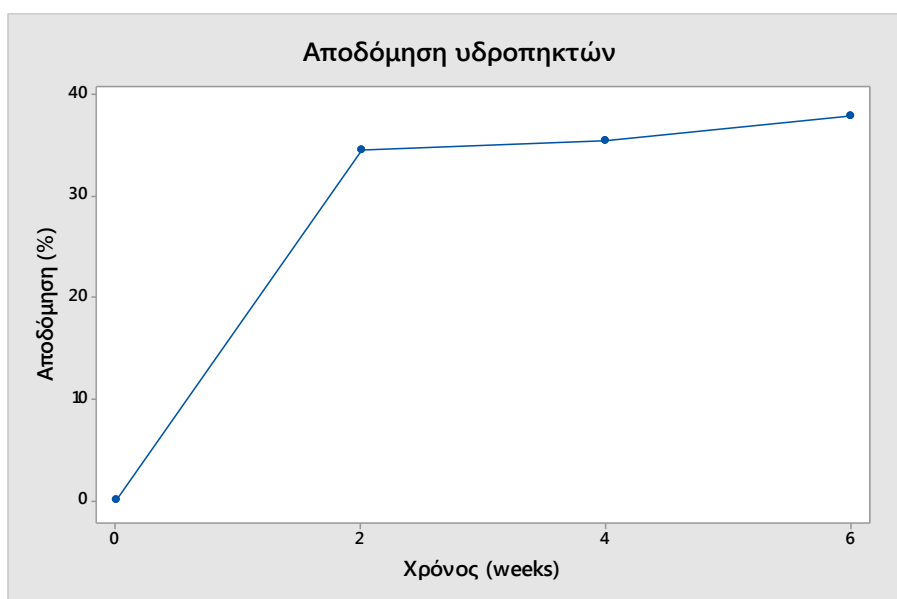
Η χορήγηση πεπτιδικών φαρμάκων από την στοματική κοιλότητα είναι γνωστό ότι καθυστερείται από την πέψη τους στο στομάχι και το λεπτό έντερο. Επομένως, τα πρωτεϊνικά φάρμακα πρέπει να χορηγούνται παρεντερικά, αλλά λόγω της ταχείας εξάλειψης από την κυκλοφορία, είναι απαραίτητη η συνεχής ή επαναλαμβανόμενη χορήγηση για να επιτευχθεί θεραπευτική δράση (Lee & Yamamoto, 1990) και αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο γίνονται ερευνητικές προσπάθειες στην κατεύθυνση της ελεγχόμενης απελευθέρωσης. Σε προηγούμενες μελέτες η απελευθέρωση της αλβουμίνης σε υδροπηκτές δεξτράνης έδειξε ότι ο ρυθμός απελευθέρωσης της αλβουμίνης εξαρτάται από το μοριακό βάρος καθώς και από την παρουσία ενζύμου (δεξτρανάσης). Με την παρουσία ενζύμου η αλβουμίνη απελευθερώθηκε από την πηκτή στο 100% σε 20 ώρες, ενώ με την απουσία έφτασε στο 25% σε 24 ώρες (In-Sook *et al.*, 2001).

**Πίνακας 9** Πίνακας απελευθέρωσης αλβουμίνης σε mg ως προς τον χρόνο.

hours	mg alb	% alb (released)
0	1.37753	0.000
1	0.89051	35.354
2	0.66119	52.002
4	0.24938	81.987

#### 4.6 Αποδόμηση υδροπηκτών

Η μείωση του βάρους των υδροπηκτών από άμυλο πατάτας ήταν αρκετά αργή αφού μετά την πρώτη μείωση βάρους τους παρέμεναν σε σταθερές τιμές για τις επόμενες 4 εβδομάδες. Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 12 οι υδροπηκτές παρουσίασαν μείωση στο βάρος τους της τάξης του 34.54% τις πρώτες 2 εβδομάδες ενώ στις υπόλοιπες εβδομάδες δε παρουσιάστηκε μείωση.



**Σχήμα 10** Αποδόμηση υδροπηκτών μετά από 6 εβδομάδες. (Αποδόμηση ορίζεται η απώλεια βάρους της υδροπηκτής)

Υδροπηκτές με μεγαλύτερο πορώδες απορροφούν και συγκρατούν μεγαλύτερη ποσότητα νερού και έτσι η αποδόμηση του υλικού γίνεται ταχύτερη. Σύμφωνα με τον Gomes και τους συνεργάτες του, υδροπηκτές αμύλου είχαν μείωση βάρους γύρω στο 10% μέσα στις πρώτες μέρες ενώ στις 60 μέρες δεν ξεπέρασε το 17% (Gomes *et al.*, 2001). Υλικά τα οποία είναι δομημένα από διαφορετικά μίγματα αμύλου, παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές στην συμπεριφορά αποδόμησης, η οποία τα κάνει κατάλληλα για διαφορετικές ειδικές εφαρμογές.

## 5 Συμπεράσματα

Είναι εφικτό να προσαρμόσουμε τις τελικές ιδιότητες και τη μορφολογία των υδροπηκτών με την μεταβολή των παραμέτρων επεξεργασίας αλλά και σύνθεσης των υδροπηκτών. Παρατηρήθηκε η βραδεία αποδόμηση των υδροπηκτών, η οποία είναι χρήσιμη ιδιότητα καθώς δίνει περισσότερο χρόνο για την εφαρμογή τους σαν μεταφορείς φαρμακευτικών ουσιών. Όσον αφορά την απελευθέρωση της αλβουμίνης, οι δομές αυτές είχαν πολύ γρήγορη απελευθέρωση η οποία δεν είναι πάντα επιθυμητή στον τομέα της μεταφοράς φαρμάκων. Παρόλα αυτά, το πορώδες μπορεί να διαφοροποιηθεί μεταβάλλοντας τις συνθήκες της έγχυσης του υπερκρίσιμου διοξειδίου του άνθρακα, χωρίς απαραίτητα να μειωθούν οι μηχανικές ιδιότητες των υδροπηκτών. Στην πραγματικότητα, είναι δυνατόν να σχεδιαστούν υδροπηκτές που θα μπορούσαν να είναι επαρκής για διάφορες εφαρμογές στον τομέα της μηχανικής ιστών, αλλά ειδικότερα να χρησιμοποιηθούν σαν φορείς για μεταφορά φαρμάκων.

## 6 Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

- Μίξη του αμύλου με άλλα φυσικά πολυμερή για την βελτίωση των μηχανικών ιδιοτήτων των υδροπηκτών.
- Δημιουργία και παρατήρηση μεγέθους των πόρων της δομής σε υδροπηκτές αμύλου με έγχυση υπερκρίσιμου διοξειδίου του άνθρακα.
- Δημιουργία πόρων σε υδροπηκτές αμύλου με την χρήση διάφορων πορογόνων ουσιών.
- Μελέτη για αποδόμηση υδροπηκτών αμύλου παρουσία ενζύμων.

## 7 Βιβλιογραφία

- Ahmed J., Tiwari B.K., Imam S.H., Rao M.A. (2012) .Starch-Based Polymeric Materials and Nanocomposites Chemistry, *Processing, and Applications*. CRC Press
- Ahuja G. & Pathak K. (2009) Porous Carriers for Controlled/Modulated Drug Delivery. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **71**(6), 599–607
- Al-Assaf S., Dickson P., Phillips G.O., Thompson C., Torres J. C. (2009) Compositions comprising polysaccharide gums. *World Intellectual property Organization*, Phillips Hydrocolloid Research Limited
- Athawale V.D. & Lele V. (1998) Graft copolymerization onto starch. II. *Grafting of acrylic acid and preparation of its hydrogels*. **35** (1–2), 21-27
- Azevedo H.S.& Reis R.L. (2009) Encapsulation of  $\alpha$ -amylase into starch-based biomaterials: An enzymatic approach to tailor their degradation rate. *Acta Biomaterialia*. **5**(8), 3021–3030
- Baran E.T., Mano J.F., Reis R.L. (2004) Starch-chitosan hydrogels prepared by reductive alkylation cross-linking. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **15**(7), 759
- Barbucci R. (2009) Hydrogels, Biological Properties and Applications. Springer-Verlag Mailand
- Bastioli C. (2005) Handbook of Biodegradable Polymers. Rapra Technology Limited, Shawbury, Shrewsbury, Shropshire, UK
- Belitz H.-D., Grosch W., Schieberle P.(2009) Food Chemistry. Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- Bhamidipati M., Scurto A.M., Detamore M.S. (2013) The Future of Carbon Dioxide for Polymer Processing in Tissue Engineering. *Tissue Engineering Part B: Reviews*,**19**, (3) 221-32

- Bhardwaj N. & Kundu S. C. (2011) Silk fibroin protein and chitosan polyelectrolyte complex porous scaffolds for tissue engineering applications. *Carbohydrate Polymers* **85**, 325–333
- Brinson H.F. & Brinson L.C. (2015) *Polymer Engineering Science and Viscoelasticity An Introduction*. Second Edition. Springer US
- Chasin M. & Langer R. (1990) *Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems* Massachusetts Institute of Technology Cambridge, Massachusetts
- Dumitriu S. & Popa V. (2013) *Polymeric Biomaterials: Structure and Function*. Volume 1, CRC Press
- Eid M. (2008) In vitro release studies of vitamin B12 from poly N-vinyl pyrrolidone/starch hydrogels grafted with acrylic acid synthesized by gamma radiation. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. **266**, (23), 5020–5026
- Elvira C. , Mano J.F., San Román J, Reis R.L. (2002) Starch-based biodegradable hydrogels with potential biomedical applications as drug delivery systems. *Biomaterials*, **23**(9),1955-66.
- Enas A.M. (2015) Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of Advanced Research*. **6** (2), 105–121
- Ganji F., Vasheghani-Farahani S. & Vasheghani-Farahani E. (2010) Theoretical description of hydrogel swelling a review. *Iranian Polymer Journal* **19** (5), 375-398
- Gomes M.E., Ribeiro A.S., Malafaya P.B., Reis R.L., Cunha A.M. (2001) A new approach based on injection moulding to produce biodegradable starch-based polymeric scaffolds: morphology, mechanical and degradation behaviour. *Biomaterials*, **22**, 883-889.
- Guilherme M.R., Oliveira R.S., Mauricio M. R., Cellet T.S.P., Pereira G. M., Kunita M.H., Muniz E.C., Rubira A.F. (2012) Albumin release from a brain-resembling superabsorbent magnetic hydrogel based on starch. *Soft Matter*, **8**, 6629

- Gulrez S. K. H., Al-Assaf S., O Phillips G. (2011). Progress in Molecular and Environmental Bioengineering - From Analysis and Modeling to Technology Applications, **5**. InTech
- Hamdi G., Ponchel G., Duchene D. (1998) An original method for studying in vitro the enzymatic degradation of cross-linked starch microspheres. *Journal of Controlled Release*, **55**, 193–201
- Hennink W. E. & Nostrum C. F. (2002) Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **54**, 13–36.
- Hennink W.E, Censi R., Vermonden T. (2012) Hydrogels for Protein Delivery. ACS publications
- Hoffman A.S. (2002) Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **43**, 3–12
- In-Sook K., Young-II J., Do-Hoon K., Yun-Ho L., Sung-Ho K. (2001) Albumin Release from Biodegradable Hydrogels Composed of Dextran and Poly(Ethylene Glycol) Macromer. *Archives of Pharmacal Research*, **24** (1), 69-73.
- Jatuporn N., Atchariya F., Sukkid Y., Jarupa V. (2010) Potential of an injectable chitosan/starch/ $\beta$ -glycerol phosphate hydrogel for sustaining normal chondrocyte function. *International Journal of Pharmaceutics*. **391** (1–2), 115–124.
- James M.G., Denyer K, Myers A.M. (2003) Starch synthesis in the cereal endosperm. *Current opinion in plant biology*, **6**, 215–222
- Karageorgiou V., Kaplan D. (2005) Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*, **26**, 5474-5491
- Kewal K. Jain, MD (2008) Drug Delivery Systems, Springer New York
- Lanza R.P., Langer R., Vacanti J. (2000) Principles of Tissue Engineering. Second Edition, Academic Press
- Lapidot S.A., Kost J. (2001) Hydrogels. Encyclopedia of Materials: Science and Technology (Second Edition), 3878-3882
- Lee V. H. L. & Yamamoto A., (1990) Penetration and enzymatic barriers to peptide and protein absorption. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **4**, 171-207
- Leja K. & Lewandowicz G. (2010) Polymer Biodegradation and Biodegradable Polymers – a Review. *Polish Journal of Environmental Studies*, **19**(2), 255-266



- Li B., Li-jun W., Li D., Chiu Y.L., Zhang Z., Shi J., Chen X.D., Mao Z. (2009) Physical properties and loading capacity of starch-based micro particles crosslinked with trisodium trimetaphosphate. *Journal of Food Engineering*, **92**(3), 255–260.
- Lopour P., Vondracek P., Janatova. V., Sulc J., Vacik J., (1990).Silicone Rubber Hydrogel Composites As Polymeric Biomaterials, *Biomaterials*, **11**,397.
- Magnin D., Lefebvre J., Chornet E. & Dumitriu S. (2004) Physicochemical and structural characterization of a polyionic matrix of interest in biotechnology, in the pharmaceutical and biomedical fields. *Carbohydrate Polymers*, **55**, 437-453.
- Malafaya P.B., Stappers F., Reis R.L. (2006) Starch-based microspheres produced by emulsion crosslinking with a potential media dependent responsive behavior to be used as drug delivery carriers. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **17**, 371.
- Malakar J., Nayak A.K., Jana P., Pal D. (2013) Potato starch-blended alginate beads for prolonged release of tolbutamide: development by statistical optimization and in vitro characterization. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **7**, 43–51
- Mane S. (2016) Effect of Porogens (Type and Amount) on Polymer Porosity: A Review. Polymer Science and Engineering Division, National Chemical Laboratory. *Canadian Chemical Transactions*, **4**(2), 210-225.
- Mathiowitz E. (1999) Encyclopedia of controlled drug delivery, John Wiley and Sons, New York
- Pal K., Banthiab A.K. & Majumdar D.K. (2008) Effect of heat treatment of starch on the properties of the starch hydrogels. *Materials Letters*, **62**( 2), 215–218
- Peppas N.A., Buresa P., Leobandunga W., Ichikawab H. (2000) Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **50** (1), 27–46.
- Peppas N.A. & Colombo P. (1997) Analysis of drug release behaviour from swellable polymer carriers using the dimensionality index. *Journal of Controlled Release*. **45**(1) 35–40.
- Peppas N. A., Hoffman A. S. (2013) Biomaterials Science (Third Edition), 166-179
- Putseys J.A., Lamberts L., Delcour J.A. (2010) Amylose-inclusion complexes: Formation, identity and physico-chemical properties. *Journal of Cereal Science* **51**(3),238-247.

- Raafat A. I., Eldin A. S., Salama A.A., Ali N.S. (2013) Characterization and bioactivity evaluation of (starch/N-vinylpyrrolidone)- hydroxyapatite nanocomposite hydrogels for bone tissue regeneration. *Journal of applied polymer Science*, **128** (3), 1697–1705
- Ranade V.V., Hollinger M. A., Cannon J. B. (2004) Drug Delivery Systems, Second Edition, CRC Press
- Singh B., Sharma D.K., Gupta A. (2008) In vitro release dynamics of thiram fungicide from starch and poly(methacrylic acid)-based hydrogels. *Journal of Hazardous Materials*, **154**(1–3), 278–286
- Sudhakar C.K., Upadhyay N., Jain A., Arpit V., Narayana C.R., Sanjay J. (2015) Nanotechnology Applications for Tissue Engineering, 77-94
- Susheel K. (2016) Polymeric Hydrogels as Smart Biomaterials. Department of Chemistry, ACC Wing, Indian Military Academy, India
- Takigami M., Amada H., Nagasawa N., Yagi T., Kasahara T., Takigami S. & Tamada M. (2007) Preparation and properties of CMC gel. *Transactions of the Materials Research Society of Japan*, **32**, (332), 713-716.
- Tsiptsias C., Panayiotou C. (2008) Foaming of chitin hydrogels processed by supercritical carbon dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids*. **47**(2),302–308.
- Tsiptsias C., Paraskevopoulos M.K., Christofilos D., Andrieux P., Panayiotou C., (2011) Polymeric hydrogels and supercritical fluids: The mechanism of hydrogel foaming, *Polymer*. **52**(13), 2819–2826.
- Tsivintzelis I., Angelopoulou A. G., Panayiotou C. (2007) Foaming of polymers with supercritical CO<sub>2</sub>: An experimental and theoretical study. *Polymer*, **48** (20),5928–5939.
- Tsivintzelis I, Sanxaridou G., Pavlidou E.,Panayiotou C.(2016) Foaming of polymers with supercritical fluids: A thermodynamic investigation.*The Journal of Supercritical Fluids*, **110**, 240–250.
- Rivera C.A., Khalloufia S., Jansena J., Bongersa P. (2011) Mathematical description of mass transfer in supercritical-carbon-dioxide-drying processes. *21st European Symposium on Computer Aided Process Engineering*, **29**.
- Schmitz J.V., (1966) Methods of test for hardness and wear of plastics, Interscience Publishers a division of John Wiley and Sons, New York

- Silverstein M.S., Cameron N.R., Hillmyer M.A. (2011) *Porous Polymers*, John Wiley & Sons
- Yoshii F. & Kume T. (2003) Process for producing crosslinked starch derivatives and crosslinked starch derivatives produced by the same, Japan Atomic Energy Research Institute
- Zhai M., Yoshii F., Kume T. (2003) Radiation modification of starch-based plastic sheets. *Carbohydrate Polymers*, **52**, 311-317.
- Zhou W., Yang J., Hong Y., Liu G., Zheng J., Gu Z., Zhang P. (2015) Impact of amylose content on starch physicochemical properties in transgenic sweet potato. *Carbohydrate Polymers*, **122**, 417–427.

## Παράρτημα 1

Στατιστική Ανάλυση Minitab v.17 ως προς το μέτρο Young.

### Descriptive Statistics: 200bar, 45 C (1), 200bar,60 C (2), 120bar, 60 C (3), M

Variable	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3
Maximum									
200bar, 45 C (1)	4	2	14377	2918	5836	7452	8939	14203	19989
21649									
200bar,60 C (2)	6	0	25321	2112	5174	17862	21532	24755	29898
32901									
120bar, 60 C (3)	4	2	30833	7380	14759	15735	18798	28234	45467
51129									
M	4	2	52638	10401	20802	25966	31109	56529	70277
71528									

### One-way ANOVA: 200bar, 45 C (1), 200bar,60 C (2), 120bar, 60 C (3), M

Method

Null hypothesis All means are equal  
Alternative hypothesis At least one mean is different  
Significance level  $\alpha = 0.05$   
Rows unused 6

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
Factor	4	200bar, 45 C (1), 200bar,60 C (2), 120bar, 60 C (3), M

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	3	3159794082	1053264694	6.74	0.005
Error	14	2187770457	156269318		
Total	17	5347564539			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
12500.8	59.09%	50.32%	28.11%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
(1)	4	14377	5836	( 971, 27782)
(2)	6	25321	5174	(14375, 36267)
(3)	4	30833	14759	(17427, 44238)
M	4	52638	20802	(39232, 66044)

Pooled StDev = 12500.8

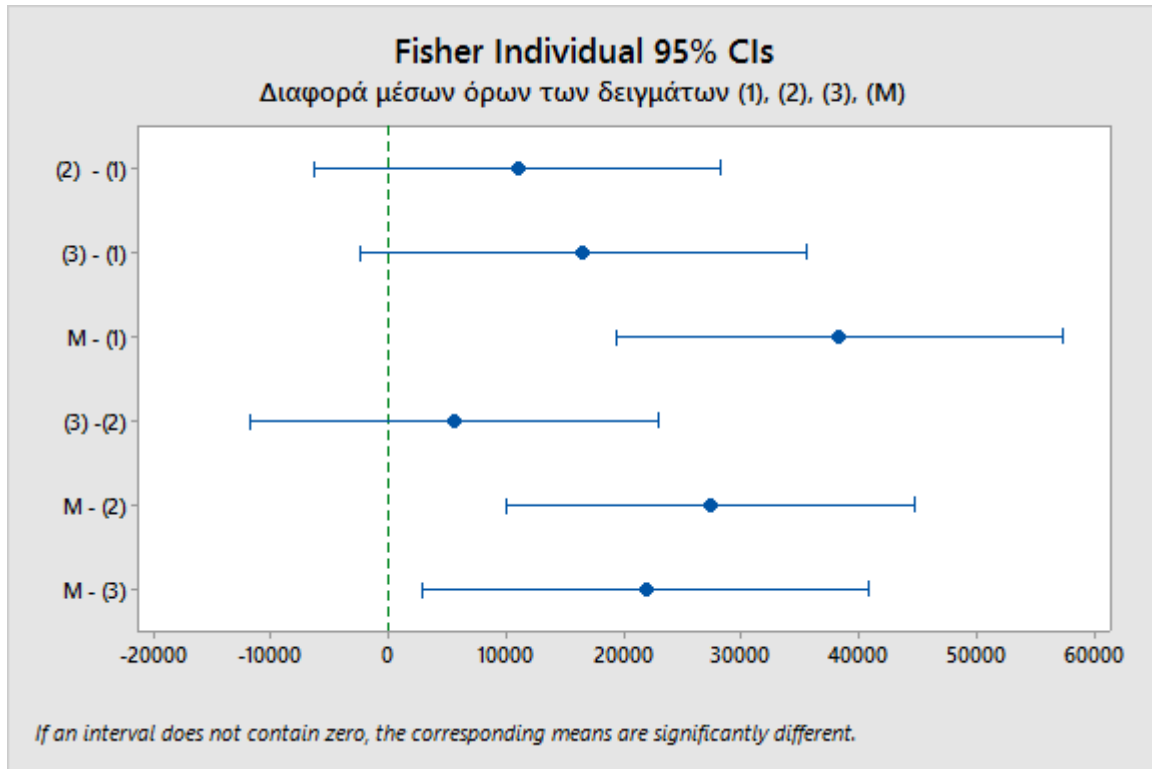
### Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
M	4	52638	A
120bar, 60 C (3)	4	30833	B
200bar, 60 C (2)	6	25321	B
200bar, 45 C (1)	4	14377	B

Means that do not share a letter are significantly different.

### Minitab Project Report



## Παράρτημα2

Στατιστική Ανάλυση Minitab v.17 ως προς το πορώδες.

### One-way ANOVA: Porosity

**200 bar-45 C, 200 bar-60 C, 120 bar, 60 C, M**

Method

Null hypothesis All means are equal  
Alternative hypothesis At least one mean is different  
Significance level  $\alpha = 0.05$   
Rows unused 6

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values  
Factor 4 200 bar-45 C, 200 bar-60 C, 120 bar, 60 C, M

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	3	795.1	265.0	2.32	0.120
Error	14	1599.6	114.3		
Total	17	2394.7			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
10.6891	33.20%	18.89%	1.47%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
200 bar-45 C	4	71.44	2.11	(59.98, 82.91)
200 bar-60 C	6	56.77	16.93	(47.41, 66.13)

120 bar,60 C	4	64.67	2.03	(53.20, 76.13)
M	4	72.48	6.83	(61.02, 83.94)

Pooled StDev = 10.6891

## Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
M	4	72.48	A
200 bar-45 C	4	71.44	A B
120 bar,60 C	4	64.67	A B
200 bar-60 C	6	56.77	B

Means that do not share a letter are significantly different.

