



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΠΡΟΗΓΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ»
ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΥΛΙΚΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΜΠΟΥΡΑ-ΘΕΟΔΩΡΙΔΟΥ ΟΛΓΑ

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΝΑΝΟΣΥΝΘΕΤΩΝ ΥΛΙΚΩΝ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ
ΜΕ ZnO ΚΑΙ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥΣ ΤΥΠΟΥΣ
ΠΛΑΣΤΙΚΟΠΟΙΗΤΩΝ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ, 2017

Περιεχόμενα

Πρόλογος	4
Περίληψη	5
Abstract	7
Κεφάλαιο 1 – Εισαγωγή	8
Κεφάλαιο 2 – Θεωρητικό Υπόβαθρο	10
2.1 Ο ρόλος της συσκευασίας	10
2.2 Βιοπολυμερή ως υλικά συσκευασίας	16
2.2.1 Πολυσακχαρίτες	16
2.2.2 Χιτίνη.....	17
2.2.3 Χιτοζάνη	18
2.2.3 Εφαρμογές χιτοζάνης	20
2.3 Κρίσιμες απαιτήσεις των υλικών συσκευασίας	25
2.3.1 Βασικά χαρακτηριστικά υλικών εύκαμπτης συσκευασίας.....	25
2.3.2 Ο ρόλος των πλαστικοποιητών.....	26
2.3.3 Μετανάστευση υλικού.....	27
2.4 Διαπερατότητα υλικών συσκευασίας και παράγοντες που την επηρεάζουν	29
2.4.1 Διαπερατότητα σε αέρια	31
2.4.2 Διαπερατότητα σε υδρατμούς.....	32
2.4.3 Διαπερατότητα στο φως	33
2.4.4 Διείσδυση μικροοργανισμών	33
2.5 Βιβλιογραφική ανασκόπηση	35
2.5.1 Ο ρόλος των νανοσωματιδίων ZnO.....	35
2.5.2 Αντιμικροβιακές ιδιότητες του οξειδίου του ψευδαργύρου (ZnO)	36
2.5.3 Αντιμικροβιακές ιδιότητες χιτοζάνης (CS)	37
2.5.4 Νανοςύνθετα υλικά με βάση τη χιτοζάνη	41
Κεφάλαιο 3 – Πειραματική Διαδικασία.....	45
3.1 Υλικά που χρησιμοποιήθηκαν	45
3.2 Παρασκευή δειγμάτων	45
3.2.1 Προετοιμασία σκόνης οξειδίου του ψευδαργύρου ZnO	45
3.2.2 Προετοιμασία χιτοζάνης.....	45
3.2.3 Προετοιμασία νανοςύνθετων φιλμ.....	46
3.2.4 Ανάπτυξη ZnO στα νανοςύνθετα φιλμ	47
3.3 Χαρακτηρισμός	49

3.3.1 Μέθοδος ακτινών –X (XRD).....	49
3.3.2 Μηχανικές δοκιμές	51
3.3.3 Ηλεκτρονική μικροσκοπία (SEM).....	53
3.3.4 Περιεκτικότητα σε υγρασία.....	55
3.3.5 Διαπερατότητα σε υγρασία.....	55
3.3.6 Απορρόφηση υγρασίας.....	56
3.3.7 Αντιμικροβιακές ιδιότητες	57
Κεφάλαιο 4 - Αποτελέσματα και ανάλυση	60
4.1 Περιθλασιογραφήματα ακτίνων-X.....	60
4. 2 Μηχανική συμπεριφορά των μεμβρανών στον εφελκυσμό	65
4.3 Ανάλυση της μικροδομής των μεμβρανών	69
4.4 Μελέτη περιεκτικότητας των μεμβρανών σε υγρασία.....	71
4.5 Μελέτη διαπερατότητας των μεμβρανών σε υγρασία	72
4.6 Μελέτη απορρόφησης της υγρασίας.....	74
4.7 Μελέτη αντιμικροβιακής απόκρισης των μεμβρανών	75
Κεφάλαιο 5 -Συμπεράσματα.....	81
Βιβλιογραφία	86

Αφιερώνεται,

στην πολυαγαπημένη μου γιαγιά...

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος σπουδών «Προηγμένα Υλικά» του Τμήματος Μηχανικών Επιστήμης Υλικών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, υπό την επίβλεψη της κα. Νεκταρίας-Μαριάνθης Μπάρκουλα,. Θα ήθελα λοιπόν σε αυτό το σημείο να αναφέρω και να ευχαριστήσω την κα. Νεκταρία-Μαριάνθη Μπάρκουλα Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Τμήματος Μηχανικών Επιστήμης Υλικών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων που μου έδωσε την ευκαιρία να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα που άπτεται των επιστημονικών μου ενδιαφερόντων, καθώς και για την εμπιστοσύνη και συμπαράσταση της καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Άρη Γιαννακά Διδάκτορα Χημείας και μέλος Ε.ΔΙ.Π του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών, για την παρασκευή των δειγμάτων και την αμέριστη βοήθεια του. Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Αθανάσιο Λάνταβο Καθηγητή του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών, για την συνεργασία και παραχώρηση του εργαστηριακού εξοπλισμού του εργαστηρίου Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών,. Ευχαριστώ επίσης, τον κ. Πέτρο Καταπόδη, Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για την παραχώρηση του εργαστηριακού εξοπλισμού για και για την αμέριστη βοήθειά του όσον αφορά τη μελέτη των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων των μεμβρανών που παρασκευάστηκαν, καθώς και τον προπτυχιακό φοιτητή του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων Γιώργο Νεοφύτου για την πολύτιμη βοήθειά του κατά την προετοιμασία των εμβολίων και καθ' όλη τη διάρκεια διεκπεραίωσης της πειραματικής διαδικασίας. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Αλέξανδρο Καραντζαλή Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Μηχανικών Επιστήμης Υλικών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για την εκπαίδευση και τη λήψη εικόνων με τη χρήση της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας (SEM).

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου και τους φίλους μου, που με στήριξαν καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής εργασίας.

Περίληψη

Ως υλικά συσκευασίας επιλέγονται πλαστικά με αποτέλεσμα να συσσωρεύονται απόβλητα μη ανακυκλώσιμα ή μη περιβαλλοντικά βιώσιμα. Αυτή, ήταν και η ανάγκη που οδήγησε στην εύρεση νέων υλικών βιοαποικοδομήσιμων, μη τοξικών και εξίσου ανθεκτικών με τα υπάρχοντα ώστε να περιοριστούν οι μεγάλες ποσότητες απορριμμάτων που δημιουργούν οικολογικά προβλήματα. Ένα τέτοιο υλικό, είναι η χιτοζάνη, η οποία είναι ένα βιολογικής προέλευσης πολυμερές το οποίο βιοδιασπάται και χαρακτηρίζεται για τη μη τοξικότητά του και τις αντιμικροβιακές του ιδιότητες.

Στην παρούσα εργασία παρασκευάστηκαν τρεις ομάδες φιλμ χιτοζάνης (CS). Στην πρώτη ομάδα συμπεριλαμβάνονται οι μεμβράνες CS με διαφορετικά ποσοστά οξειδίου του ψευδαργύρου (3,5, 7 κ.β.% ZnO), στη δεύτερη έγινε προσθήκη επιπλέον 20 κ.β. % γλυκερόλης (GL) και στην τρίτη 20 κ.β. % πολυβινυλαλκοόλης (PVOH) ως πλαστικοποιητές. Επειδή τα υλικά αυτά κατασκευάζονται με στόχο στη συσκευασία τροφίμων, σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να πραγματοποιηθεί ένας ενδεδειγμένος έλεγχος ιδιοτήτων που είναι κρίσιμες για την απόδοση των μεμβρανών, όπως οι μηχανικές ιδιότητες, οι ιδιότητες φραγμού και οι αντιμικροβιακές ιδιότητες. Για να γίνει καλύτερη κατανόηση των αποτελεσμάτων γίνεται συσχέτισή τους με τη δομή των υλικών καθώς και τη μορφολογία τους. Απώτερος στόχος είναι ο προσδιορισμός της βέλτιστης σύνθεσης για το εν λόγω υλικό καθώς και η σύγκρισή του με αντίστοιχα υλικά που έχουν μελετηθεί βιβλιογραφικά.

Αρχικά έγινε μελέτη της δομής των νανοσύνθετων με τη χρήση της μεθόδου ακτινών-X για να υπάρξει μία πρώτη εικόνα της συμπεριφοράς των συνθέτων. Οι κορυφές των περιθλασιογραφημάτων ταυτοποιήθηκαν σύμφωνα με τη βιβλιογραφία τόσο για τη CS όσο και για το ZnO. Ακολούθησε ο εφελκυσμός των δειγμάτων και η μελέτη διαγραμμάτων τάσης-παραμόρφωσης που έδειξε ότι η παρουσία πλαστικοποιητών ευνοεί της μηχανικές ιδιότητες της CS σε συνδυασμό με την προσθήκη ZnO που συμβάλει στην καλύτερη ολίσθηση των αλυσίδων. Μελετήθηκαν η περιεκτικότητα των φιλμ σε υγρασία, η διαπερτότητά τους και η απορρόφησή τους πριν και μετά την προσθήκη ZnO και πλαστικοποιητών, όπου και διαπιστώθηκε βελτίωση των ιδιοτήτων φραγμού της CS. Επιπλέον, λήφθηκαν εικόνες της μικροδομής τόσο των επιφανειών όσο και των σημείων θραύσης των φιλμ, με σκοπό την καλύτερη κατανόηση του μηχανισμού θραύσης. Τέλος, έγινε αντιμικροβιακός έλεγχος των φιλμ

ώστε να διαπιστωθεί το αν μπορούν να λειτουργήσουν ως αναστολείς του ρυθμού ανάπτυξης των βακτηρίων. Τα βακτήρια που επιλέχθηκαν ήταν δύο gram-θετικά, το *Brevibacterium sp.* και *Corynebacterium sp.* και ένα gram-αρνητικό, η *Escherichia coli*.

Abstract

Plastics are chosen as packaging materials with the result of a large concentration of non-recyclable and non-biodegradable waste. This was the need which led to the search of new biodegradable materials, which are non-toxic and equally strong with the already existing materials so that the large quantities of waste that cause ecological problems are limited. One such material is chitosan, which is a polymer of biological origin which biodegrades and is characterized by its non-toxicity and by its anti-microbial properties.

In the present project there were prepared three groups of chitosan (CS) films . In the first group, there are CS membranes with different percentages of Zinc Oxide (3,5, 7 % ZnO), in the second there was a further addition of 20% w/w of glycerol (GL) and in the third group there was an addition of 20 w/w % polyvinyl alcohol (PVOH) as plasticizers. Because these materials are manufactured in order to be used in food packaging, the aim of this project is to realize a thorough check of properties which are crucial to the performance of the membranes, such as mechanical properties, blocking properties and anti-microbial properties. In order to understand better the results we correlate them to the structure of the materials as well as their morphology. The ulterior goal is the definition of the best possible composition of the material in question as well as its comparison to respective materials that have already been studied in the bibliography.

Initially, the structure of nanocomposites are studied through the use of X-rays in order to have an initial picture of the composites' behaviour. The peaks of the diffractograms were identified with CS as well as ZnO, according to the bibliography. A tensile strength of the samples was followed as well as the study of stress-strain diagrams which showed that the presence of plasticizers favours the mechanical properties of CS in combination with the addition of ZnO which adds to the better slide of the polymeric chains. The water content of the films was studied as well as their permeability and sorption before and after the addition of ZnO and plasticizers and an improvement of the barrier properties of CS was certified. Plus, pictures of the micro-structure of the surfaces and the cross-section points of the film were taken in order to better understand the fracture mechanism. Finally, there was an anti-microbial check of the films in order to see if they can function as inhibitors of the growth rate of the bacteria. The chosen bacteria were two gram-positive *Brevibacterium sp.* and *Corynebacterium sp.* and one gram-negative *Escherichia coli*.

Κεφάλαιο 1 – Εισαγωγή

Η ποιότητα ενός τροφίμου επηρεάζεται από βιοχημικούς, χημικούς, φυσικούς και βιολογικούς παράγοντες οι οποίοι τείνουν να επηρεάζουν τη διάρκεια ζωής του. Για αυτό το λόγο οι συσκευασίες προϊόντων διατροφής διασφαλίζουν όχι μόνο την ποιότητα του τροφίμου αλλά και την ασφάλεια κατανάλωσής του. Για το σχεδιασμό μίας συσκευασίας πρέπει να λαμβάνονται υπόψη σημαντικοί παράγοντες όπως η υγρασία, η πίεση, το οξυγόνο, οι βακτηριακές μολύνσεις, οι μηχανικές βλάβες κ.α. Για παράδειγμα στις υποανάπτυκτες χώρες περίπου το 30 με 50% των παραγόμενων τροφίμων δεν φτάνει στον καταναλωτή, διότι καταστρέφεται στο σημείο παραγωγής του, κυρίως λόγω της έλλειψης υλικών συσκευασίας, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό στην Ευρώπη είναι μόνο 2-3%.

Οι συσκευασίες αποτελούν μεν αναπόσπαστο κομμάτι της καθημερινότητας των καταναλωτών, αλλά ταυτόχρονα είναι μία από τις κυριότερες πηγές αποβλήτων. Οι βιομηχανίες συσκευασιών δέχονται μεγάλη πίεση για δεκαετίες προκειμένου να μειώσουν τα απορρίμματα συσκευασιών, να προωθήσουν την ανακύκλωσή τους και να δημιουργήσουν «βιώσιμες» συσκευασίες. Οι βιώσιμες συσκευασίες πρέπει όχι μόνο να προσφέρουν ασφάλεια στους καταναλωτές αλλά και να διασφαλίζουν την ποιότητα του προϊόντος σε όλη τη διάρκεια του κύκλου ζωής τους. Ο σχεδιασμός και η ανάπτυξη τέτοιου είδους συσκευασιών, μέρος των οποίων είναι και οι βιοαποικοδομήσιμες, αποτελεί σήμερα έναν από τους πλέον δραστήριους κλάδους έρευνας και καινοτομίας.

Ως υλικά βιοαποικοδομήσιμων συσκευασιών συνήθως επιλέγονται βιολογικής προέλευσης υλικά όπως το άμυλο, η χιτοζάνη και συνδυασμός αυτών, είτε για την ενίσχυση υπαρχόντων πλαστικών, είτε για τη δημιουργία νέων. Τέτοιου είδους υλικά χαρακτηρίζονται για τις φτωχές μηχανικές ιδιότητες, συνεπώς γίνονται εκτεταμένες μελέτες σχετικά με την ενίσχυση τους με Ag, άμυλο, πλαστικοποιητές ώστε βελτιώσουν τις μηχανικές και άλλες ιδιότητες με σκοπό να αποτελέσουν ένα ανταγωνιστικό υλικό συσκευασίας. Οι μελέτες που γίνονται εστιάζουν το ενδιαφέρον τους όχι μόνο στη βιοαποικοδομησιμότητα των συσκευασιών αλλά και στην αλληλεπίδρασή τους με το προϊόν, στοχεύοντας στη δημιουργία συσκευασιών αντιμικροβιακού χαρακτήρα.

Έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες σχετικά με την παρασκευή συνθέτων χιτοζάνης, όπου γίνεται είτε προσθήκη διαφόρων τύπων και ποσοστών των

πλαστικοποιητών όπως γλυκερόλης, ελαϊκού οξέος, πολυβινυλαλκοόλης, ελαιόλαδου ή προσθήκη φυλλόμορφων αργύλων κ.λπ όπου μελετάται πληθώρα ιδιοτήτων. Τα υλικά και οι ποσότητες που επιλέχθηκαν και παρουσιάζονται στην συγκεκριμένη έρευνα έγινε με βάση τις προηγούμενες μελέτες και τα αποτελέσματα αυτών.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε χαρακτηρισμός νανοσύνθετων μεμβρανών με βάση τη CS, οι οποίες ενισχύθηκαν με διαφορετικά ποσοστά ZnO και πλαστικοποιητών όπως GL και PVOH. Αναλυτικότερα, πραγματοποιήθηκε χαρακτηρισμός της μορφολογίας των δειγμάτων με την βοήθεια περιθλασιομετρίας ακτίνων-X (XRD) μελετήθηκαν οι μηχανικές ιδιότητες των υλικών σε εφελκυσμό, καθώς και μία σειρά ιδιοτήτων σχετικών με τη συσκευασία τροφίμων όπως ιδιότητες περιεκτικότητα σε υγρασία, απορρόφηση υγρασίας, διαπερατότητα υδρατμών και αντιμικροβιακές ιδιότητες. Για την κατανόηση της μορφολογίας και του τρόπου αστοχίας των υλικών υπό εξέταση έγινε χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου (SEM) στις επιφάνειες και στις τομές των δοκιμίων.

Η διπλωματική εργασία χωρίζεται σε τέσσερα βασικά κεφάλαια. Αρχικά, παρουσιάζεται το θεωρητικό μέρος όπου γίνεται λόγος για το ρόλο των συσκευασιών, την υποβάθμιση των τροφίμων, τη χρήση των βιοπολυμερών ως υλικά συσκευασίας και τον ρόλο των νανοσωματιδίων οξειδίου του ψευδαργύρου ως υλικό ενίσχυσης των βιοπολυμερών. Έπειτα γίνεται βιβλιογραφική ανασκόπηση νανοσύνθετων υλικών με βάση τη χιτοζάνη. Ακολουθεί το πειραματικό μέρος, όπου γίνεται ανάλυση του τρόπου παρασκευής των σύνθετων φιλμ και των μεθόδων χαρακτηρισμού που χρησιμοποιήθηκαν. Στο τελευταίο κεφάλαιο, παρατίθενται τα συμπεράσματα όλων των αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν συγκριτικά και με την υπάρχουσα βιβλιογραφία.

Κεφάλαιο 2 – Θεωρητικό Υπόβαθρο

2.1 Ο ρόλος της συσκευασίας

Η συσκευασία αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι τόσο της καθημερινής ζωής των ανθρώπων όσο και της παραγωγικής διαδικασίας ενός προϊόντος και είναι σημαντικό να προστατεύει τα εκάστοτε προϊόντα από τυχόν αλλοιώσεις διασφαλίζοντας την ποιότητά τους με το χαμηλότερο κόστος (1).

Βάσει του Νόμου 2939/01 ως συσκευασία (μέσο) νοείται:

«κάθε προϊόν κατασκευασμένο από οποιοδήποτε είδος υλικού και προοριζόμενο να χρησιμοποιείται για να περιέχει αγαθά. Σκοπός της είναι η προστασία, διακίνηση, διάθεση και η παρουσίαση των αγαθών από τον παραγωγό μέχρι το χρήστη ή τον καταναλωτή»

Η σπουδαιότητα της συσκευασίας έγκειται στο γεγονός ότι παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην προστασία των τροφίμων αν λάβουμε υπόψη ότι στις υποανάπτυκτες χώρες το 30-50% των παραγόμενων τροφίμων καταστρέφεται στους τόπους παραγωγής προτού φτάσει στον καταναλωτή, λόγω ακατάλληλων μέσων και υλικών συσκευασίας σε αντίθεση με το αντίστοιχο ποσοστό στην Ευρώπη που είναι μόνο το 2-3%.

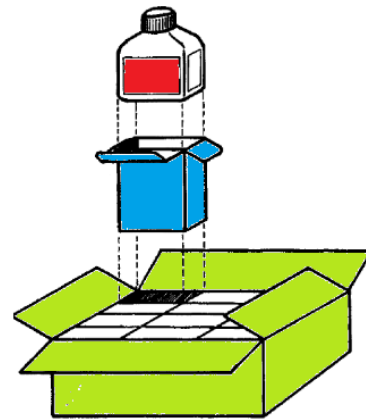
Τα βασικά χαρακτηριστικά μίας συσκευασίας πρέπει να είναι (2) (3):

- Η ευχρηστία της όσον αφορά την διακίνηση και αποθήκευση
- Η συγκράτηση του περιεχομένου
- Η ανθεκτικότητά της ως προς φυσικοχημικές και μικροβιακές αλλοιώσεις και η προστασία του προϊόντος από την έκθεση σε διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες και μηχανικές καταπονήσεις
- Η μη τοξικότητά της, δηλαδή να είναι αδρανής και να μην μολύνει το περιεχόμενο π.χ τρόφιμο ή καλλυντικό
- Η παροχή πληροφοριών τόσο για τη χρήση όσο και για τη σύσταση του προϊόντος
- Το χαμηλό κόστος
- Ο έλεγχος της πρόσληψης και απώλειας υγρασίας και οσμών

- Η εμφάνιση της, το σχήμα, ο σχεδιασμός, το χρώμα ώστε να προσελκύει τον καταναλωτή
- Η περιβαλλοντική της ευθύνη, δηλαδή η επαναχρησιμοποίηση και ανακύκλωσή της
- Η προστασία του περιεχομένου από έντομα ή τρωκτικά, σκόνες και ξένες ύλες και από το φως

Η συσκευασίες χωρίζονται σε τρία επίπεδα το πρωτογενές, δευτερογενές και τριτογενές ανάλογα με την επαφή τους με τα προϊόντα όπως φαίνεται στην *Εικόνα 2.1*, συνεπώς (4):

- **Πρωτογενής:** άμεση επαφή με το τρόφιμο ή το ποτό
- **Δευτερογενής ή συσκευασία διακίνησης:** συγκεντρώνει τις πρωτογενείς συσκευασίες
- **Τριτογενής:** περικλείει τις παραπάνω



Εικόνα 2.1: Τρεις τύποι συσκευασιών (4)

Ως υλικά συσκευασίας κυρίως χρησιμοποιούνται το χαρτί/ χαρτόνι, τα πλαστικά, το γυαλί, τα μέταλλα και διάφοροι τύποι πλαστικών ανάλογα με τις ανάγκες της συσκευασίας όπως φαίνεται στην *Εικόνα 2.2*. Οι πλαστικές συσκευασίες ανταγωνίζονται τις υπόλοιπες λόγω του χαμηλού βάρους και κόστους τους, της ευκολίας μορφοποίησής τους, της θερμικής τους σταθερότητας, των καλών μηχανικών ιδιοτήτων τους, της διαφάνειας και του ευρέος φάσματος ιδιοτήτων φραγής τους (5). Βασικές κατηγορίες πολυμερών στον τομέα των συσκευασιών είναι το LDPE που χρησιμοποιείται για σάκους, σακούλες, συμπιεζόμενες φιάλες, το HDPE για φιάλες χυμών και πόματα, το PP για κύπελα γιαουρτιού, το PVC για φιάλες διαφόρων προϊόντων τροφίμων και καλλυντικών, το PS για καπάκια και πόματα φιαλών και το PET για φιάλες αναψυκτικών, συσκευασιών έτοιμων φαγητών, ποτών και χαρακτηρίζεται για την μηδενική μετανάστευση ουσιών από τον περιέκτη στο περιεχόμενο (6).

Packaging



Εικόνα 2.2: Ποικιλία συσκευασιών που κυκλοφορούν στην αγορά
[<http://www.oxfordlearnersdictionaries.com/definition/english/aerosol>].

Η συσκευασία μετά την εκπλήρωση του κύριου σκοπού της, που είναι η προστασία και συντήρηση του προϊόντος μέχρι να καταναλωθεί, καθίσταται απόβλητο. Συνέπεια της συνεχόμενης αύξησης των πλαστικών συσκευασιών είναι ότι συσσωρεύονται στο περιβάλλον διότι δεν είναι πλήρως ανακυκλώσιμα λόγω της πολύ αργής αποικοδόμησής τους και βιοαποικοδομήσιμα και λόγω του χαμηλού βάρους τους διασπείρονται σε μεγάλη έκταση δημιουργώντας οικολογικά προβλήματα (6).

Τα πλαστικά χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, στα χημικής και βιολογικής προέλευσης, τα δεύτερα προέρχονται από φυσικές ανανεώσιμες πηγές και δύναται να είναι επιπλέον βιοαποικοδομήσιμα. Τα βιοδιασπώμενα υλικά άρχισαν να αναπτύσσονται λόγω της ανάγκης για προστασία του περιβάλλοντος και για αντικατάσταση των συνθετικών μη-βιοδιασπώμενων υλικών. Για την παρασκευή ειδικών τύπων πλαστικών, ικανών να αποικοδομούνται γρήγορα πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν κάποια κριτήρια όμοια με αυτά των ήδη υπαρχόντων συσκευασιών. Συνεπώς, τα νέα αυτά υλικά πρέπει να υπακούν σε κανόνες ασφαλείας κατά την επαφή με το τρόφιμο, να έχουν ικανοποιητική διάρκεια ζωής, να διασπώνται στον προβλεπόμενο χρόνο και όχι πρόωρα και φυσικά να είναι ακίνδυνα για το

περιβάλλον (6) (7).Οι χημικές, φυσικές και βιολογικές αλλαγές που μπορεί να προκύψουν στα τρόφιμα λαμβάνουν χώρα κατά το στάδιο της επεξεργασίας και αποθήκευσής τους, διότι είναι πιθανόν να εκτεθούν σε διάφορους περιβαλλοντικούς επιβλαβείς παράγοντες όπως παρουσιάζονται στον *Πίνακα 2.1*.

Πίνακας 2.1: Περιβαλλοντικοί παράγοντες και ιδιότητες που επηρεάζουν τα τρόφιμα [45]

<i>Περιβαλλοντικός παράγοντας</i>	<i>Επιπτώσεις στο τρόφιμο</i>	<i>Σχετιζόμενη ιδιότητα συσκευασίας</i>
O ₂ , CO ₂ , N ₂	Χημικές μεταβολές (οξειδώσεις, καταστροφή βιταμινών κ.λ.π)	Διαπερατότητα από αέρια
Υγρασία, Ενεργότητα νερού	Φυσικές μεταβολές (πρόσληψη-απώλεια υγρασίας, κρυσταλλώσεις)	Διαπερατότητα από υδρατμούς
Φως	Φυσιολογικές μεταβολές (αναπνοή)	Διαπερατότητα από φως
Μικροοργανισμοί και έντομα από το περιβάλλον	Μικροβιολογικές μεταβολές (επιμόλυνση από βιολογικούς παράγοντες)	Διατρησιμότητα από έντομα
Επικίνδυνες ουσίες στο περιβάλλον ή στη συσκευασία	Επιμόλυνση από χημικές ουσίες	Ύπαρξη ακατάλληλων προσθέτων ή συστατικών στη συσκευασία. Διαπερατότητα από χημικά
Μηχανική καταπόνηση	Μηχανική φθορά	Μηχανικές ιδιότητες
Θερμοκρασία		Θερμική αγωγιμότητα

Η συσκευασία παίζει σημαντικό ρόλο στη διάρκεια ζωής του προϊόντος που περικλείει, γι' αυτό το λόγο διεξάγονται δοκιμές υπό συγκεκριμένες συνθήκες στα υλικά συσκευασίας στα τρία βασικά περιβάλλοντα στα οποία εκτίθενται, με σκοπό τη διασφάλιση ποιότητας. Τα περιβάλλοντα στα οποία μπορεί να εκτεθεί μία συσκευασία, είναι το κλιματικό περιβάλλον, στο οποίο επιδρούν η θερμοκρασία, η υγρασία, το φως και άλλοι παράγοντες όπως βλέπουμε και στον *Πίνακα 2.2*, το φυσικό στο οποίο συμπεριλαμβάνονται οι μηχανικές φθορές των συσκευασιών όπως παρουσιάζεται στον *Πίνακα 2.3* και τέλος το βιολογικό περιβάλλον που περιλαμβάνει τους

μικροοργανισμούς και τα παράσιτα που εν δυνάμει μπορούν να αλλοιώσουν τη συσκευασία όπως φαίνεται στον Πίνακα 2.4 (4) .

Πίνακας 2.2: Κλιματικό περιβάλλον [2].

Κλιματικό περιβάλλον	
<i>Θερμοκρασία</i>	Υψηλή ή χαμηλή
<i>Υγρασία</i>	Εισχώρηση ή έξοδος
	Διάβρωση από θαλασσινό νερό
<i>Σχετική Υγρασία</i>	Συμπύκνωση απώλεια ή αύξηση υγρασίας
<i>Φως</i>	Ορατό, υπέρυθρο ή UV
<i>Αέρια</i>	Διαπερατότητα σε οξυγόνο, υγρασία
<i>Πίεση</i>	Αυξομείωση εξωτερική ή εσωτερικής πίεσης λόγω αλλαγής υψομέτρου
<i>Πτητικές ουσίες</i>	Εισχώρηση ή έξοδος αρωμάτων
<i>Σκόνη</i>	Έκθεση σε σωματίδια άμμου

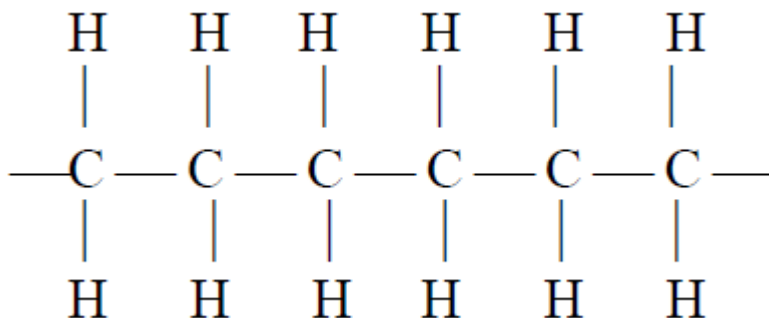
Πίνακας 2.3: Φυσικό περιβάλλον [2].

Φυσικό περιβάλλον	
<i>Κρούση/Καταπόνηση</i>	Κάθετες και οριζόντιες καταπονήσεις, όπως πτώσεις
<i>Δόνηση</i>	Δονήσεις κατά την μεταφορά
<i>Συμπίεση/Σύνθλιψη</i>	Δυναμική ή στατική φόρτιση
<i>Τριβή</i>	Επαφή με τραχείες επιφάνειες
<i>Διάτρηση/Σκίσιμο</i>	Επαφή με αιχμηρά αντικείμενα

Πίνακας 2.4: Βιολογικό περιβάλλον [2].

Βιολογικό περιβάλλον	
<i>Μικρόβια</i>	Βακτήρια, μύκητες, μούχλα, ζυμομύκητες, ιοί
<i>Παράσιτα</i>	Τρωκτικά, έντομα, πουλιά

Ένα από τα κυριότερα πολυμερή που χρησιμοποιείται ως υλικό συσκευασίας είναι το πολυαιθυλένιο.



Εικόνα 2.3: Δομή πολυαιθυλενίου (PE).

Το πολυαιθυλένιο χαρακτηρίζεται από απλή δομή όπως φαίνεται στην *Εικόνα 2.3* και ανάλογα με τον τρόπο πολυμερισμού του αιθυλενίου διακρίνεται σε χαμηλής πυκνότητας πολυαιθυλένιο (LDPE), σε πολυαιθυλένιο υψηλής πυκνότητας (HDPE) και στο LLDPE.

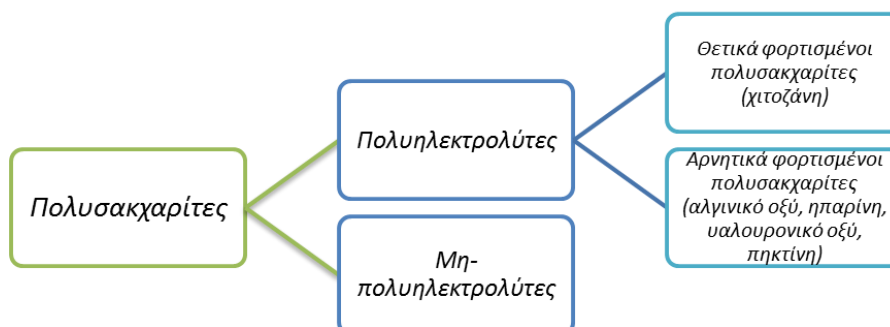
Το LDPE έχει 50-60% κρυσταλλικότητα και πυκνότητα από 0.915 g/cm³ έως 0.940 g/cm³, χαρακτηρίζεται ως σχετικά χημικά αδρανές, ημιπερατό σε υδρατμούς, αλλά πολύ διαπερατό σε οξυγόνο, αέρια, οσμές, είναι φτηνό, ευκατέργαστο, με υψηλή μηχανική αντοχή και διαφάνεια σε μικρά πάχη. Αντίστοιχα το HDPE έχει 70-80% κρυσταλλικότητα και πυκνότητα από 0.940 g/cm³ έως 0.970 g/cm³, παρουσιάζει μεγαλύτερη ακαμψία, σκληρότητα και λιγότερη διαφάνεια συγκριτικά με το LDPE. Τέλος, το LLDPE είναι κρυσταλλικό με δομή όμοια με αυτή του HDPE και πυκνότητα όμοια με του LDPE, αλλά παρουσιάζει καλύτερη αντοχή ως προς τα χημικά αντιδραστήρια, το όριο θραύσης και μεγαλύτερη επιμήκυνση (8).

2.2 Βιοπολυμερή ως υλικά συσκευασίας

2.2.1 Πολυσακχαρίτες

Η ανάγκη για προστασία του περιβάλλοντος από τη συσσώρευση των πλαστικών συσκευασιών οδήγησε στη χρήση βιοπολυμερών, υλικών που είτε εξάγονται απευθείας από τη βιομάζα (πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες, λιπίδια) είτε συντήθενται από βιοπροερχόμενα μονομερή (πολυγαλακτικό οξύ) είτε παράγονται απ' ευθείας από τους οργανισμούς (βακτηριακή κυτταρίνη). Χαρακτηριστικό αυτών των υλικών είναι η ικανότητά τους να βιοαποικοδομούνται με αποτέλεσμα να κερδίζουν έδαφος έναντι των πλαστικών. Τέτοιου είδους υλικά που μπορούν να αντικαταστήσουν τα πλαστικά είναι το άμυλο, τα παράγωγα της κυτταρίνης, οι κόμμες, τα λιπίδια, οι πρωτεΐνες (ζωϊκές, φυτικές) και οι πολυσακχαρίτες (χιτίνη, χιτοζάνη) (9).

Οι πολυσακχαρίτες είναι οργανικές ενώσεις της ομάδας των υδατανθράκων. Το μόριο των πολυσακχαριτών σχηματίζεται από την ένωση πολλών μορίων απλών σακχάρων, με γλυκοζιτικό δεσμό. Οι πολυσακχαρίτες που δημιουργούνται, μπορεί να έχουν γραμμική ή διακλαδισμένη δομή. Είναι άμορφες, άγευστες, άγλυκες ουσίες, αδιάλυτες ή λίγο διαλυτές σε νερό και θεωρούνται σημαντικοί είτε ως μόρια αποθήκευσης, είτε ως υλικά ενίσχυσης. Με υδρόλυση διασπώνται στους μονοσακχαρίτες από τους οποίους αποτελούνται. Οι πηγές πολυσακχαριτών είναι αλγινικής, φυτικής (πηκτίνη, κόμμη γκουάρ, μικροβιακής (δεξτράνη, κόμμη ξανθάνης) και ζωϊκής (χιτοζάνη, χονδροϊτίνη) προέλευσης. Χαρακτηρίζονται για τον μεγάλο αριθμό δραστικών ομάδων, για το μεγάλο εύρος μοριακών βαρών και για τις διάφορες χημικές συστάσεις, που συμβάλουν στην ποικιλομορφία των δομών και ιδιοτήτων τους και χωρίζονται σε δύο βασικές κατηγορίες, τους πολυηλεκτρολύτες και στους μη-πολυηλεκτρολύτες όπως φαίνεται στην *Εικόνα 2.4*.

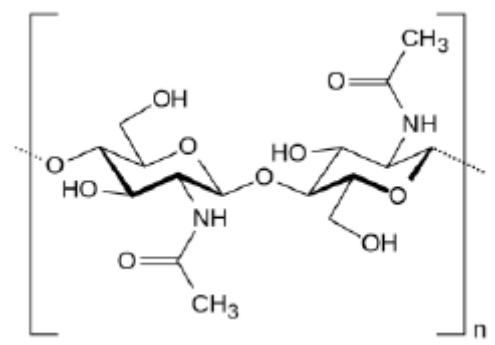


Εικόνα 2.4: Διαχωρισμός πολυσακχαριτών σε πολυηλεκτρολύτες και μη-πολυηλεκτρολύτες [6]

Οι πολυσακχαρίτες έχουν εύκολη χημική και βιοχημική τροποποίηση λόγω της ύπαρξης διαφόρων ομάδων στις μακρομοριακές τους αλυσίδες, θεωρούνται βιοϋλικά, χαρακτηρίζονται για τη σταθερότητα, την μη τοξικότητα, τη βιοαποικοδομησιμότητα και την αφθονία τους στη φύση και έχουν χαμηλού κόστους επεξεργασία. Έχουν υδρόφιλες ομάδες όπως υδροξύλια, καρβοξύλια, αμινομάδες, που έχουν τη δυνατότητα σχηματισμού μη ομοιοπολικών δεσμών με βιολογικούς ιστούς (επιθήλια, βλεννογόνους) (10).

2.2.2 Χιτίνη

Στη φύση, οι πιο διαδεδομένοι πολυσακχαρίτες είναι το άμυλο, η ινουλίνη και το γλυκογόνο, (χαρακτηριζόμενοι ως αποθηκευτικοί), και δομικοί πολυσακχαρίτες είναι η κυτταρίνη, που συμβάλλει στην κατασκευή των κυτταρικών τοιχωμάτων των φυτών και η χιτίνη, που βρίσκεται στο σκελετικό υλικό των οστρακόδερμων. (χαρακτηριζόμενοι ως υλικά ενίσχυσης). Η χιτίνη (Εικόνα 2.5) θεωρείται βιομακρομόριο και είναι αζωτούχος πολυσακχαρίτης με 2-δεοξυ-2-ακετυλάμινο-D-γλυκόζη Η χιτίνη (πολύ-(β-(1-4)-N-ακετυλ-D-γλυκοζαμίνη), είναι γραμμικό πολυμερές αποτελούμενο από ολιγομερή N-ακετυλογλυκοζαμίνης τα οποία είναι συνδεδεμένα με β-1,4-γλυκοσιδικούς δεσμούς. Ο σχηματισμός των μακριών γραμμικών αλυσίδων που λειτουργούν ως δομικά στοιχεία οφείλεται στη β διαμόρφωσή της. Η δομή της χαρακτηρίζεται από σταθερότητα, λόγω του ότι εκφράζεται με τη μορφή διατεταγμένων κρυσταλλικών μικροϊνιδίων και χαρακτηρίζεται για τις ιδιότητές της όπως το ότι είναι αδιάλυτη, βιοσυμβατή, σκληρή αλλά και εύκαμπτη και έχει λευκό χρώμα (11).



Εικόνα 2.5: Η δομή της χιτίνης [8].

Η χιτίνη είναι το δεύτερο σε αφθονία βιοπολυμερές στη φύση μετά την κυτταρίνη και η βιοσύνθεσή της έχει υπολογιστεί με 10^9 - 10^{11} τόνους ετησίως. Παρ' όλα αυτά για να προκύψει άχρωμο, καθαρό προϊόν χωρίς επιμολύνσεις είναι δύσκολο διότι δεν είναι ικανοποιητικές οι μέθοδοι καθαρισμού της (11) (12).

Η χιτίνη εντοπίζεται *Εικόνα 2.6* (12):

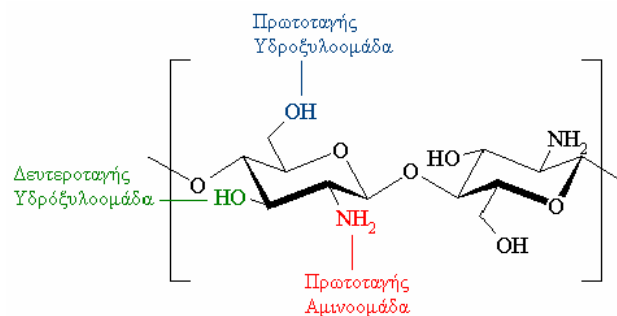
- Στο τοίχωμα των μυκήτων, όπου είναι ισχυρά προσδεδεμένη με γλυκάνες
- Στο κέλυφος των αρθρόποδων, όπου σταθεροποιείται μέσω διαμοριακών συνδέσεων με πρωτεΐνες και υδροξυφαινόλες
- Στον εξωσκελετό των εντόμων, όπου βρίσκεται μαζί με καροτενοειδή
- Στα αρχαίζωα
- Στα πρωτόζωα
- Στα φύκη



Εικόνα 2.6: Προέλευση χιτοζάνης από καρκινοειδή [8].

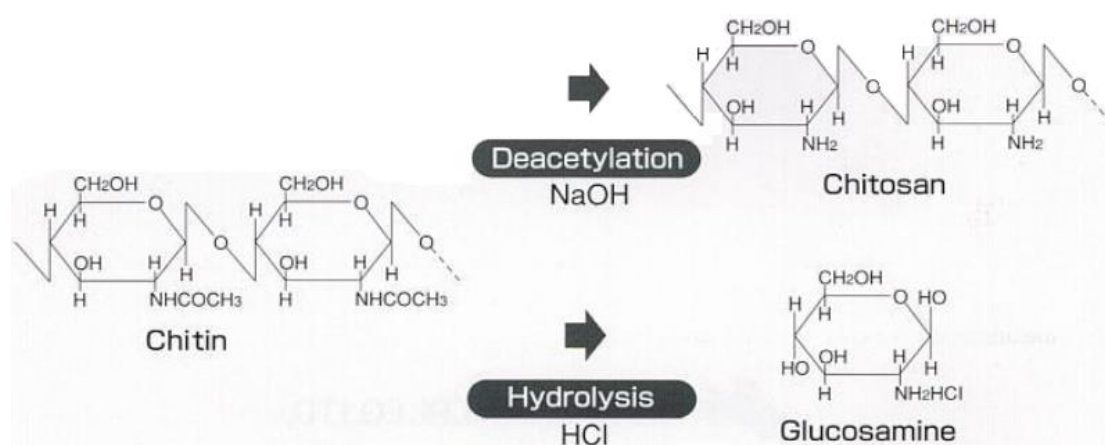
2.2.3 Χιτοζάνη

Είναι το μοναδικό ψευδο-φυσικό πολυμερές, με ονομασία πολυ(β-(1→4)-D-γλυκοζαμίνη) *Εικόνα 2.7*. Είναι συμπολυμερές της γλυκοζαμίνης και της N-ακετυλο γλυκοζαμίνης, που προέρχονται από το φυσικό πολυμερές, τη χιτίνη που βρίσκεται σε μη καθαρή μορφή στα κελύφη γαρίδων και καβουριών.



Εικόνα 2.7: Η δομή της χιτοζάνης [42].

Για να παρασκευαστεί η χιτοζάνη, πρέπει να γίνει αποακετυλίωση της χιτίνης υπό βασικές συνθήκες και δίνει συμπολυμερική αλυσίδα σε διάφορες αναλογίες γλυκοζαμίνης και N-ακετυλο γλυκοζαμίνης. Για να επιτευχθεί η διαδικασία της αποακετυλίωσης πρέπει οι συνθήκες να είναι ισχυρά αλκαλικές ή να πραγματοποιηθεί ενζυμική υδρόλυση παρουσία ενός ενζύμου (αποακεταλάσης). Όταν ο βαθμός της αποακετυλίωσης υπερβεί το 50% τότε η μερικώς αποακετυλιωμένη μορφή της χιτίνης μετατρέπεται σε χιτοζάνη και μπορεί να διαλυθεί σε όξινα διαλύματα. Το 70-90% των επαναλαμβανόμενων αλυσίδων στις συνηθισμένες χιτοζάνες είναι αποακετυλιωμένο. Η διαδικασία παραγωγής χιτοζάνης μέσω της αλκαλικής αποακετυλίωσης, περιλαμβάνει βρασμό σε πυκνό διάλυμα NaOH (40-45%) στους 120°C για 1-3 ώρες (9). Για να είναι κατάλληλη η χρήση της χιτοζάνης για βιολογικές αλλά και φαρμακευτικές εφαρμογές, πρέπει να γίνεται επαρκής καθαρισμός των ενδοτοξινών της (10).



Εικόνα 2.8: Διαδικασία αποακετυλίωσης χιτίνης για το σχηματισμό χιτοζάνης [6].

Η διαδικασία παραγωγής χιτοζάνης από την πρώτη ύλη (π.χ κοχύλια), γίνεται σε τέσσερα βασικά στάδια, την αποπρωτεΐνωση, την αφαλάτωση, τον αποχρωματισμό της

πρώτης ύλης όπου μετατρέπεται σε χιτίνη και τέλος την αποακετυλίωση της χιτίνης και την παραγωγή της χιτοζάνης (*Εικόνα 2.8*).

Οι χημικές ιδιότητες της χιτοζάνης σχετίζονται με τις αντιδραστικές αμινομάδες και οι ομάδες υδροξυλίου που διαθέτει και με τη δυνατότητά της να συμπλοκοποιεί πολλά ιόντα μεταβατικών μετάλλων. Αποτελεί επίσης φυσικό πολυμερές, ασφαλές και μη τοξικό και χαρακτηρίζεται για τις βιολογικές της ιδιότητες, όπως η βιοαποικοδομησιμότητα και η ικανότητα σύνδεσής της με τα κύτταρα των μικροβίων. Επιπλέον, χαρακτηρίζεται για την αναγεννητική επίδραση της στον ιστό των ούλων, επιταχύνει το σχηματισμό των οστεοβλαστών που είναι υπεύθυνοι για το σχηματισμό των οστών και έχει αιμοστατικές, αντικαρκινικές, αντιχοληστεριναιμικές και ανοσοενισχυτικές ιδιότητες (13) (14). Μπορεί επίσης να διαμορφωθεί σε μορφή διαλύματος, σκόνης, γέλης, μεμβρανών και ινών, πράγμα το οποίο την καθιστά ένα πολλά υποσχόμενο υλικό για εφαρμογή σε διάφορους τομείς.

2.2.3 Εφαρμογές χιτοζάνης

Βιομηχανικές εφαρμογές

- Καλλυντικά

Η χιτοζάνη ανοίκει στην κατηγορία των κολλοειδών ουσιών, είναι ένας κατιονικής φύσεως πολυσακχαρίτης, που είναι συμβατός με πολλά ενεργά συστατικά των καλλυντικών και έχει τη δυνατότητα απορρόφησης της επιβλαβούς ακτινοβολίας. Έχει αντιοξειδωτικές, αντιαλλεργικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και χάρις του αντιμηκυτιακού της χαρακτήρα, τα παράγωγά της χρησιμοποιούνται στα καλλυντικά που σχετίζονται με την προστασία των μαλλιών, του δέρματος και του στόματος. Η χιτοζάνη όντας θετικά φορτισμένη, δημιουργεί ένα ελαστικό φιλμ πάνω στα αρνητικά φορτισμένα μαλλιά, βελτιώνοντας την απαλότητα και την αντοχή τους, ενώ αν αναμειχθεί με οινόπνευμα ή νερό έχει τη μορφή ζελέ (13). Συνεπώς, χρησιμοποιείται σε τονοτικά σαμπουάν, βαφές, λοσιόν κ.α. Επίσης, είναι φιλική προς το δέρμα διότι το ενυδατώνει και λόγω του υψηλού μοριακού της βάρους δε μπορεί να το διαπεράσει (9). Τόσο η χιτίνη όσο και η χιτοζάνη αποτελούν συστατικό σε κρέμες, σε προϊόντα καθαρισμού, κραγιόν κ.α (13).

- Καθαρισμός νερού

Μεγάλα ποσοστά της παγκόσμιας παραγωγής χιτίνης και χιτοζάνης χρησιμοποιούνται για την απολύμανση των λυμάτων και ανταγωνίζονται τη ρητίνη όσον αφορά την απομάκρυνση βαρέων μετάλλων όπως το αρσενικό από το πόσιμο νερό (9). Στο πεδίο εφαρμογής της εντάσσονται η αφαλάτωση, η ώσμωση και η διήθηση (13).

- Βιομηχανία χαρτιού

Χάρις την βιοαποικοδομησιμότητά της, χρησιμοποιείται για την ενίσχυση ανακυκλώσιμων χάρτινων συσκευασιών, διότι παρουσιάζει ομοιότητες με την κυτταρίνη προσδίδοντας όμως στο χαρτί απαλότερη και ανθεκτικότερη στην υγρασία επιφάνεια (13).

- Γεωργία

Έχει τη δυνατότητα ενίσχυσης και επιτάχυνσης της ανάπτυξης των σπόρων και λόγω του αντιμικροβιακού χαρακτήρα της μειώνει την πιθανότητα εμφάνισης παρασίτων και μυκήτων (13).

- Φωτογραφία

Δρά ως διορθωτικός παράγοντας σε χρωστικές και βελτιώνει τη διάχυση των χρωμάτων (13).

- Τρόφιμα

Λόγω της μη τοξικότητάς της, η μικροκρυσταλλική χιτοζάνη χρησιμοποιείται στα τρόφιμα ως γαλακτωματοποιητής, αυξητικός παράγοντας, σταθεροποιητής τροφίμων, διατροφικό συμπλήρωμα και έχει επιλύσει αρκετά προβλήματα που παρουσιάζουν οι ίνες των τροφών σχετικά με τη γεύση, το χρώμα, τη διάρκεια ζωής (13). Επίσης, έχει τη δυνατότητα ακινητοποίησης μικροβιακών, ζωϊκών, φυτικών κυττάρων και ενζύμων, των οποίων οι καταλύτικές ιδιότητες, η αντοχή στη θερμοκρασία και η επαναχρησιμοποίησή τους ενισχύονται (15) .

Βιολογικές εφαρμογές

▪ Χορήγηση φαρμάκων

Η χιτοζάνη έχει τη δυνατότητα να λειτουργεί ως φορέας φαρμάκων διαπερνώντας τις κυτταρικές μεμβράνες (15) , χάρις στην παρουσία ελεύθερων αμινομάδων, στην μη τοξικότητάς της και λόγω του χαμηλού κόστους της μπορεί να χρησιμοποιηθεί ευρύτατα σε ελεγχόμενα συστήματα απελευθέρωσης φαρμάκων (13) . Έχει την ικανότητα να προσκολλάται στο βλεννώδη ιστό, να εγκλύει ως νανοσωματίδιο υδρόφιλα φάρμακα και να χρησιμοποιείται ως περίβλημα για ελεγχόμενη διάχυση φαρμάκου σε συγκεκριμένους χρόνους (9) (16).

▪ Ικρίωματα αναγέννησης ιστού

Η μηχανική των ιστών ασχολείται με την αντικατάσταση ή υποστήριξη τμημάτων ή λειτουργιών του ανθρώπινου οργανισμού, που έχουν υποστεί βλάβες. Για να τοποθετηθεί ένα οστικό εμφύτευμα στον οργανισμό πρέπει να μιμείται τα οστά, συνεπώς πρέπει να είναι βιοσυμβατό και να χαρακτηρίζεται για τη λειτουργική και μηχανική του σταθερότητα για μεγάλο χρονικό διάστημα. Επιπλέον, επιταχύνει την ανάπλαση των ιστών διότι ενθαρρύνει την προσκόλληση σ' αυτήν κυττάρων ανάλογα με το βαθμό αποακετυλίωσής της, λόγω της πολυκατιονικής φύσης της (13). Έχει 3D δομή που διατηρείται λόγω των αλληλεπιδράσεων των αλυσίδων και των διάφορων χημικών δεσμών και σχηματίζει ικρίωμα ικανό να δρα ως κυτταρικός μεταφορέας, αποτρέποντας ανοσολογικές αντιδράσεις και φλεγμονές (9).

▪ Επούλωση πληγών/ Κάψιμο/ Τεχνητό δέρμα

Οι μεμβράνες χιτοζάνης έχουν παρουσιάσει ελεγχόμενη απώλεια νερού, εξαιρετική διαπερατότητα και ταυτόχρονα παρεμποδίζουν τη διείσδυση μικροοργανισμών. Τα αποτελέσματα διαφόρων μελετών έχουν δείξει ότι επιταχύνει την επούλωση των πληγών κατά 30 τοις εκατό (13), αποτρέποντας τη δημιουργία ουλών δημιουργώντας ένα προστατευτικό κάλυμμα στην πληγή (15) . Η χιτίνη τοποθετείται ως επικάλυψη υλικών που χρησιμοποιούνται σε ιατρικές εφαρμογές, όπως σε ράμματα, γάζες παρουσιάζοντας καλύτερη απόκριση συγκριτικά με τα κλασσικά χρησιμοποιούμενα υλικά (13). Η εφαρμογή της χιτοζάνης επεκτείνεται και στον τομέα των εγκαυμάτων διότι σχηματίζει βιοσυμβατά και απορροφητικά φιλμ όπως φαίνεται και στην *Εικόνα 2.9*, τα οποία τοποθετούνται πάνω στο έγκαυμα. Αντίθετα με άλλα επιθέματα που

χρησιμοποιούνται ως θεραπεία, η χιτοζάνη βιοδιασπάται και συνεπώς απορροφάται από το δέρμα και δε χρειάζεται να αφαιρεθεί μετά την επούλωση (13). Πάνω στις μεμβράνες χιτοζάνης λόγω της ομοιότητας των χαρακτηριστικών τους με τις γλυκάνες, γίνεται σύνθεση νέου ιστού καθώς αποτελούν υποκατάστατο για την αντικατάσταση του δέρματος στις πλαστικές επεμβάσεις (13) .



Εικόνα 2.9: Τεχνητό δέρμα από χιτοζάνη [Tama Art University bulletin 2006]

▪ Οφθαλμολογία

Η χιτοζάνη έχει αντικαταστήσει τα συνθετικά πολυμερή στον τομέα της οφθαλμολογίας. Διακρίνεται για την οπτική της καθαρότητα, μηχανική σταθερότητα, διαπερατότητα σε αέρια, συμβατότητα με το ανοσολογικό σύστημα και χρησιμοποιείται για την παρασκευή φακών επαφής. Επίσης, επιλέγεται για τη θεραπεία τραυματισμών στους οφθαλμούς διότι εκτός των παραπάνω χαρακτηριστικών της δύναται να σχηματίζει φιλμ (13) .

▪ Οδοντιατρική

Η χιτοζάνη επεκτείνεται στον τομέα της οδοντιατρικής λόγω των παρόμοιων με τα οστά χαρακτηριστικών της και επιπλέον έχει τη δυνατότητα να μένει για μεγάλο διάστημα στη στοματική κοιλότητα, επαρκή διείσδυση φαρμάκου, εξαιρετικές αντιμικροβιακές ιδιότητες αποτρέποντας τις τυχόν επιμολύνσεις, αποτελεσματικότητα, τη δυνατότητα να μορφοποιείται είτε σε gel είτε σε φιλμ (15) .

- Υποχοληστερολαιμική δράση

Η χιτοζάνη μειώνει τα επίπεδα της απορροφούμενης χοληστερόλης και προκαλεί παρεμβολές στην απορρόφηση χολικών οξέων διότι έχει ο μηχανισμός λειτουργίας της είναι όμοιος με αυτόν των διαιτητικών ινών (15) .

2.3 Κρίσιμες απαιτήσεις των υλικών συσκευασίας

2.3.1 Βασικά χαρακτηριστικά υλικών εύκαμπτης συσκευασίας

Για να θεωρηθεί ένα υλικό ικανό να χρησιμοποιηθεί ως υλικό εύκαμπτης συσκευασίας θα πρέπει να πληροί κάποιες προϋποθέσεις, όπως η ικανοποιητική δυσκαμψία και αντοχή, η ικανότητα διαμόρφωσης σε φιλμ και γενικότερα η ικανότητα παραμόρφωσής του, ώστε να μπορεί εν δυνάμει να αγκαλιάζει το τρόφιμο και να λαμβάνει λιγότερο χώρο κατά την αποθήκευση και διανομή του. Επιπλέον είναι επιθυμητό να προσδίδει χαμηλό βάρος στο προϊόν, να διαθέτει ελεγχόμενες ιδιότητες φραγμού καθώς και η ανθεκτικότητά του να είναι τέτοια που να εξασφαλίζει την ακεραιότητα και απόδοσή του κατά τη διάρκεια λειτουργίας του. Τα τελευταία χρόνια γίνεται προσπάθεια η συσκευασία να λειτουργεί ως «έξυπνη» συσκευασία προσδίδοντας επιπλέον χαρακτηριστικά, όπως για παράδειγμα αντιμικροβιακές ιδιότητες ούτως ώστε να λειτουργεί ως αναστολέας στην αύξηση των μικροοργανισμών (17) .

Έχοντας επίγνωση των φυσικών ιδιοτήτων των υλικών συσκευασίας, διευκολύνεται και ελέγχεται η πορεία κατασκευής της και επιλέγεται ο σχεδιασμός κατάλληλης συσκευασίας για τα τρόφιμα.

Εκτός από τις φυσικές ιδιότητες, βασικότερο ρόλο παίζουν οι μηχανικές ιδιότητες των υλικών συσκευασίας, που περιγράφουν το πώς ένα υλικό αντιδρά στην εφαρμογή δυνάμεων. Ο τύπος της εφαρμοζόμενης δύναμης, ο χρόνος εφαρμογής της, το μέγεθός της, η κατεύθυνσή της, η πηγή της και άλλες παράμετροι ορίζουν διαφορετικές ιδιότητες. Η εφαρμοζόμενη δύναμη μπορεί να είναι είτε στατική, που εφαρμόζεται για κάποιο χρονικό διάστημα με σταθερή ένταση, όπως για παράδειγμα το τράβηγμα ενός προϊόντος από το ράφι του σούπερ μάρκετ, είτε δυναμική, που αφορά τις τάσεις που οφείλονται σε κρούσεις, πτώσεις ή δονήσεις. Σχετικά με την κατεύθυνση άσκησης μιας δύναμης, λαμβάνονται υπόψη οι τάσεις εφελκυσμού, όπως η δύναμη επιμήκυνσης που εφαρμόζεται για το τύλιγμα του τροφίμου και γενικότερα η παραμορφώσεις που επιδέχεται καθ' όλη τη διάρκεια ζωής του προϊόντος και οι τάσεις συμπίεσής, που σχετίζονται με την ελάττωση του όγκου των πλαστικών απορριμμάτων. Σε πραγματικές συνθήκες παρατηρείται συνδυασμός όλων των παραπάνω τρόπων άσκησης δύναμης, αλλά για τον έλεγχο της μηχανικής αντοχής σημαντικότερο ρόλο παίζουν οι τάσεις εφελκυσμού και η μελέτη των τάσεων,

παραμορφώσεων υπό ένα σταθερό ρυθμό επιβολής φορτίου. Σχετικά με τις μηχανικές ιδιότητες, η παραμόρφωση του υλικού υπό σταθερή τάση είναι ο σημαντικότερος παράγοντας για την πρόβλεψη του χρόνου ζωής ενός προϊόντος (1) .

2.3.2 Ο ρόλος των πλαστικοποιητών

Για να βελτιωθούν οι φυσικοχημικές και μηχανικές ιδιότητες των πολυμερών, εισάγονται σε αυτά διάφορα πρόσθετα που δεν επηρεάζουν και δε μετατρέπουν τη μοριακή δομή του πολυμερούς. Τέτοιου είδους πρόσθετα είναι οι χρωστικές, τα λευκαντικά, διογκωτικά και οι σταθεροποιητές UV, *τα αντιοξειδωτικά*, τα οποία παρεμποδίζουν την αποικοδόμηση του πολυμερούς από το οξυγόνο, *τα αντιστατικά*, όπως είναι η γλυκερόλη, *τα αντικολλητικά* όπως είναι η σιλικόνη που συμβάλλει στην καλύτερη προσκόλληση των μεμβρανών, *τα αντιθαμβωτικά μέσα*, που παρεμποδίζουν την εναπόθεση υγρασίας στο υλικό, *τα αντιμικροβιακά*, για την αναστολή της ανάπτυξης βακτηρίων, *οι σταθεροποιητές θέρμανσης*, που εμποδίζουν την αποσύνθεση του πολυμερούς κατά τη μορφοποίησή του όπου αναπτύσσονται υψηλές θερμοκρασίες, *τα λιπαντικά*, που χρησιμοποιούνται για τη μείωση του ιξώδους και τέλος *οι πλαστικοποιητές*, που συνήθως είναι φθαλικοί και αδιπικοί εστέρες κτλ. (1).

Κατά IUPAC ως πλαστικοποιητής ορίζεται μία ουσία που ενσωματώνεται στο υλικό με σκοπό την αύξησης της ευελιξίας, εργασιμότητας ή διατασιμότητας. Οι πλαστικοποιητές μειώνουν την αντοχή, το ιξώδες και το ηλεκτροστατικό φορτίο αλλά ταυτόχρονα αυξάνουν την ευκαμψία της πολυμερικής αλυσίδας, την αντοχή σε θραύση και τη διηλεκτρική σταθερά του πολυμερούς. Επίσης επηρεάζονται και παράμετροι όπως ο βαθμός κρυσταλλικότητας, η οπτική καθαρότητα, η αντοχή σε βιοαποικοδόμηση. Οι πλαστικοποιητές είναι ουσίες με υψηλό σημείο ζέσεως και μέσα μοριακά βάρη από 300-600. Λόγω του χαμηλού μοριακού μεγέθους τους οι πλαστικοποιητές μπορούν να καταλαμβάνουν τα διαμοριακά διαστήματα μεταξύ των αλυσίδων του πολυμερούς, αλλάζοντας την τρισδιάστατη οργάνωση των πολυμερών, μειώνοντας την απαιτούμενη ενέργεια για την κίνηση της αλυσίδας και σχηματίζοντας δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των αλυσίδων, με αποτέλεσμα να παρατηρείται αύξηση του ελεύθερου όγκου και της κινητικότητας της αλυσίδας. Ως εκ τούτου, ο βαθμός πλαστικοποίησης του πολυμερούς, εξαρτάται από τη χημική δομή του πλαστικοποιητή (ενεργές ομάδες, μοριακό βάρος) συνεπώς αλλαγή στον τύπο του πλαστικοποιητή θα διαφοροποιήσει τα τελικά μηχανικά αποτελέσματα (18) .

Η επιλογή του πλαστικοποιητή γίνεται με βάση τη συμβατότητά του, το απαιτούμενο ποσοστό πλαστικοποίησης, τις επιθυμητές θερμικές, ηλεκτρικές και μηχανικές ιδιότητες του τελικού προϊόντος, την τοξικότητα και φυσικά το κόστος. Η συμβατότητα πλαστικοποιητή-πολυμερούς παίζει πολύ σημαντικό ρόλο για την επίτευξη της επιθυμητής πλαστικοποίησης και λαμβάνονται υπόψιν παράμετροι όπως η πολικότητα, οι δεσμοί υδρογόνου, η διηλεκτρική σταθερά και η διαλυτότητα.

2.3.3 Μετανάστευση υλικού

Τα τελευταία χρόνια λόγω της μεγάλης ζήτησης συσκευασιών από τις εταιρείες τροφίμων, χρησιμοποιούνται πάνω από 30 είδη πολυμερικών υλικών, που για να βελτιώσουν τις ιδιότητές τους ενισχύονται με πρόσθετα, πλαστικοποιητές, σταθεροποιητές, αντιοξειδωτικά, λιπαντικές ουσίες κ.α. (19). Η μεγαλύτερη ανησυχία έγκειται όχι μόνο στα πρόσθετα που εισάγονται στις τροφές, αλλά κυρίως σε αυτά που εμπεριέχονται στα υλικά που έχουν άμεση επαφή με αυτές. Ως μετανάστευση υλικού θεωρείται η μετάβαση μοριακών ειδών και ιόντων από τη συσκευασία στο προϊόν με αποτέλεσμα την αλλοίωση του και τη μείωση της διάρκειας ζωής του (4). Τέτοιου είδους στοιχεία είναι οι φθαλικοί πλαστικοποιητές οι οποίοι μπορεί να επιμολύνουν το τρόφιμο και συνεπώς να επηρεάσουν την ανθρώπινη υγεία λόγω της τοξικότητάς τους, προκαλώντας καρκίνο. Επιμόλυνση μπορεί επίσης να προκληθεί λόγω της αποσύνθεσης των μονομερών των πλαστικών συσκευασιών κάτω από συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες και σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις όπως φαίνεται στην *Εικόνα 2.10* (19).



Εικόνα 2.10: Κρίσιμη αποδεκτή ποσότητα μετανάστευσης υλικού [<http://analyteguru.com/where-is-your-food-packaging-material-migrating-to-this-winter/>].

Η μετανάστευση υλικού διακρίνεται από τρία στάδια, τη διάχυση εντός του πολυμερούς, τη διεπιφανειακή επαφή πολυμερούς-τροφής και τέλος τη διασπορά υλικού στο τρόφιμο.

Η διάχυση αποτελεί μία μακροσκοπική έκφραση ενός τυχαίου περιπάτου των μεταναστευτικών μορίων εντός του πολυμερικού πλέγματος και ακολουθεί το νόμο του Fick:

$$F = -D_p \frac{\delta C_p}{\delta x}, [1]$$

όπου F είναι ο ρυθμός μεταφοράς πολυμερούς ανά μονάδα επιφάνειας, D_p είναι ο συντελεστής μετανάστευσης του πολυμερούς και C_p είναι η συγκέντρωση του μεταναστευτικού υλικού εντός του πολυμερούς. Επιπλέον, μελέτες έχουν δείξει πως η μετανάστευση υλικού εξαρτάται και από το πάχος της συσκευασίας d_g το οποίο ποικίλει ανάλογα με τον τύπο του πολυμερούς.

Στο δεύτερο στάδιο, πραγματοποιείται η μεταφορά υλικού από τη συσκευασία στο προϊόν και παρουσιάζει σταδιακά αυξημένο και συνεχή ρυθμό μετανάστευσης, που οφείλεται στο βαθμό διαλυτότητας στο τρόφιμο. Πρέπει να σημειωθεί ότι μεγαλύτερη διαλυτότητα των προσθέτων παρουσιάζεται σε λιπαρές και όχι σε υδατικές τροφές, διότι είναι λιπαρο-διαλυτά στοιχεία.

Στο τελικό στάδιο τα διαλυτά μόρια απομακρύνονται από τη διεπιφάνεια συσκευασίας-τροφίμου και αρχίζει η διασπορά τους στο τρόφιμο. Συνεπώς οι δύο παράγοντες που επηρεάζουν το φαινόμενο της μετανάστευσης υλικού είναι η διαλυτότητα και ο συντελεστής διάχυσης επηρεάζοντας έτσι το ποσοστό και τον ρυθμό μετανάστευσης στο σύνολο.

Για να μελετηθεί η πιθανότητα ένα υλικό συσκευασίας να επιμολύνει το προϊόν που περικλείει, γίνεται χρήση προσομοιωτών τροφίμων, που αναφέρονται στην *Εικόνα 2.11*, για να μελετηθεί η συμπεριφορά της συσκευασίας σε πραγματικές συνθήκες (19).

Τύπος τροφίμων	Προσομοιωτής τροφίμων	Σύντμηση
Υδατικά τρόφιμα (pH>4.5)	Απεσταγμένο νερό	Προσομοιωτής Α
Οξινά τρόφιμα (pH<4.5)	Οξικό οξύ 3% σε υδατικό δ/μα	Προσομοιωτής Β
Αλκοολούχα τρόφιμα	Αιθανόλη 10% σε υδατικό δ/μα. Η συγκέντρωση προσαρμόζεται στον πραγματικό αλκοολικό τίτλο αν είναι μεγαλύτερος του 10%	Προσομοιωτής Γ
Λιπαρά τρόφιμα	Εξευγενισμένο ελαιόλαδο ή άλλοι λιπαροί προσομοιωτές (πχ ισοοκτάνιο)	Προσομοιωτής Δ
Ξηρά τρόφιμα	Ουδέν	Ουδέν
Γαλακτοκομικά προϊόντα	Αιθανόλη 50% σε υδατικό δ/μα	

Εικόνα 2.11: Παρουσίαση διαφόρων τύπων προσομοιωτών [16].

2.4 Διαπερατότητα υλικών συσκευασίας και παράγοντες που την επηρεάζουν

Η ικανότητα των συσκευασιών να διατηρούν την ακεραιότητά τους εξαρτάται από το πόσο εύκολα ή δύσκολα εισέρχεται υγρασία, αέρια ή πτητικές ουσίες, λόγω των συγκολλησεων της συσκευασίας αλλά και της διαπερατότητας του υλικού. Γενικά τα πλαστικά είναι σχετικά διαπερατά σε μικρά μόρια όπως αέρια, υδρατμοί, υγρά. Οι υδρατμοί και το οξυγόνο μελετώνται περισσότερο λόγω του ότι μπορεί να μεταφέρονται από το εξωτερικό στο εσωτερικό περιβάλλον της συσκευασίας προκαλώντας αλλοιώσεις στο περιεχόμενο όπως φαίνεται και στον Πίνακα 2.5 (4).

Πίνακας 2.5: Ανεπιθύμητες αλλαγές που υποβαθμίζουν την ποιότητα των τροφίμων (9).

Χαρακτηριστικό	Ανεπιθύμητη αλλαγή
Υφή	A. Απώλεια διαλυτότητας B. Απώλεια ικανότητας συγκράτησης νερού Γ. Σκληρότητα Δ. Μαλάκωμα
Άρωμα	A. Ταγγίσμα B. Αρώμα μαγειρεμένου προϊόντος ή καραμέλας Γ. Άλλες δυσοσμίες
Χρώμα	A. Αμαύρωση B. Αποχρωματισμός Γ. Ανάπτυξη άλλων δυσχρωμιών
Εμφάνιση	A. Αύξηση μεγέθους σωματιδίων B. Ελάττωση του μεγέθους σωματιδίων Γ. Μη ομοιομορφία του μεγέθους σωματιδίων
Θρεπτική αξία	Απώλεια ή υποβάθμιση των A. Βιταμινών B. Ανόργανων υλών Γ. Πρωτεϊνών Δ. Λιπιδίων

Ως διαπερατότητα ορίζεται η μέτρηση της ικανότητας ενός ρευστού να διαβιβαστεί μέσα από ένα υλικό. Αναλυτικότερα τα αέρια έχουν την δυνατότητα της διάχυσης με μοριακό μηχανισμό (ενεργοποιημένη διάχυση), μέσα από τους πόρους και τις ρωγμές και οι ατμοί διαλύονται στη μία επιφάνεια, διαχέονται δια μέσου του υλικού και λόγω της διαφοράς συγκέντρωσης εξατμίζονται στην άλλη επιφάνεια. Η διαπερατότητα καθορίζεται από το ρυθμό προσρόφησης μορίων αερίου/υγρού, από το ρυθμό διάχυσης μορίων αερίου, από τον κενό χώρο και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αλυσίδων του πολυμερούς (9).

Για την εν λόγω διάχυση διαμέσου ενός φύλλου του υλικού ισχύει ο νόμος του Fick:

$$J = -DA \frac{dc}{dx} \quad [2]$$

όπου J είναι ο ρυθμός μεταφοράς αερίων ή ατμού (moles/s), D είναι ο συντελεστής διάχυσης αερίου ή ατμού στο υλικό (cm²/s), A είναι η επιφάνεια διάχυσης (cm²), dc είναι η συγκέντρωση αερίου ή ατμού (moles/cm³) και dx είναι η απόσταση μέσα στο φύλλο στην κατεύθυνση διάχυσης (9).

Ο συντελεστής διαπερατότητας εκφράζει ουσιαστικά το ποσό του αερίου που περνά διαμέσου του πάχους του φιλμ ανά μονάδα χρόνου και επιφάνειας όταν η διαφορά πίεσης στις δύο πλευρές ισούται με τη μονάδα. Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη διαπερατότητα είναι η χημική σύνθεση και μορφολογία του πολυμερούς, η χημική σύνθεση του διεισδυτικού, η συγκέντρωση του διεισδυτικού, η παρουσία άλλης ένωσης που συνμεταφέρεται, η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία.

Η χημική σύνθεση και μορφολογία του πολυμερούς

Η μοριακή δομή και η πολικότητα των πολυμερών επηρεάζει τις ιδιότητες φραγμού των φιλμ, συνεπώς τα πολικά πολυμερή (πολυβινυλική αλκοόλη), εμφανίζουν πολύ χαμηλή διαπερατότητα σε αέρια αλλά διαπερνούνται εύκολα από τους υδρατμούς, σε αντίθεση με τα μη πολικά που ισχύει το αντίστροφο. Για να επιτευχθεί η ελάχιστη διαπερατότητα του πολυμερούς σε αέρια πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κάποιες βασικές ιδιότητές τους όπως:

- Ο υψηλός βαθμός πολικότητας, διότι όσο μεγαλύτερος είναι ο βαθμός πολικότητας τόσο καλύτερος και ο φραγμός στα αέρια
- Ο υψηλός βαθμός της ακαμψίας της αλυσίδας και ικανότητα στενής συσσώρευσης αλυσίδων που επηρεάζεται από την τάξη, κρυσταλλικότητα ή προσανατολισμό της. Τα γραμμικά πολυμερή χαρακτηρίζονται για τις

καλύτερες ιδιότητες φραγμού λόγω τις απουσίας ογκωδών πλευρικών ομάδων, όπως επίσης και τα πολυμερή με υψηλό βαθμό κρυσταλλικότητας συνεπώς και καλύτερο προσανατολισμό λόγω του ότι οι κρυσταλλικές συγκριτικά με τις άμορφες περιοχές έχουν καλύτερες ιδιότητες φραγμού

- Ο τύπος δεσμού και κατ' επέκταση η κινητικότητα του καθορίζει την διαπερατότητα ή μη του πολυμερούς

Η χημική σύνθεση του διεισδυτικού

Ως διεισδυτικά θεωρούνται τα αέρια, οι ατμοί, ο διαλύτης και ανάλογα με τις διαστάσεις και την πολικότητά τους επηρεάζουν τις ιδιότητες φραγμού των υλικών.

Η συγκέντρωση του διεισδυτικού

Ο ρυθμός διάχυσης του διεισδυτικού αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσής του και της πίεσης υποβαθμίζοντας τις ιδιότητες φραγμού.

Η σχετική υγρασία

Αυτός ο παράγοντας αφορά κυρίως υλικά που προσροφούν υγρασία με αποτέλεσμα τη χαλάρωση των δεσμών τους και την αύξηση του ρυθμού διαπέρασης του διεισδυτικού (1).

Η θερμοκρασία

Η θερμοκρασία συνδέεται με το συντελεστή διάχυσης με τη σχέση του Arrhenious

$$D = D_0 \exp(-E_d / RT) \quad [3]$$

όπου E_d είναι η ενέργεια ενεργοποίησης της πορείας διάχυσης και έχει θετική τιμή λόγω του ότι όσο αυξάνεται η θερμοκρασία τόσο αυξάνεται και ο συντελεστής διάχυσης.

2.4.1 Διαπερατότητα σε αέρια

Τα αέρια διαπερνούν το υλικό μέσω των πόρων, των οπών ή ρωγμών και διαχέονται λόγω της διαφοράς συγκέντρωσης διαμέσου του υλικού και επανεξατμίζονται στην άλλη πλευρά (7) . Κατά κύριο λόγο τα αέρια που επηρεάζουν τα υλικά συσκευασίας είναι το οξυγόνο, το άζωτο και το διοξείδιο του άνθρακα που βρίσκονται στην

ατμόσφαιρα. Το οξυγόνο αλλοιώνει την ποιότητα των τροφίμων διότι συμμετέχει σε αντιδράσεις οξείδωσης λιπαρών, βιταμινών κλπ, επηρεάζοντας τη γεύση, την οσμή, το χρώμα, που είναι αντιληπτά και από τον ίδιο τον καταναλωτή όπως επίσης τη θρεπτική αξία και το χρόνο ζωής του προϊόντος. Όσο μεγαλύτερη η συγκέντρωση του οξυγόνου τόσο μεγαλύτερος και ο ρυθμός των αντιδράσεων. Επομένως, για την παράταση του χρόνου ζωής πρέπει η συγκέντρωση σε O_2 να είναι χαμηλή όχι όμως τόσο ώστε να δημιουργείται αναερόβια αναπνοή και κατ' επέκταση αλλοίωση του προϊόντος. Επίσης είναι σημαντικό να μελετάται και η διαπερατότητα της συσκευασίας από άζωτο και διοξείδιο του άνθρακα ιδιαίτερα όσον αφορά συσκευασία φρούτων και λαχανικών.

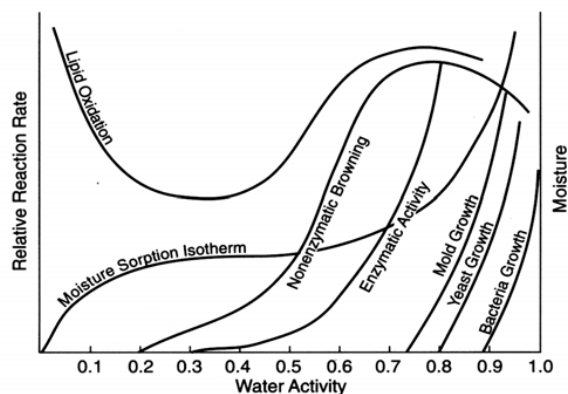
Η διαπερατότητα σε οξυγόνο εξαρτάται από την:

- Ακεραιότητα της μεμβράνης
- Αναλογία κρυσταλλικών και άμορφων περιοχών
- Υδροφοβικότητα
- Κινητικότητα αλυσίδων πολυμερούς
- Ύπαρξη πλαστικοποιητών

2.4.2 Διαπερατότητα σε υδρατμούς

Η υγρασία παίζει σημαντικό ρόλο στην αλλοίωση και είναι προϋπόθεση η διαπερατότητα σε υδρατμούς του υλικού συσκευασίας να είναι χαμηλή. Δηλαδή, πρέπει να εξασφαλίζει ότι το προϊόν θα διατηρήσει τα επίπεδα υγρασίας που είχε όταν παρασκευάστηκε, συνεπώς είναι σημαντικό όχι μόνο να μην προσροφήσει υγρασία αλλά ταυτόχρονα και να μη χάσει. Η ενεργότητα του νερού (*Εικόνα 2.12*) εκφράζει ποσοτικά την ικανότητά του να προκαλεί ανεπιθύμητες μεταβολές στην υφή, στις κρυσταλλώσεις, στις συσσωματώσεις και γενικότερα στην ποιότητα του τροφίμου. Πιο συγκεκριμένα εκφράζει τη διαθεσιμότητα του νερού στα τρόφιμα με κρίσιμα όρια εκείνα πάνω από τα οποία παρατηρείται ποιοτική υποβάθμιση του τροφίμου (7). Εκφράζεται με τον όρο WVP (Water Vapor Permeability) και για τον υπολογισμό του γίνεται χρήση της ακόλουθης σχέσης (9) :

$$WVP=(G/t)/A \quad [4]$$



Εικόνα 2.12: Ενεργότητα νερού [45].

2.4.3 Διαπερατότητα στο φως

Το φως καταλύει και επιταχύνει διάφορες ανεπιθύμητες αντιδράσεις στα τρόφιμα. Όσο χαμηλότερο το μήκος κύματος της ακτινοβολίας (κατώτερο ορατό και υπεριώδες) τόσο υψηλότερη η καταλυτική επίδραση του φωτός. Επιπλέον, η ευαισθησία των τροφίμων σε διάφορα μήκη κύματος, εξαρτάται και από την κατεργασία του ίδιου του τροφίμου.

Ουσιαστικά, για ένα προϊόν σημαντικό ρόλο παίζει το μήκος κύματος, η ένταση της ακτινοβολίας και ο χρόνος έκθεσής του σε αυτήν. Η διείσδυση της ακτινοβολίας εκφράζεται με το νόμο του Beer-Lambert:

$$I_x = I_0 e^{-kx} \quad [5]$$

όπου I_x είναι η ένταση του φωτός σε βάθος που προσλαμβάνει το τρόφιμο, I_0 είναι η ένταση του φωτός στην επιφάνεια του τροφίμου, που καθορίζεται απκai k είναι μία χαρακτηριστική σταθερά απορρόφησης σε συγκεκριμένο μήκος κύματος (7) . Όσο μεγαλύτερο είναι το μήκος κύματος τόσο μεγαλύτερη είναι η διείσδυση το τρόφιμο. Συγκεκριμένα όσον αφορά τα στερεά τρόφιμα η μικρή διείσδυση τα προστατεύει από φωτοκαταλυόμενες αντιδράσεις ενώ στα υγρά σχηματίζονται ελεύθερες ρίζες που οδηγούν στην υποβάθμιση του προϊόντος. Τέλος, πρέπει να σημειωθεί ότι η ένταση του φωτός στην επιφάνεια καθορίζεται από τη διαπερατότητά της συσκευασίας στο φως.

2.4.4 Διείσδυση μικροοργανισμών

Ο βασικός ρόλος της συσκευασίας είναι η προστασία του προϊόντος από τη διείσδυση μικροοργανισμών και εξαρτάται από τη μηχανική της ακεραιότητα όπως απουσία

σπασιμάτων και σφράγιση. Έρευνες, έχουν δείξει ότι οι πλαστικές και μεταλλικές συσκευασίες (φύλλα αλουμινίου) δεν διαπερνώνται από μικροοργανισμούς, πάρα μόνο αν υπάρχουν μικρές οπές στην επιφάνειά τους. Συνεπώς, υπάρχουν τρόποι παρεμπόδισης της εισόδου των μικροοργανισμών, όπως η χρήση κατάλληλων παχών όπου είναι σπάνιες ή αν υπάρχουν υπερβολικά μικρές οπές και επίσης η χρήση με αυστηρών μεθόδων ελέγχου που διασφαλίζουν την παρεμπόδιση της μόλυνσης του προϊόντος από μικροοργανισμούς. Τέτοιου είδους έλεγχοι ονομάζονται bio-test, ελέγχουν την αντίσταση της συσκευασίας στη διείσδυση των μικροοργανισμών και πραγματοποιούνται με την τοποθέτηση του υλικού συσκευασίας σε θρεπτικό υλικό παρουσία ελεγχόμενων μικροοργανισμών όπου μελετάται η παρουσία αερίου ή η θολότητα στο θρεπτικό μέσο ως ένδειξη επιμόλυνσης του υλικού (1) .

2.5 Βιβλιογραφική ανασκόπηση

Τα κύρια συστατικά των τροφίμων είναι οι υδατάνθρακες, οι πρωτεΐνες, τα λίπη, τα ορυκτά άλατα και βασικότερο όλων το νερό και συμμετέχουν στην αλλοίωση των χαρακτηριστικών των προϊόντων κάτω από ακραίες συνθήκες υγρασίας και θερμοκρασίας. Τέτοιου είδους αλλοιώσεις επηρεάζουν την εμφάνιση, το χρώμα, τη γεύση και την υφή του τροφίμου και επιβεβαιώνουν την ύπαρξη και ανάπτυξη μικροοργανισμών. Τα υλικά συσκευασίας έρχονται σε άμεση επαφή με τα εκάστοτε τρόφιμα και ως εκ τούτου η χρήση αντιμικροβιακών υλικών αποτελεί φραγμό για την ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών όπως *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* και *Salmonella typhimutium*.

Ως ενεργές συσκευασίες, χαρακτηρίζονται οι περιέκτες που παρουσιάζουν αποτελεσματική αναστολή στην ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών, στην κακοσμία του τροφίμου και διαθέτει χαρακτηριστικά πέρα των βασικών ιδιοτήτων φραγμού (20) (21) . Επίσης, συμπεριλαμβάνουν την αλληλεπίδραση μεταξύ συσκευασίας, προϊόντος και περιβάλλοντος και τείνουν να βελτιώνουν το προσδόκιμο ζωής, την ασφάλεια διατηρώντας την ποιότητα των θρεπτικών συστατικών (21) (22).

2.5.1 Ο ρόλος των νανοσωματιδίων ZnO

Η νανοτεχνολογία στρέφει το ενδιαφέρον της στα μέταλλα όπως το ασήμι, ο χαλκός, ο ψευδάργυρος και ο χρυσός, εκ των οποίων το ασήμι και ο χρυσός λόγω του υψηλού κόστους τους καθίστανται απαγορευτικά προς βιομηχανική χρήση [10]. Οι έρευνες λοιπόν εστιάζουν στο ZnO διότι παρουσιάζει καλύτερες αντιμικροβιακές ιδιότητες έναντι άλλων μεταλλικών νανοςύνθετων οξειδίων, όπως το TiO₂, MgO, CaO. Τα ZnO είναι μία ευρέως χρησιμοποιούμενη ένωση, που έχει χαρακτηριστεί ασφαλής από την Διαχείριση Τροφίμων και Φαρμάκων (Food and Drug Administration 21CFR182.8991) (23) .

Τα βασικά πλεονεκτήματα των νανοσωματιδίων ZnO (nZnO), είναι η θερμική αντοχή, η ανθεκτικότητα τους και η ικανότητά τους να αναστέλουν τη δράση των παθογόνων (24) (25) μικροοργανισμών (βακτηρίων και μυκήτων), διότι καταστρέφουν τα ευκαρυωτικά κύτταρα και αναστέλλουν την ανάπτυξη των προκαρυωτικών κυττάρων, λόγω της κυτταροτοξικότητάς τους όταν χρησιμοποιούνται σε μικρές συγκεντρώσεις, λόγω της ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης που δημιουργείται με την επιφάνεια των

βακτηρίων (26) Παρουσιάζουν επίσης καταλυτικές, πιεζοηλεκτρικές, οπτικές, ηλεκτρικές, μαγνητικές, απορροφητικές, αντι-φλεγμονώδεις και επουλωτικές ιδιότητες. Επιπλέον, τα nZnO έχουν τη δυνατότητα απορρόφησης τόσο της UV-A, όσο και της UV-B ακτινοβολίας εν αντιθέσει με τα nTiO_2 , που μπλοκάρουν μόνο την UV-B, προσφέροντας καλύτερη προστασία και μεγαλύτερη αδιαφάνεια. Ο βασικός αντιμικροβιακός μηχανισμός αυτών των σωματιδίων, είναι η παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου. Επίσης, πρέπει να σημειωθεί ότι τα φυσικά nZnO παρουσιάζουν καλύτερη βιολογική δραστηριότητα από τα χημικά, έναντι των παθογόνων μικροοργανισμών (27).

2.5.2 Αντιμικροβιακές ιδιότητες του οξειδίου του ψευδαργύρου (ZnO)

Η αντιμικροβική δραστηριότητά τους οφείλεται στην ηλεκτροστατική έλξη μεταξύ των αρνητικά φορτισμένων μεμβρανών και των θετικά φορτισμένων νανοσωματιδίων, στην αλληλεπίδραση των μεταλλικών οξειδίων με τα μικρόβια και τέλος στον προσανατολισμό του ZnO (27) .

Τα νανοσωματίδια ZnO , ερχόμενα σε επαφή με βακτηριακά κύτταρα παρουσία υγρασίας, παράγουν ρίζες υδροξυλίου, υπεροξειδία και H_2O_2 (28) (29) . Οι διάφοροι τύποι οξυγόνου, που απελευθερώνονται από την επιφάνεια των σωματιδίων ZnO , αντιδρούν με τα ιόντα υδρογόνου, παράγοντας H_2O_2 , που τείνει να καταστρέφει τους μικροοργανισμούς διαπερνώντας την κυτταρική μεμβράνη. Συνεπώς, το μέγεθος της επιφάνειας των νανοσωματιδίων αποτελεί βασικό παράγοντα για την αντιμικροβιακή τους δραστηριότητα, διότι όσο το μέγεθός τους μικραίνει τόσο η επιφάνειά τους μεγαλώνει και κατ' επέκταση αυξάνεται η παραγωγή H_2O_2 (27). Τα νανοσωματίδια εισέρχονται στα κυτταρικά τοιχώματα μέσω των πρωτεϊνών ή των ιοντικών καναλιών, συνδέονται με διαφορετικά οργανίδια, παρεμποδίζοντας τις διεργασίες του μεταβολισμού, λόγω της παραγωγής υπεροξειδίων και δραστικών ριζών υδροξυλίου. Κατά την αλληλεπίδραση των νανοσωματιδίων με τη μεμβράνη των βακτηρίων, εμφανίζεται μία παράμετρος, η οποία διαφέρει για διάφορα σωματίδια, που ονομάζεται παράμετρος ζήτα και είναι θετική στην επιφάνεια του ZnO (26).

Με βάση τις μελέτες που έχουν γίνει σχετικά με την αντιμικροβιακή δραστηριότητα του ZnO έχει σημειωθεί ότι η ζώνη αναστολής ήταν καθαρή γύρω από το ενισχυμένο φιλμ, λόγω της διάχυσης του ZnO και της νέκρωσης των βακτηρίων (29).

Σε μία επόμενη παρουσιάστηκαν αποτελέσματα που κατέδειξαν ότι η αναστολή εξαρτάται από τη συγκέντρωση του ZnO. Πιο συγκεκριμένα για συγκεντρώσεις της τάξης του 4-10mM και 8-20mM ZnO, εμφανίστηκε αποτελεσματική αναστολή στην ανάπτυξη των βακτηρίων, εν αντιθέσει με τη συγκέντρωση 0.5mM, λόγω της παρουσίας λιγότερων ιόντων Zn^{+2} τα οποία θα μπορούσαν να δράσουν ως θρεπτική ουσία. Στην παρούσα μελέτη αποδείχθηκε ότι με την αύξηση της συγκέντρωσης του ZnO, αυξάνεται και η ζώνη αναστολής λόγω της καλύτερης διάχυσης των νανοσωματιδίων (30). Συμπερασματικά, η ζώνη αναστολής διαφέρει ανάλογα με τον παθογόνο μικροοργανισμό, τον τρόπο σύνθεσης και το ποσοστό των νανοσωματιδίων. Θεωρητικά, αν ένα τρόφιμο τυλίγεται με τέτοιου είδους φιλμ, τότε τα νανοσωματίδια ZnO, θα διαχέονται σε αυτό ώστε να αναστείλουν την ανάπτυξη των βακτηρίων. Όμως, η παραγωγή οποιονδήποτε επιβλαβών ουσιών είναι απαγορευτική (29).

2.5.3 Αντιμικροβιακές ιδιότητες χιτοζάνης (CS)

Το 25% των τροφίμων καταστρέφεται λόγω της δράσης των μικροοργανισμών (μούχλα, ζυμομύκητες, βακτήρια), των οποίων η δράση εξαρτάται από το PH, τη δραστηριότητα του νερού, το οξυγόνο και την πίεση και θερμοκρασία του διοξειδίου του άνθρακα (21). Για περιβαλλοντικούς λόγους αυξήθηκε η ανάγκη εύρεσης βιοαποικοδομήσιμων, αντιμικροβιακών και χαμηλού κόστους πρώτων υλών για την παρασκευή περιεκτών που θα διασφαλίζουν την ποιότητα και φρεσκάδα των προϊόντων αυξάνοντας κατά συνέπεια τη διάρκεια ζωής του (21) .

Οι αντιμικροβιακές συσκευασίες περιλαμβάνουν όλες εκείνες τις τεχνικές που χρησιμοποιούνται προκειμένου να είναι ελεγχόμενη η δράση των μικροβίων, όπως επίσης και τα υλικά, τα φιλμ και τις επικαλύψεις που περιέχουν αντιμικροβιακά μέσα ή τεχνικές που διαμορφώνουν την ατμόσφαιρα εντός συσκευασίας (20) (27) . Στα αντιμικροβιακά υλικά, ανήκει και η CS, η οποία δύναται να ενσωματώνει ουσίες όπως μέταλλα και βιταμίνες και οι ιδιότητες της εξαρτώνται όχι μόνο από τις εξωτερικές συνθήκες αλλά και από το μοριακό βάρος, το βαθμό πολυμερισμού και αποακετυλίωσης (20) (21).

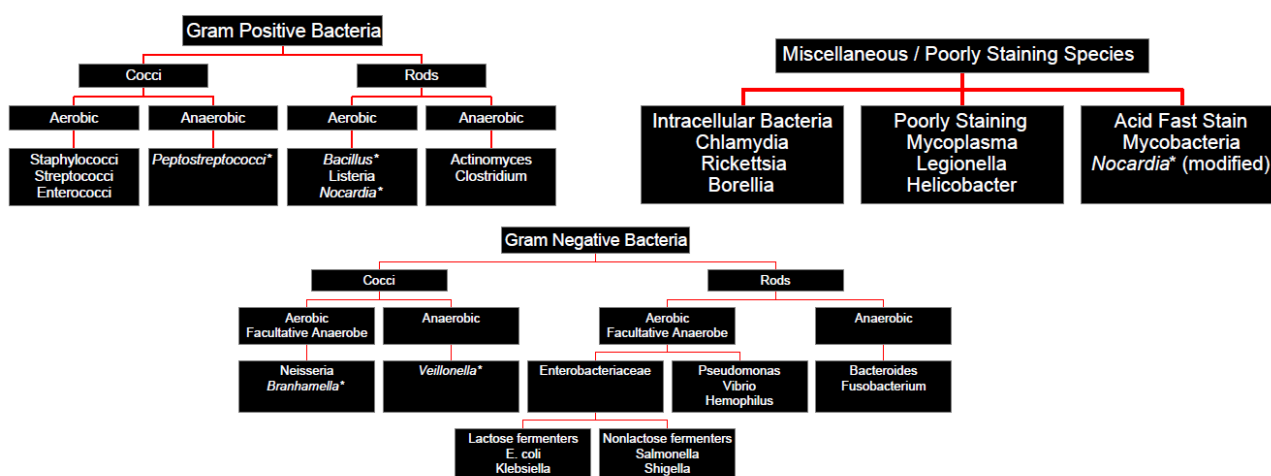
Η αντιμικροβιακή δραστηριότητα της CS οφείλεται στις θετικά φορτισμένες αμινομάδες της που αλληλεπιδρούν με την αρνητικά φορτισμένη μεμβράνη των μικροοργανισμών, οδηγώντας σε σταδιακή συρρίκνωση της, σε καταστροφή διαφόρων

πρωτεϊνικών και άλλων ενδοκυτταρικών συστατικών των μικροοργανισμών και τέλος στη θανάτωση τους (20) (15).

Support (preparation method)	Application	Tested microorganism
Chitosan acetates	Food preservative ^a	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
Chitosan and its Maillard reaction products	Food preservative ^a	<i>Bacillus subtilis</i> CCRC 10258
Chitosan-hydroxy propyl methyl cellulose film	Packaging materials ^a	<i>Listeria monocytogenes</i>
Chitosan/polyethylene oxide film	Packaging materials ^a	<i>Escherichia coli</i>
Chitosan-nylon-6/Ag blended membranes	Packaging materials ^a	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
Polypropylene/chitosan/pectin films	Packaging materials ^a	Bacteria: <i>Clavibacter michiganensis</i> <i>Pseudomonas solanacearum</i> Fungi: <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Verticillium albo-atrum</i> <i>Alternaria solani</i> <i>Aspergillus niger</i>
Chitosan-hydroxy propyl methyl cellulose film	Edible films and coatings ^a	<i>Streptococcus</i>
Chitosan	Food additive ^a	<i>Staphylococcus aureus</i>
Alginate/chitosan fibers	Wound dressing materials ^b	<i>Escherichia coli</i> 3588
Quaternised chitosan nano-fibers	Wound-healing applications ^b	<i>Staphylococcus aureus</i> 749
Quaternized chitosan derivative/poly (vinyl pyrrolidone) fibers	Wound dressing materials ^b	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
Alginate/carboxymethyl chitosan blend fibers	Wound dressing materials ^b	<i>Staphylococcus aureus</i>
Polypropylene-g-acrylic acid-g-N-isopropylacrylamide-chitosan fabric	Wound dressing materials ^b	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Chitosan/cellulose blends membrane	Wound dressing materials ^b	<i>Staphylococcus aureus</i>
Chitosan-Ca ₃ V ₁₀ O ₂₈ complex membrane	Wound dressing materials ^b	<i>Escherichia coli</i>
Porous chitosan/poly(N-isopropylacrylamide) gel/polypropylene sponge	Wound dressing materials ^b	<i>Staphylococcus aureus</i>
Chitosan-gelatin sponge	Wound dressing materials ^b	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> K88 <i>Streptococcus</i>
Photocrosslinkable chitosan hydrogel	Wound dressing and tissue adhesion ^b	<i>Escherichia coli</i>
Poly(vinyl alcohol)/water-soluble-chitosan hydrogels	Wound dressing materials ^b	<i>Escherichia coli</i>
Chitosan/poly(vinyl alcohol) blended hydrogel membranes	Haemodialysis ^b	<i>Aureococcus</i>
Polyacrylonitrile/chitosan/heparin	Haemodialysis ^b	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145
6-O-carboxymethylchitosan/waterborne polyurethanes semi-interpenetrating polymer network membranes	Biomaterial for blood-contracting devices ^b	<i>Escherichia coli</i>
Chitosan/heparin multilayer films	Tissue engineering ^b	<i>Escherichia coli</i>
Trimethyl chitosan and N-diethylmethyl chitosan nanoparticles loaded with insulin	Delivery system ^b	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29737
N-carboxymethylchitosan N,O-sulfate	Drugs for AIDS ^b	HIV-1
Water soluble carboxymethyl chitosan	Cotton fabric ^c	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
Poly(n-butyl acrylate) cores and chitosan shells core-shell particles	Cotton fabric ^c	<i>Staphylococcus aureus</i>

Εικόνα 2.13: Αντιμικροβιακές ιδιότητες και εφαρμογές της χιτοζάνης [15].

Λόγω του πολυκατιονικού χαρακτήρα της CS τα μόρια κατά κύριο λόγο αντιδρούν με το ανιονικό τοίχωμα των κυττάρων που οφείλεται στους λιποπολυσακχαρίτες και στις πρωτεΐνες, θανατώνοντας τον μικροοργανισμό λόγω των αλλαγών διαπερατότητας, παρεμποδίζοντας θρεπτικά στοιχεία να εισέλθουν στο κύτταρο. Αφού εισέλθει η CS στο εσωτερικό του κυττάρου, κυρίως η CS χαμηλού μοριακού βάρους, συνδέεται με το DNA αναστέλλοντας τη σύνθεση του RNA και άλλων πρωτεϊνών. Η CS παρουσιάζει αντιμικροβιακή δραστηριότητα έναντι τόσο gram-θετικών όσο και gram-αρνητικών βακτηρίων και μυκήτων (15). Στην *Εικόνα 2.13*, παρουσιάζονται οι εφαρμογές που εκμεταλλεύονται τις αντιμικροβιακές ιδιότητες της CS. Η



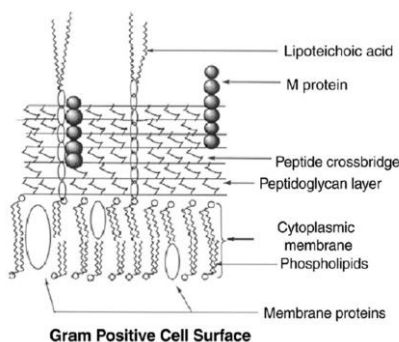
Εικόνα 2.14: Διαχωρισμός βακτηρίων (17).

αντιμικροβιακή δραστηριότητα της χιτοζάνης συσχετίζεται άμεσα με τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας των βακτηρίων, τα οποία ποικίλουν και περιλαμβάνουν διάφορες διαμορφώσεις όπως τριχίδια, κροσσούς, μαστίγια κ.α. Η κατηγοριοποίηση των βακτηρίων γίνεται με βάση τις ποικίλες λειτουργίες τους και μπορούν να ομαδοποιηθούν με τη χρήση πολλών διαφορετικών συστημάτων. Τα βακτήρια ταξινομούνται σε gram-θετικά και gram-αρνητικά ανάλογα με την μορφολογία, με τα gram-θετικά να εμφανίζουν μπλε-μωβ και τα gram-αρνητικά κόκκινο χρώμα (31) .

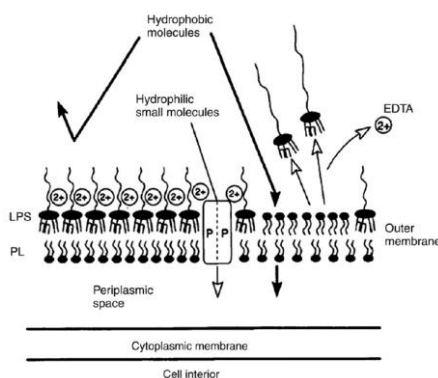
Οι μικροοργανισμοί μπορούν να ομαδοποιηθούν με βάση την ανάγκη σε οξυγόνο. Συνεπώς όπως φαίνεται στην *Εικόνα 2.14* , τα αναερόβια βακτήρια δύνανται να αναπτυχθούν είτε υπό υψηλή είτε υπό χαμηλή περιεκτικότητα σε οξυγόνο, σε αντίθεση με τα αυστηρά αναερόβια βακτήρια που αναπτύσσονται σε συνθήκες με ελάχιστη ή καθόλου παρουσία οξυγόνου.

Τα gram-θετικά βακτήρια (Εικόνα 2.15) έχουν μία μεγάλη δομή πεπτιδογλυκάνης και τειχοϊκό οξύ, ένα πολυανικό πολυμερές του τοιχώματος και μπορεί να είναι είτε ομοιοπολικά συνδεδεμένο σε N-ακετυλομουραμικά οξέα της πεπτιδογλυκάνης ή προσκολλημένο στην επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης μέσω ενός γλυκολιπιδίου. Επίσης, σχηματίζουν σπόρια κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, όπως κατά την έλλειψη αζώτου και άνθρακα, πράγμα το οποίου επιτρέπει την επιβίωσή τους κάτω από ακραίες συνθήκες οδηγώντας σε εκ νέου μολύνσεις (31) (32).

Τα gram-αρνητικά βακτήρια (Εικόνα 2.16) έχουν μία εξωτερική μεμβράνη που περιέχει λιποσακχαρίδια (LPS), που προσδίδουν υδρόφιλο χαρακτήρα στο βακτήριο. Τα συστατικά των βακτηρίων και τα μόρια του πυρήνα των λιποσακχαριδίων (LPS) περιέχουν ανικονικές ομάδες που συμβάλλουν στη σταθερότητα των (LPS) κατά τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις με δισθενή κατιόντα.



Εικόνα 2.15: Δομή gram-θετικών βακτηρίων (25).



Εικόνα 2.16: Δομή gram-αρνητικών βακτηρίων (25).

Η εξωτερική μεμβράνη των βακτηρίων αποτελεί φραγμό για τη διείσδυση μακρομορίων και υδρόφοβων ενώσεων, καθιστώντας τα ανθεκτικά, αφού δημιουργείται ένα επιπλέον εμπόδιο διαπερατότητας και απαιτούνται κατάλληλοι μηχανισμοί μεταφοράς για τη διαπέρασή της (32) .

Ένα βασικό συστατικό αυτής της μεμβράνης είναι η ενδοτοξίνη, ένα στοιχείο απαραίτητο για την επιβίωση του βακτηρίου. Η ενδοτοξίνη έχεις τρεις συνιστώσες, μία

ρίζα λιπιδίου A, ένα πυρήνα πολυσακχαρίτη και ένα αντιγόνο οξυγόνου. Σε αντίθεση με τις εξωτοξίνες, η ενδοτοξίνη είναι άμεσα συνδεδεμένη με το κύτταρο και απελευθερώνεται είτε κατά τη διαίρεσή του είτε με το θάνατό του (31) . Συνεπώς αποτελεί προϋπόθεση για κάθε υλικό να εκτίθεται σε gram-αρνητικά βακτήρια, λόγω της δυσκολίας διάτρησής της μεμβράνης τους και της υψηλής ανθεκτικότητάς τους (32).

2.5.4 Νανοςύνθετα υλικά με βάση τη χιτοζάνη

Η CS και σύνθετα με βάση τη CS αποτελούν ένα πολλά υποσχόμενο πεδίο έρευνας και μελέτης. Συνεπώς, γίνονται διάφορες προσμίξεις για την βελτίωση των μηχανικών, αντιμικροβιακών, ιδιοτήτων απορρόφησης και διαπερατότητας σε υγρασία και τέλος μελέτη της δομής όσον αφορά την κρυσταλλικότητα και μικροδομή των νανοςύνθετων υλικών.

Σχετικά με το κατά πόσο επηρεάζεται και πως αφομοιώνει η CS τα πρόσθετα με τα οποία ενισχύεται, σημαντικές πληροφορίες εξάγονται με την εφαρμογή της μεθόδου ακτινών-X. Στα περιθλασιογραφήματα οι δύο βασικές κορυφές της CS εμφανίζονται στις 10.2° and 19.9°. Σε μελέτη CS ενισχυμένης με Ag και ZnO, οι κορυφές εμφανίστηκαν 10.3° και 20.3° πιθανόν λόγω της προσθήκης των Ag και ZnO και αποδεικνύεται ότι η ενσωμάτωση των σωματιδίων Ag και ZnO δεν διατάραξε σημαντικά την δομή των πολυμερικών αλυσίδων. Επίσης εμφανίστηκαν κορυφές στις 31.9 °, 34.6 °, 36.4°, 56.8°, 62.9° και 68.2° που αποδίδονται στην παρουσία του εξαγωνικού ZnO (33) . Σε αντίστοιχη μελέτη, CS με διαφορετικά ποσοστά ZnO, τα περιθλασιογραφήματα των δειγμάτων, λήφθηκαν σε εύρος γωνιών από 2θ 5°-80°. Οι τυπικές κορυφές της CS εμφανίστηκαν εξασθενημένες στις 10.4°, 12.8° και 19.9° και επίσης παρατηρήθηκαν κορυφές στις 31.6°, 34.3°, 36.2°, 56.5°, 62.8° και 67.8° που σημαίνει ότι η διασπορά των νανοσωματιδίων στην αλυσίδα του βιοπολυμερούς ήταν επιτυχής (34). Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι μετά την προσθήκη πλαστικοποιητή μπορεί να υπάρχουν μετατοπίσεις των κορυφών όπως για παράδειγμα με την προσθήκη διαφορετικών ποσοστών πλαστικοποιητή PVOH 10-20-30% έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνεται και η μετατόπιση της κύριας κορυφής της χιτοζάνης από 21.6° στις 20.8° - 20.3° αντίστοιχα κατά την αύξηση του ποσοστού (35)

Όσον αφορά τις μηχανικές ιδιότητες η CS είναι ένα ψαθυρό υλικό με μεγάλο μέτρο ελαστικότητας, υψηλή αντοχή αλλά μικρή παραμόρφωση στη θραύση (36). Συνεπώς, γίνονται προσπάθειες για τη βελτίωση των μηχανικών ιδιοτήτων της και συγκεκριμένα του ποσοστού παραμόρφωσής της. Έχουν μελετηθεί, σύνθετα ενισχυμένα με ZnO σε διάφορα ποσοστά από 1-10% ZnO και τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι μεμβράνες CS με ZnO παρουσιάζουν καλύτερες μηχανικές ιδιότητες από την καθαρή CS, με καλύτερες για το ποσοστό του 1% ZnO (34). Παρατηρείται όμως ότι με αύξηση του ποσοστού του ZnO αρχίζουν να υποβαθμίζονται οι μηχανικές ιδιότητες όσον αφορά την επί τοις εκατό επιμήκυνση των συνθέτων, λόγω της περίσσειας σε ZnO. Συνεπώς, παίζει σημαντικό ρόλο η επιλογή κατάλληλης ποσότητας ZnO στη CS για να ενισχυθούν οι μηχανικές ιδιότητές της (34) (37). Σε παρόμοια μελέτη, όπου έγινε προσθήκη PVOH πλαστικοποιητή και ZnO, τα αποτελέσματα εμφάνισαν χαμηλότερη αντοχή και επιμήκυνση συγκριτικά με το σύνθετο όπου απουσίαζε το ZnO (38). Επιπλέον, μετρήθηκαν οι μηχανικές ιδιότητες για υγρά και για στεγνά δείγματα, όπου τα σύνθετα ενισχυμένα με PVOH παρουσίασαν περίπου 50% υψηλότερες τιμές αντοχής σε εφελκυσμό των στεγνών δειγμάτων έναντι των υγρών (38). Σε μία άλλη έρευνα, έγινε σύγκριση των συνθέτων με τρία διαφορετικά ποσοστά PVOH 10/20/30% και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα σύνθετα ενισχυμένα με PVOH παρουσίασαν μικρή αντοχή αλλά μεγάλη παραμόρφωση η οποία αυξανόταν με την αύξηση του ποσοστού της PVOH, που οφείλεται στο σχηματισμό δεσμών υδρογόνου μεταξύ των -OH, -NH₂ της CS και των -OH ομάδων της PVOH, με ποσοστό 10% να παρουσιάζει παρόμοιες ιδιότητες με της καθαρής CS, ενώ για τα ποσοστά 20% και 30%, να εμφανίζει αύξηση της τιμής της παραμόρφωσης στη θραύση. Αντιθέτως τα σύνθετα ενισχυμένα με NaMMT/OrgMMT παρουσίασαν μικρή παραμόρφωση (35). Επίσης μελετήθηκαν οι μηχανικές ιδιότητες σύνθετων με προσθήκη της 10/20/30% GL, ελαϊκού οξέος και NaMMT, όπου και διαπιστώθηκε ότι συγκριτικά με την προσθήκη ελαϊκού οξέος και NaMMT η GL ως πλαστικοποιητής παρουσίασε παραμορφώσεις της τάξης του 70% για το μεγαλύτερο ποσοστό του 30%, άρα όσο μεγαλύτερο το ποσοστό GL τόσο μεγαλύτερη η επίδρασή της στην πλαστικοποίηση του συνθέτου. Η GL φαίνεται να εμπόδιζε τη δημιουργία σταυροδεσμών και αποδείχθηκε καλύτερος πλαστικοποιητής έναντι του ελαϊκού οξέος διότι εμφάνισε μεγαλύτερη παραμόρφωση πριν τη θραύση (39) .

Ένα σημαντικό κομμάτι για τη βιωσιμότητα των υλικών συσκευασίας είναι και η αντίστασή τους στην επιμόλυνση από μικροοργανισμούς. Γι' αυτό το λόγο και γίνεται εκτεταμένη μελέτη των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων των συνθέτων. Γενικά από τα ήδη χρησιμοποιούμενα πολυμερή μελέτες έδειξαν ότι το LDPE δεν παρουσίασε διαφορές όσον αφορά την αναστολή του ρυθμού ανάπτυξης των βακτηρίων συγκριτικά με το control στην ανάπτυξη του *E.Coli*. εν αντιθέσει με τα σύνθετα με βάση τη χιτοζάνη και πλαστικοποιητή τη GL που ανέστειλαν την ανάπτυξη του *E.Coli* (39) . Με βάση τη βιβλιογραφία η CS παρουσιάζει φτωχή αντιμικροβιακή δραστηριότητα έναντι της *E. Coli* και του *S. Aureus* συνεπώς, γνωρίζοντας τις αντιμικροβιακές ιδιότητες του οξειδίου του ψευδαργύρου, μελετήθηκε η αντιμικροβιακή δραστηριότητα των σύνθετων μεμβρανών CS-ZnO, με βάση τη διάμετρο των βακτηριακών αποικιών, των gram-αρνητικών *B.Subtilis* και *E. Coli* και του gram-θετικού *S. Aureus* [22]. Παρατηρήθηκε ότι με την αύξηση του ποσοστού του ZnO στη CS, η διάμετρος των αποικιών μειωνόταν, με καλύτερα αποτελέσματα απέναντι στα *B.Subtilis* και *E. Coli*. Τα σύνθετα με 6-10% ZnO παρουσίασαν μεγαλύτερη αντιμικροβιακή δραστηριότητα. Όμως αν και με το ποσοστό του 10% οι αντιμικροβιακές ιδιότητες ήταν πολύ καλές, οι μηχανικές ήταν φτωχές, συνεπώς ένα ενδιαμέσο ποσοστό όπως το 6% θα ήταν προτιμότερο, αφού παρουσίασε μία γενικότερη βελτίωση των ιδιοτήτων του συνθέτου [22]. Αντίστοιχη μελέτη έγινε, στην αντιμικροβιακή δραστηριότητα συνθέτων με διαφορετικά ποσοστά Ag και ZnO ενάντια σε επτά μικροοργανισμούς όπως *B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus* και ο ζυμομύκητας υπό συνθήκες φωτός. Η CS λόγω της ενίσχυσής της με Ag και ZnO εμφάνισε αυξημένη αντιμικροβιακή δράση λόγω της φωτοκατάλυσης και απελευθέρωσης μεταλλικών στοιχείων. Μετά την έκθεση νανοσωματιδίων ZnO σε ακτινοβολία δημιουργήθηκαν ζεύγη e-οπών, τα οποία αντιδρώντας με τις υδροξυλομάδες στην επιφάνεια των νανοσωματιδίων δημιουργήσαν ελεύθερες ρίζες OH• και υπεροξειδία τα οποία καταστρέφουν τα κύτταρα των μικροοργανισμών οδηγώντας σε αποσύνθεση και πλήρη καταστροφή (33) . Επιπλέον, έχουν μελετηθεί και οι αντιμικροβιακές ιδιότητες συνθέτων CS μόνο με πλαστικοποιητές όπως PVOH όπου στα φιλμ χωρίς ενίσχυση με οξείδια ψευδαργύρου οι μικροοργανισμοί παρέμειναν βιώσιμοι σε αντίθεση με τα φιλμ που διέθεταν ZnO και παρουσίασαν έντονη αντιμικροβιακή δραστηριότητα (40). Όμως στην περίπτωση προσθήκης NaMMT/OrgMMT αν και δεν έχουν κάποια ιδιαίτερη αντιμικροβιακή δράση, μετά την πρόσμιξη τους στη CS παρουσίασαν αναστολή της ανάπτυξης 40-53% ενισχύοντας την αντιμικροβιακή της δράση (35) .

Μία ακόμα σημαντική παράμετρος για την αξιολόγηση των μεμβρανών είναι ο βαθμός απορρόφησης υγρασίας, ο οποίος εκφράζει την επί τις εκατό μεταβολή του βάρους και υπολογίζεται από την παρακάτω σχέση:

$$\%W = \frac{(W_w W_d)}{W_d} \times 100 \quad [6]$$

Παρατηρήθηκε ότι στην περίπτωση να νανοςύνθετων CS20PVOH παρουσιάστηκε μικρότερη υποβάθμιση και απορρόφηση υγρασίας συγκριτικά με το σύνθετο μετά την προσθήκη ZnO (40). Γενικά το νερό έχει τη δυνατότητα να απομακρύνεται από τους πόρους και να καταλαμβάνει τον ελεύθερο όγκο των αλυσίδων του πολυμερούς και να απορροφάται μέσω μοριακών αλληλεπιδράσεων. Από τα αποτελέσματα παρατηρήθηκε ότι χωρίς την παρουσία πλαστικοποιητή, η CS απορροφά περίπου 6000% του αρχικού βάρους της. Άλλες μελέτες έχουν δείξει απορροφήσεις της τάξης του 2000% W.G σε έκθεση των φιλμ σε νερό για χρόνο ενός λεπτού. Ουσιαστικά παρατηρήθηκε ότι οι GL αλληλεπιδρούν με τις ενεργές ομάδες της CS σχηματίζοντας ένα πλέγμα που παρεμποδίζει την αλληλεπίδραση του νερού με τις πολικές ομάδες της CS (39). Με την ενίσχυση της CS με PVOH και NaMMT παρατηρήθηκε αύξηση του προσροφημένου νερού λόγω των υδροξυλομάδων της PVOH και των οξυγόνων και υδροξυλίων του NaMMT, που επήλθε σε ισορροπία μετά από 120 λεπτά (35).

Επίσης, τα φιλμ που παρασκευάζονται ελέγχονται και ως προς τη διαπερατότητά τους σε υγρασία. Σε μελέτη που αφορά στη διαπερατότητα σε υγρασία, η προσθήκη ελαϊκού οξέος λειτούργησε θετικά μειώνοντας τη διαπερατότητα σε υγρασία σε αντίθεση με τη GL, γεγονός που οφείλεται στο ότι η GL είναι ένα σχετικά μικρό υδρόφιλο μόριο το οποίο εισχωρεί στις πολυμερικές αλυσίδες, μειώνοντας τις διαμοριακές έλξεις και διευκολύνοντας τη μεταφορά μορίων νερού. Μείωση της διαπερατότητας των μεμβρανών έχει αναφερθεί με τη χρήση ελαϊκού οξέος και σορβιτόλης (39). Επιπλέον, σύνθετα ενισχυμένα με PVOH παρουσίασαν μείωση της διαπερατότητας της μεμβράνης, διότι περιορίστηκαν οι διαμοριακές κινήσεις των αλυσίδων λόγω των δεσμών υδρογόνου που σχηματίστηκαν και με την αύξηση του ποσοστού PVOH στο σύνθετο (35).

Τέλος, όσον αφορά τη μικροδομή της καθαρής CS μελέτες έχουν δείξει ότι απεικονίζεται ως μία λεία, ομοιογενής επιφάνεια, ενώ στην περίπτωση που είναι ενισχυμένη με νανοσωματίδια, για παράδειγμα με Ag και ZnO παρατηρούνται ανομοιογένεια και διεσπαρμένοι συμπαγείς κόκκοι μεγέθους 10-70nm (33).

Κεφάλαιο 3 – Πειραματική Διαδικασία

3.1 Υλικά που χρησιμοποιήθηκαν

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν (i) μεσαίου μοριακού βάρους CS, 190-310 kDa (MMW) με βαθμό αποακετυλίωσης μεγαλύτερο του 75% (ii) άνυδρο οξειδίο του ψευδαργύρου (Sigma-Aldrich CAS No 5970-45-6) (iii) οξικό οξύ (HAc) που προμηθεύτηκαν από τη Sigma-Aldrich. (iv) γλυκερόλη που προμηθεύτηκε από τον Carlo Erba και (v) πολυβινυλαλκοόλη, χαμηλού μοριακού βάρους (13,000-23,000) και βαθμό υδρόλυσης 87-89%

3.2 Παρασκευή δειγμάτων

3.2.1 Προετοιμασία σκόνης οξειδίου του ψευδαργύρου ZnO

Για την προετοιμασία του ZnO εφαρμόστηκε μία τυπική διαδικασία σύμφωνα με την αναφορά (35) με κάποιες διαφοροποιήσεις. Συγκεκριμένα, 5.4875g του $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (25mmol) διαλύθηκαν σε 100ml απιονισμένου νερού σε σφαιρική φιάλη και αναδεύθηκαν για 5 λεπτά. Υδαρής NH_3 (25%w/w) προστέθηκε στάγδην. Αρχικά, παρατηρήθηκε λευκό ίζημα το οποίο εν συνεχεία επαναδιαλύθηκε με την προσθήκη NH_3 και το διάλυμα ανέκτησε τη διαφάνειά του (pH~11). Ακολούθησε η μεταφορά του διαλύματος σε συμπυκνωτή επαναρροής (συσκευή reflux) όπου θερμάνθηκε ($\sim 90^\circ \text{C}$), εμφανίζοντας λευκό ίζημα μετά από 5 λεπτά. Η διεργασία ανάπτυξης των νανοσωματιδίων ZnO διακόπηκε μετά από 30 λεπτά και το λευκό ίζημα εκπλύθηκε με απιονισμένο νερό αρκετές φορές για την απομάκρυνση των ακαθαρσιών. Τέλος, ακολούθησε η ξήρανση της σκόνης ZnO που λήφθηκε στους 120°C για 24 ώρες

3.2.2 Προετοιμασία χιτοζάνης

CS_1%w/v – 1%v/v οξικού οξέος

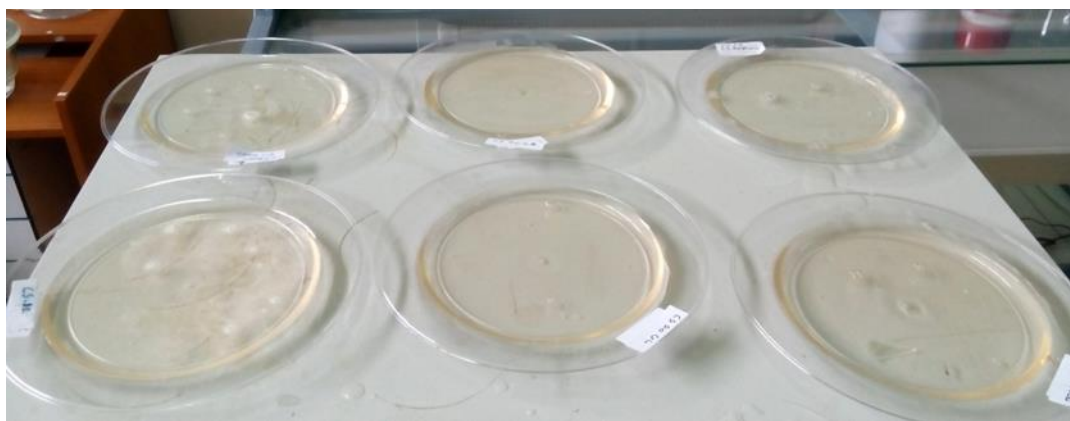
Παρασκευάστηκε διάλυμα 1w/v% CS με την προσθήκη 20g σκόνης χιτοζάνης και σε 2000ml 1 v/v% οξικού οξέος, υπό έντονη ανάδευση στους 70°C μέχρι την πλήρη διαλυτοποίηση της χιτοζάνης και την απομάκρυνση από το διάλυμα των αρχικά εμφανιζόμενων φυσαλίδων. Το pH του διαλύματος χιτοζάνης μετρήθηκε και προσδιορίστηκε ίσο με 4.7)

3.2.3 Προετοιμασία νανοσύνθετων φιλμ

Όλες οι μεμβράνες παρασκευάστηκαν με τη μέθοδο της υγρής ανάμειξης υπό θέρμανση (reflux) όπως αυτή έχει δημοσιευθεί προηγουμένως (35). Για την προετοιμασία των δειγμάτων CS/ZnO προστέθηκαν σε διάλυμα 400ml της χιτοζάνης CS 1%w/v, 0.12g, 0.20g και 0.28g ZnO, ώστε να επιτευχθούν τα τελικά ποσοστά των 3, 5 και 7 %w/w αντίστοιχα. Επίσης, για την παρασκευή των δειγμάτων CS/GL/ZnO και CS/PVOH/ ZnO προστέθηκαν σε διάλυμα 400ml της χιτοζάνης CS 1%w/v, 1.039g, 1.067g και 1.096g γλυκερόλης (GL) και πολυβινυλαλκοόλης (PVOH), ώστε να επιτευχθεί το τελικό ποσοστό του 20%w/w όσον αφορά τους πλαστικοποιητές και 0.12g, 0.20g και 0.28g ZnO, ώστε να επιτευχθούν τα τελικά ποσοστά των 3, 5 και 7%w/w για το ZnO αντίστοιχα (Εικόνα 3.1) . Όλα τα παραπάνω αναδεύθηκαν για 3 ώρες και λήφθηκαν gel τα οποία απλώθηκαν σε πλαστικά δισκία, όπου και ξηράθηκαν για 3 μέρες στους 25° C (Εικόνα 3.2) .



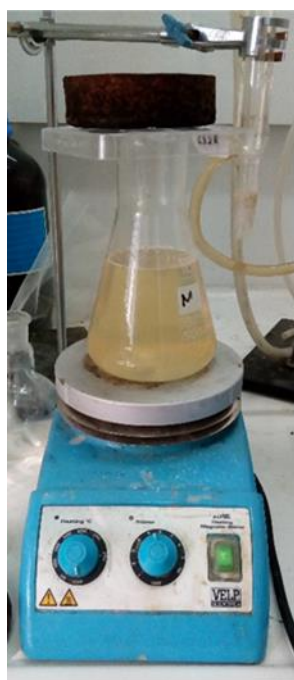
Εικόνα 3.1: Παρασκευή χιτοζάνης, χιτοζάνης-γλυκερόλης και χιτοζάνης-πολυβινυλαλκοόλης στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών.



Εικόνα 3.2: Στέγνωμα δειγμάτων για την παρασκευή των μεμβρανών στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών

3.2.4 Ανάπτυξη ZnO στα νανοσύνθετα φιλμ

Τα ληφθέντα φιλμ εμβαπτίστηκαν σε διάλυμα 0.1N NaOH για 48 ώρες ώστε να επιτευχθεί η ανάπτυξη των ιόντων ψευδαργύρου (ZnO growth) (Εικόνα 3.3) . Όταν ολοκληρώθηκε η ανάπτυξη τα φιλμ ξηράθηκαν για 25 ώρες στους 25° C. Τέλος, όλες οι μεμβράνες τοποθετήθηκαν σε ελεγχόμενο υγραντήρα, με θερμοκρασία 25° C και σχετική υγρασία (RH) 50% με τη χρήση άλατος $MgNO_3$.



Εικόνα 3.3: Ανάπτυξη ιόντων ψευδαργύρου στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών.

Όλα τα δείγματα παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών. Στην παρούσα διπλωματική εργασία, μελετήθηκαν μεμβράνες χιτοζάνης ενισχυμένες με διαφορετικά ποσοστά ZnO 3%, 5% και 7% και με προσθήκη δύο τύπων πλαστικοποιητών, 20% GL και 20% PVOH όπως φαίνεται στον Πίνακα 3.1.

Πίνακας 3.1: Αναλυτική παρουσίαση των συνθέτων που παρασκευάστηκαν και ονοματολογία τους.

<i>Όνομα συνθέτου</i>	<i>CS wt %</i>	<i>ZnO wt %</i>	<i>GL wt %</i>	<i>PVOH wt %</i>
CS	100	-	-	-
CS3ZnO	97	3	-	-
CS5ZnO	95	5	-	-
CS7ZnO	93	7	-	-
CS20GL	80	-	20	-
CS20GL3ZnO	77	3	20	-
CS20GL5ZnO	75	5	20	-
CS20GL7ZnO	73	7	20	-
CS20PVOH	80	-	-	20
CS20PVOH3ZnO	77	3	-	20
CS20PVOH5ZnO	75	5	-	20
CS20PVOH7ZnO	73	7	-	20

3.3 Χαρακτηρισμός

3.3.1 Μέθοδος ακτίνων -X (XRD)

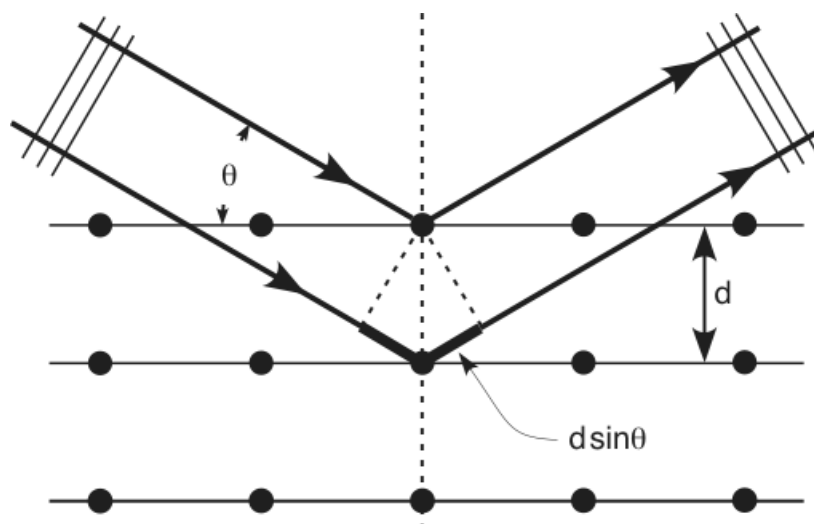
Οι ακτίνες-X ανακαλύφθηκαν το 1895 από τον Roentgen. Είναι ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία της ίδιας φύσης με το φως αλλά διαφορετικού μήκους κύματος διότι κυμαίνονται στην περιοχή 0.5-2.5Å, ενώ το μήκος κύματος του ορατού είναι περίπου στα 600Å και καλύπτουν την περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος μεταξύ των ακτίνων-γ και της υπεριώδους ακτινοβολίας.

Με τη μέθοδο περίθλασης των ακτίνων-X είναι δυνατή η απευθείας μέτρηση των εντάσεων και ανακλάσεων των ακτίνων-X που προσπίπτουν πάνω σε ένα δείγμα. Ο πρώτος που χρησιμοποίησε τις ακτίνες-X για κρυσταλλογραφική ανάλυση ήταν ο Bragg το 1913. Η περίθλαση των ακτίνων-X στους κρυστάλλους πρόσπτωσή τους υπό ορισμένη γωνία σε πλεγματικά επίπεδα του κρυστάλλου, τα οποία αποτελούνται από παράλληλες ομάδες που διαδέχονται η μία την άλλη και βρίσκονται στην ίδια πάντα απόσταση d.

Η περίθλαση των ακτίνων -X συμβαίνει μόνον όταν ικανοποιείται η εξίσωση Bragg, έτσι μέσα από τη σχέση Bragg έχοντας μετρήσει την γωνία 2θ και για γνωστό μήκος κύματος λ, υπολογίζουμε την ισαπόσταση d, άρα γνωρίζουμε ποιο επίπεδο έδωσε την συγκεκριμένη περίθλαση. Με τον τρόπο αυτό, προχωρούμε στην ταυτοποίηση κορυφών. Η μελέτη των υλικών με τη χρήση ακτίνων-X βασίζεται στη σχέση του Bragg:

$$n\lambda = 2d\sin\theta \quad [7]$$

όπου λ είναι το μήκος κύματος, d η πλεγματική απόσταση των επιπέδων ανάκλασης του κρυστάλλου, θ η γωνία πρόσπτωσης και n η τάξη ανάκλασης (Εικόνα 3.4) (41, 42).



Εικόνα 3.4: Περίθλαση ακτίνων-X σύμφωνα με την εξίσωση του Bragg [31].

Το περιθλασιόμετρο ακτίνων-X που χρησιμοποιήθηκε είναι τύπου D8 Advance της Bruker axs του του εργαστηρίου Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών. Το όργανο αυτό αποτελείται από τις εξής βασικές μονάδες:

- Τη λυχνία των ακτίνων-X
- Την μονάδα παραγωγής υψηλής τάσεως
- Τον απαριθμητή ακτίνων-X
- Το γωνιόμετρο
- Την ηλεκτρονική μονάδα επεξεργασίας και καταγραφής των κρούσεων
- Την μονάδα του υπολογιστή

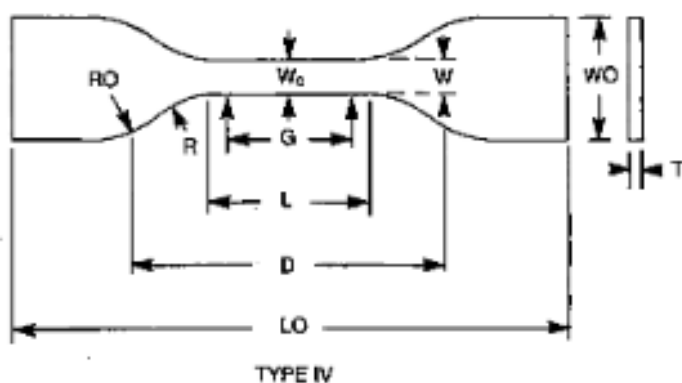
Οι παράμετροι για τις μετρήσεις XRD ορίστηκαν με $\text{PSD}=0.7665836$, γωνίες με εύρος από $0.5-40^\circ$ και βήμα $\text{Inc}=0.03$.

3.3.2 Μηχανικές δοκιμές

Για την μελέτη των μηχανικών ιδιοτήτων των υπό εξέταση δοκιμίων πραγματοποιήθηκε δοκιμή εφελκυσμού. Από τις μετρήσεις εφελκυσμού και τα διαγράμματα τάσης-παραμόρφωσης συλλέγουμε σημαντικές πληροφορίες για τις ιδιότητες των υλικών, όπως το μέτρο ελαστικότητας E , το όριο διαρροής σ_y , τη μέγιστη τάση σ_{max} και την επί τοις εκατό παραμόρφωση στη θραύση $\epsilon_{θρ}$.

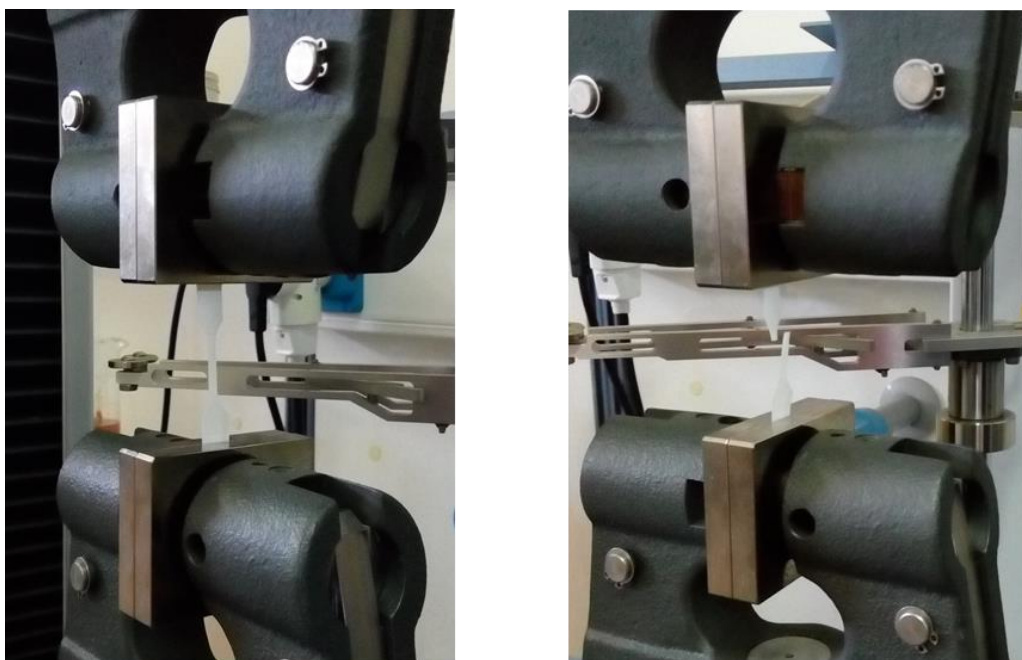
Στην παρούσα εργασία οι μεμβράνες κόπηκαν σε μορφή dog bones όπως φαίνεται στην *Εικόνα 3.5* και στον *Πίνακα 3.2* και οι παράμετροι εφελκυσμού ορίστηκαν σύμφωνα με το ASTM D638 (43). Οι μετρήσεις έγιναν με τη μετατόπιση της μηχανής και όχι με τη χρήση μηχανσιομέτρου.

Πίνακας 3.2: Αναλυτικός πίνακας των διαστάσεων του dog bone



Εικόνα 3.5: Πρότυπες διαστάσεις dog bone τύπου V με βάση το ASTM D638

Διαστάσεις	Επιμέρους μεγέθη τύπου 4 dog bone (mm)
W	6
L	33
W_O	19
LO	115
G	25
D	65
R	14
RO	25



Εικόνα 3.6: Μηχανική καταπόνηση των dog bones των νανοσύνθετων μεμβρανών.

Για την πραγματοποίηση της μηχανικής καταπόνηση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε το εφελκόμετρο Shimadzu Autograph AG-Xplus Series *Εικόνα 3.6, 3.7*, του εργαστηρίου Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών.

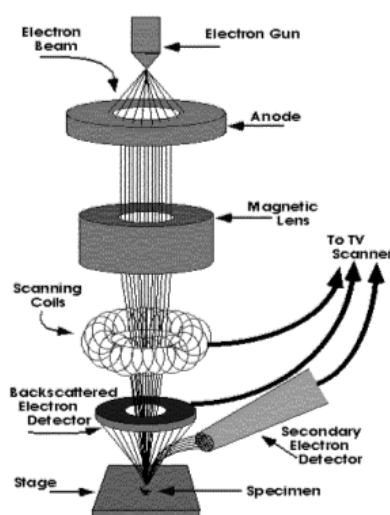


Εικόνα 3.7: Εφελκόμετρο Shimadzu Autograph AG-Xplus Series, του εργαστηρίου Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών.

3.3.3 Ηλεκτρονική μικροσκοπία (SEM)

Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης προσφέρει τη δυνατότητα μελέτης δειγμάτων ως προς τη μορφολογία, τοπογραφία και τη σύστασή τους.

Στην ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης η αρχή λειτουργίας σχετίζεται με τη μελέτη της επιφάνειας των δειγμάτων με τη χρήση οπισθοσκεδαζόμενων και δευτερευόντων ηλεκτρονίων, συνεπώς το πάχος του δείγματος δεν αποτελεί κρίσιμη παράμετρο. Επιπλέον, η ενέργεια δέσμης των ηλεκτρονίων επιταχύνεται σε διαφορές δυναμικού 2-50KV και η εικόνα που σχηματίζεται έχει το πλεονέκτημα της απουσίας τυχόν σφαλμάτων, όμως αν και υπάρχει η δυνατότητα ενίσχυσης του σήματος, η εικόνα παρουσιάζει μικρή διακριτική ικανότητα που οφείλεται στην αδυναμία σχηματισμού δέσμης μικρής διαμέτρου, με τιμές που κυμαίνονται από 5mm-2μm.



Εικόνα 3.8: Σχηματική διάταξη ηλεκτρονικής μικροσκοπίας [32].

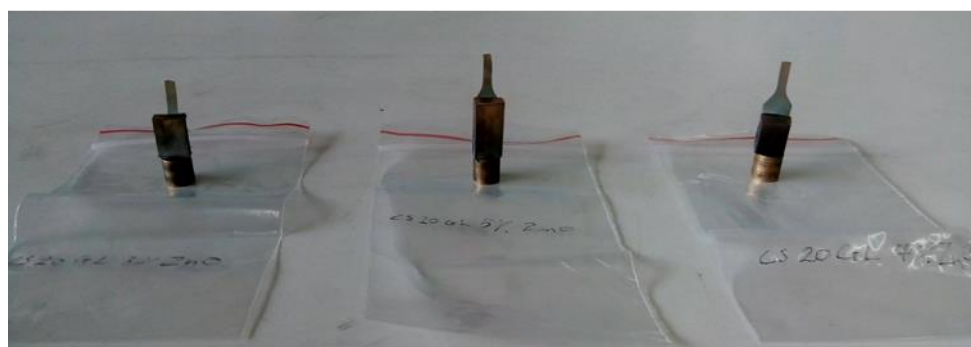
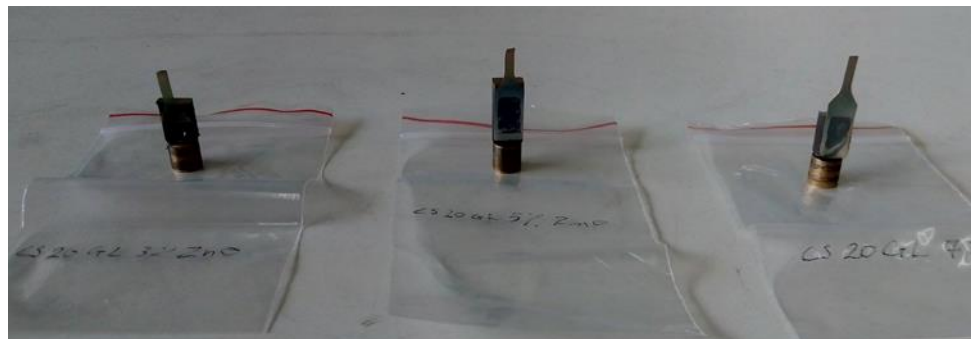
Στην οργάνολογία του συστήματος, συμπεριλαμβάνονται (Εικόνα 3.8):

- Η πηγή (κανόνι) ηλεκτρονίων, η οποία παράγει τη δέσμη ηλεκτρονίων
- Τα πηνία, τα οποία κεντράρουν τη δέσμη ηλεκτρονίων ώστε να χτυπάει το ως προς εξέταση δείγμα

Όλο το σύστημα βρίσκεται υπό συνθήκες πού χαμηλής πίεσης $\cong 10^{-5}$ Pa.

Μετά την στοχευμένη εκπομπή της δέσμης των ηλεκτρονίων στην επιφάνεια του δείγματος, ένας ανιχνευτής τοποθετημένος κοντά στο δείγμα συλλέγει μεγάλο ποσοστό (βάθος 10 nm) δευτερογενών ηλεκτρονίων που εκπέμπονται από την επιφάνεια του υλικού και ένα μικρότερο ποσοστό οπισθοσκεδαζόμενων (41, 42). Οι πληροφορίες που συλλέγονται μετατρέπονται σε ηλεκτρικό σήμα, το οποίο ενισχύεται και σχηματίζεται η εικόνα της επιφάνειας του δείγματος, η φωτεινότητα της οποίας οφείλεται στην

ένταση του ηλεκτρικού σήματος που φτάνει στον ενισχυτή. Τα προς μελέτη δείγματα επιχρυσώθηκαν για 120sec στο Sc760 sputter coter Polaron του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων *Εικόνα 3.9*.



Εικόνα 3.9: Παρουσίαση των δειγμάτων πριν και μετά την επιχρυσώση στο Sc760 sputter coter Polaron του Τμήματος Χημείας, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Για τη λήψη των εικόνων των μεμβρανών χρησιμοποιήθηκε το Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο του Τμήματος Μηχανικών Επιστήμης Υλικών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, JEOL/ JSM-6510LV. Λόγω του μεγάλου αριθμού των δοκιμών έγινε παρατήρηση της σκόνης του ZnO και επιλεγμένων μεμβρανών, πιο συγκεκριμένα μελετήθηκαν οι μεμβράνη αναφοράς CS, και οι νανο-σύνθετές της με CS7ZnO, CS20GL7ZnO και CS20PVOH7ZnO. Μελετήθηκαν οι εξωτερικές επιφάνειες των δοκιμών καθώς και οι επιφάνειες θραύσης τους.

3.3.4 Περιεκτικότητα σε υγρασία

Για την μελέτη της περιεκτικότητας σε υγρασία των φιλμ, τα φιλμ θερμάνθηκαν στους 120 °C για 24 h, ώστε να εξατμιστεί τον νερό στο εσωτερικό των πόρων των σύνθετων μεμβρανών.

Οι μετρήσεις λήφθηκαν από όλα τα δείγματα μετά από θέρμανση στον φούρνο Fermaks *Εικόνα 3.10*, του εργαστηρίου Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών.



Εικόνα 3.10: Φούρνος Fermaks, του εργαστηρίου Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών.

3.3.5 Διαπερατότητα σε υγρασία

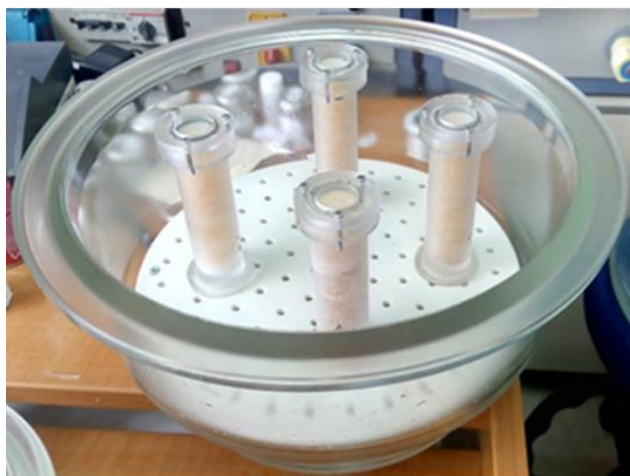
Τα δείγματα σε μορφή φιλμ τοποθετήθηκαν στο πάνω μέρος των δοχείων μέτρησης της διαπερατότητας σε υγρασία *Εικόνα 3.11*, (που διέθεταν στο κάτω μέρος προσροφητικό υλικό silica gel). Οι δειγματοφορείς τοποθετήθηκαν σε υγραντήρα με σχετική υγρασία 50% (MgNO_3) και θερμοκρασία στους 25°C και μετρήθηκε η επί τις εκατό αύξηση του βάρους τους για 3, 6, 9, 12 και 24 ώρες.

Για τον υπολογισμό του WVP γίνεται χρήση της ακόλουθης σχέσης:

$$\text{WVP}=(G/t)/A \quad [8]$$

όπου G/t = η κλίση του διαγράμματος $G=f(t)$ και $A=\pi r^2=314.159$, με $r=10\text{mm}$.

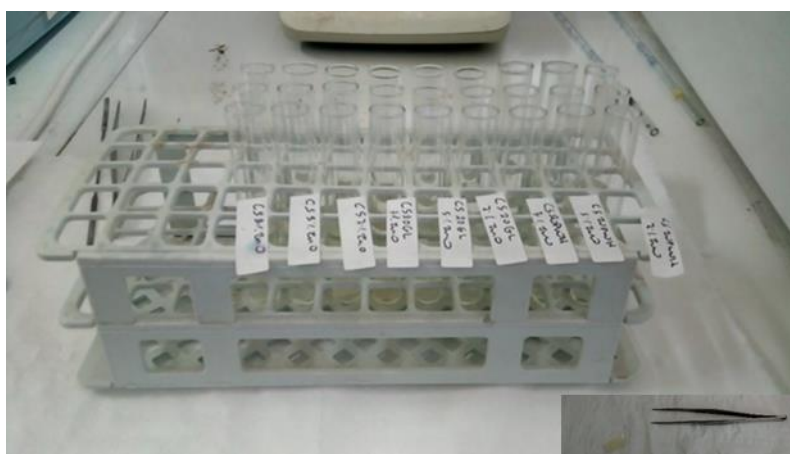
Η μέτρηση έγινε με βάση το ASTM E96/E 96M-O5.



Εικόνα 3.11: Μέτρηση διαπερατότητας υγρασίας των φιλμ στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών.

3.3.6 Απορρόφηση υγρασίας

Η απορρόφηση υγρασίας υπολογίστηκε με εμβάπτιση τριών δειγμάτων από κάθε τύπου μεμβράνη, σε απιονισμένο νερό και μέτρηση του βάρους ανά 2 λεπτά, για 30 λεπτά μέχρι να εμφανιστεί πλατό και να επέλθει κορεσμός όσον αφορά την υγρασία που μπορούν να απορροφήσουν οι μεμβράνες *Εικόνα 3.12*.



Εικόνα 3.12: Ζύγιση δειγμάτων στο εργαστήριο Μηχανικής Συνθέτων και Ευφών Υλικών, του Τμήματος Μηχανικών Επιστήμης Υλικών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

3.3.7 Αντιμικροβιακές ιδιότητες

Προκαλλιέργειες

Για την δημιουργία προκαλλιέργειας αρχικά επιλέγεται μονή αποικία που αναπτύχθηκε σε τρυβλίο του υπό μελέτη μικροοργανισμού και ακολούθως εμβολιάζεται σε 10ml ή 5ml θρεπτικού υποστρώματος. Η καλλιέργεια αφήνεται για επώαση στους 37 °C υπό ανάδευση 160 rpm O/N (over night) για 24 ώρες. Στην παρούσα διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκαν δύο gram-θετικά βακτήρια, το *Brevibacterium sp.* και *Corynebacterium sp.* Και ένα gram-αρνητικό, η *Escherichia coli*.

Μελέτη της αντιμικροβιακής ικανότητας μεμβρανών χιτοζάνης

Για την μελέτη της αντιμικροβιακής δράσης των σύνθετων μεμβρανών χιτοζάνης απέναντι σε gram-θετικά και gram-αρνητικά βακτηριακά στελέχη, κόπηκαν από τις μεμβράνες κομμάτια κυκλικού σχήματος διαμέτρου περίπου 4mm και έπειτα τοποθετήθηκαν σε αναπτυσσόμενες καλλιέργειες. Έπειτα οι καλλιέργειες αυτές συγκρίθηκαν με φυσιολογικές του αντίστοιχου στελέχους και αξιολογήθηκε η επίδραση της παρουσίας των μεμβρανών στην βακτηριακή ανάπτυξη. Στις φυσιολογικές καλλιέργειες απουσίαζαν δείγματα μεμβρανών χιτοζάνης (τυφλό-control). Τα βήματα που ακολουθήθηκαν είναι τα εξής:

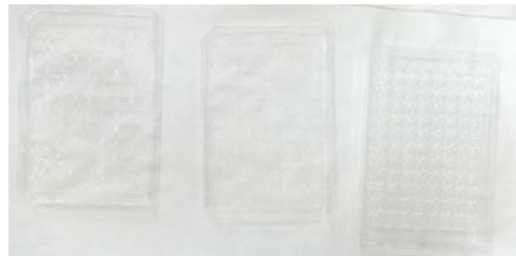
- Αρχικά έγινε προετοιμασία προκαλλιέργειας και επώαση της στους 37°C O/N υπό ανάδευση 160 rpm., στον επωαστήρα mrc, TOU-120, του Εργαστηρίου Βιοτεχνολογίας, του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων *Εικόνα 3.13*.



Εικόνα 3.13: Επωαστήρας mrc, TOU-120, του Εργαστηρίου Βιοτεχνολογίας, του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

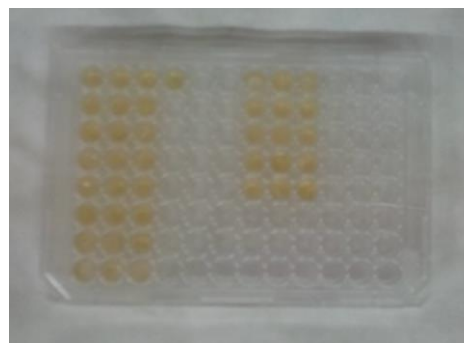
- Ακολούθησε η φωτομέτρηση της προκαλλιέργειας σε μήκος κύματος $\lambda=600\text{nm}$ μετά το πέρας του 24 ωρών

- Έγινε προετοιμασία του αντίστοιχου εμβολίου πραγματοποιώντας αραιώσεις σε φρέσκο θρεπτικό υπόστρωμα έτσι ώστε η τιμή απορρόφησης να ξεκινάει περίπου από 0.2
- Έπειτα τα κυκλικά κομμάτια των μεμβρανών χιτοζάνης τοποθετήθηκαν σε προκαθορισμένες θέσεις πλάκας ELISA, την οποία αρχικά αποστειρώσαμε με ψεκασμό αιθανόλης 70% και έπειτα με έκθεση σε ακτινοβολία UV, στη συσκευή ZHWY-100C του Εργαστηρίου Βιοτεχνολογίας, του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων



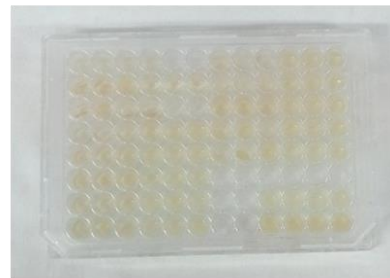
Εικόνα 3.14: Αποστείρωση πλάκας μετά από έκθεση σε ακτινοβολία UV, στη συσκευή ZHWY-100C του Εργαστηρίου Βιοτεχνολογίας, του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

- Στη συνέχεια εγχύθηκαν 300 μl από το εμβόλιο σε κάθε πηγαδάκι πλάκας ELISA και τοποθετήσαμε τις μεμβράνες χιτοζάνης και πραγματοποιήθηκε η πρώτη μέτρηση της απορρόφησης του τυφλού δείγματος ($t=0h$) με την χρήση φωτόμετρου ELISA, LT-4500 του Εργαστηρίου Βιοτεχνολογίας, του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, σε μήκος κύματος $\lambda=600nm$ Εικόνα 3.15.



Εικόνα 3.15: Τοποθέτηση δειγμάτων στο micro-plate και προσθήκη βακτηρίων, που έλαβε χώρα στο Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας, του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

- Η επώαση των μικρό-καλλιιεργειών έγινε σε θερμοκρασία 37°C υπό ανάδευση 160 rpm
- Πραγματοποίηση ακόμη μιας φωτομέτρησης του τυφλού για κάθε ένα από τα βακτήρια *Brevibacterium sp.* και *Corynebacterium sp.* και *Escherichia coli*, σε χρόνους $t=6^{1/2}$, $8^{1/2}$ και 8 αντίστοιχα. Από τη στιγμή που το control, που αποτελεί φυσιολογική καλλιέργεια απουσία ανασταλτικού παράγοντα, προσεγγίζει τιμή απορρόφησης μέσο όρου 0.6 τότε πραγματοποιείται μεταφορά 250 μ l από το κάθε πηγαδάκι πλάκας στα οποία εμπεριέχονται τα δείγματα σε νέα πηγαδάκια προκειμένου να αποφευχθεί τυχόν απόκλιση των τιμών απορρόφησης ακτινοβολίας από τις μεμβράνες
- Ακολουθεί ακόμη μία μέτρηση απορρόφησης για όλα τα δείγματα στο φωτόμετρο ELISA *Εικόνα 3.16*.



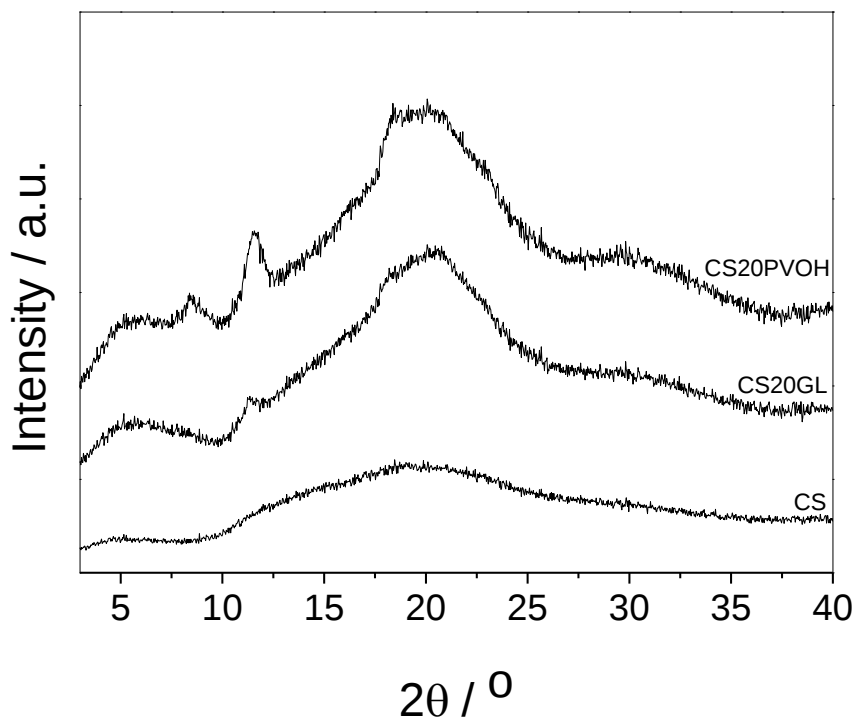
Εικόνα 3.16: Φωτομέτρηση δειγμάτων στο φωτόμετρο ELISA, LT-4500 του Εργαστηρίου Βιοτεχνολογίας, του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

- Στη συνέχεια η πλακα με τις μικροκαλλιέργειες αφήνεται για επώαση στους 37°C υπό ανάδευση 160 rpm για 24 ώρες και πραγματοποιείται μία ακόμη φωτομέτρηση των δειγμάτων σε μήκος κύματος $\lambda=600\text{nm}$ για $t=24\text{h}$

Τέλος, γίνεται σύγκριση των τιμών απορρόφησης των βακτηριακών καλλιεργιών παρουσία και απουσία αναστολέα ανάπτυξης για τις χρονικές περιόδους $t=6^{1/2}$, $8^{1/2}$ και 8 αντίστοιχα για το κάθε βακτήριο.

Κεφάλαιο 4 - Αποτελέσματα και ανάλυση

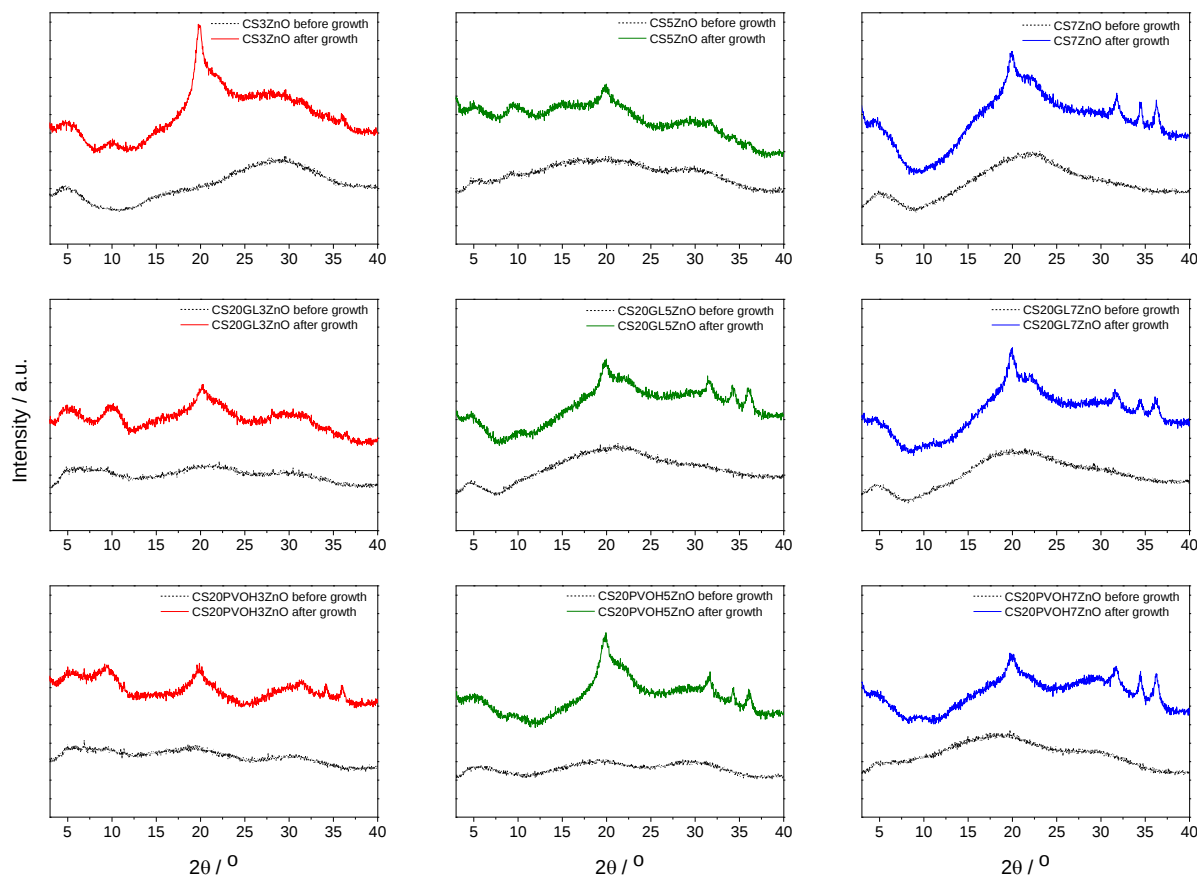
4.1 Περιθλασιογραφήματα ακτίνων-X



Σχήμα 4.1: Περιθλασιογράφημα των μεμβρανών CS, CS20GL και CS20PVOH

Στο Σχήμα 4.1 παρατηρούμε τα περιθλασιογραφήματα ακτίνων-X των δειγμάτων καθαρής CS και αυτών μετά από την προσθήκη GL και PVOH. Μέσα από αυτό το γράφημα μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με το βαθμό που η προσθήκη πλαστικοποιητών επηρεάζει τη δομή της CS, πριν την επεξεργασία με καυστικό νάτριο. Αυτό που μπορεί να παρατηρηθεί από την καμπύλη της καθαρής CS είναι ότι αυτή εμφανίζει μία αρκετά άμορφη δομή, με τις χαρακτηριστικές κορυφές της που συνήθως εμφανίζονται κοντά στις 10° και 20° να είναι σημαντικά διευρυμένες. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η καθαρή CS εμφανίζει δύο χαρακτηριστικές κορυφές στις γωνίες $2\theta \approx 10^\circ$ και $2\theta \approx 20^\circ$. Σε κάποιες περιπτώσεις εμφανίζεται και μία επιπλέον διευρυμένη κορυφή στην $2\theta \approx 23^\circ$, όπου φαίνεται η άμορφη δομή της. Όπως έχει συζητηθεί σε προηγούμενη εργασία (35) η εφαρμογή πίεσης και θερμοκρασίας (θερμή συμπίεση) στην οποία έχουν υποβληθεί οι μεμβράνες οδηγεί σε διευρυμένες κορυφές και περισσότερο άμορφη δομή. Αυτό οφείλεται κυρίως στο γεγονός ότι η θερμή συμπίεση απομακρύνει το μη-δεσμικό νερό και έτσι μειώνονται οι ένυδροι κρύσταλλοι της CS. Όπως παρατηρείται από τις αποκρίσεις των δειγμάτων μετά την προσθήκη GL

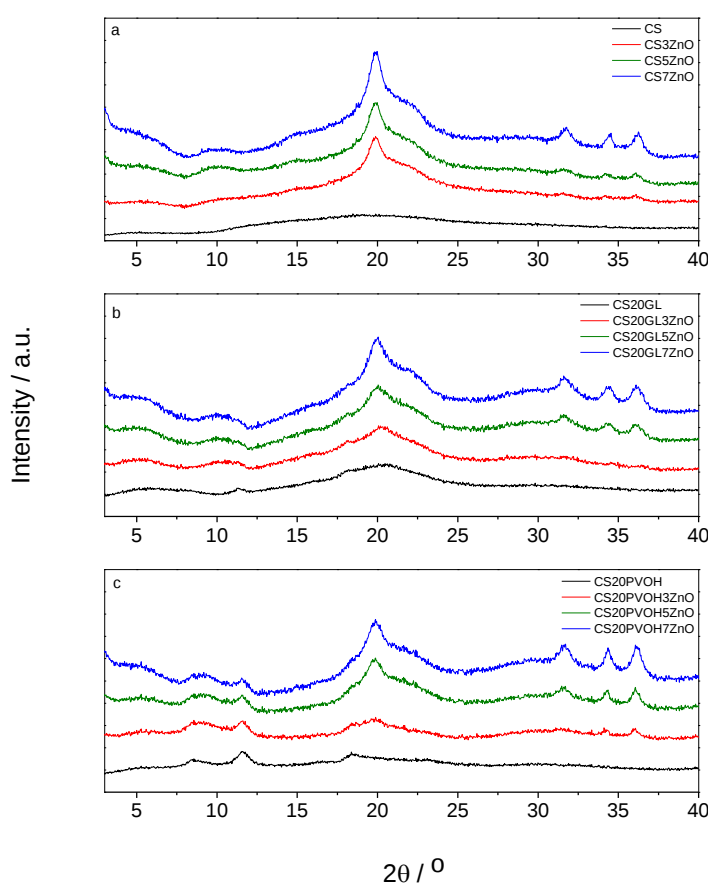
και PVOH εμφανίζεται μία ευρεία αλλά πιο έντονη κορυφή στις 20° στην περίπτωση της GL και μία διευρυμένη κορυφή μεταξύ $18-22^\circ$ στην περίπτωση της PVOH. Επίσης εμφανίζεται μία κοινή κορυφή στις 12° η οποία είναι πιο έντονη στη μεμβράνη CS20PVOH που είναι σύμφωνη με τη βιβλιογραφία όπου εμφανίζεται στις 11.5° κατά την προσθήκη PVOH (40), ενώ αυτή η μεμβράνη εμφανίζει και μία επιπλέον κορυφή στις 8° . Έτσι μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η προσθήκη GL/PVOH βοήθησε τις αλυσίδες της CS να αναδιαταχθούν καλύτερα και έτσι οδηγούμαστε σε δομές με μεγαλύτερη τάξη. Επιπλέον μπορεί να βγει το συμπέρασμα ότι στην περίπτωση της PVOH, λόγω αλληλεπίδρασης του πολυμερούς με το νερό, υπάρχει μεγαλύτερη συγκράτηση μορίων του, με αποτέλεσμα να αυξάνει και ο βαθμός των ένυδρων κρυστάλλων στην τελική μεμβράνη.



Σχήμα 4.2: Συγκεντρωτικό διάγραμμα αποτύπωσης της δομής των μεμβρανών χιτοζάνης πριν και μετά την ανάπτυξη ιόντων ψευδαργύρου -διαφορετικά γραφήματα για διαφορετικά ποσοστά ZnO

Η δεύτερη πληροφορία που μπορεί να εξαχθεί κανείς με την βοήθεια των περιθλασιογραφημάτων σχετίζεται με την μορφολογία των δειγμάτων μετά την προσθήκη και την ανάπτυξη του ZnO. Για αυτό το λόγο στο Σχήμα 4.2 γίνεται απεικόνιση των μεμβρανών φιλμ πριν και μετά την ανάπτυξη των ιόντων Zn με την βοήθεια NaOH. Όπως φαίνεται και στα διαγράμματα οι κορυφές του ψευδαργύρου

πριν την ανάπτυξη δεν εμφανίζονται, όπως είναι λογικό διότι πριν την επεξεργασία με NaOH υπάρχουν στο σύνθετο ιόντα ψευδαργύρου. Επίσης, μελετώντας τα περιθλασιογραφήματα όλων των μεμβρανών παρατηρούμε ότι πριν την ανάπτυξη εμφανίζεται ένας ώμος περίπου στις 19-25°, ο οποίος εξελίσσεται σε κορυφή γύρω στις ~20° μετά την ανάπτυξη των σωματιδίων ZnO, συμπεραίνοντας ότι η παρουσία ZnO οργανώνει καλύτερα τη δομή του βιοπολυμερούς. Τέλος, παρατηρούμε ότι οι κορυφές του ZnO γίνονται εντονότερες με την αύξηση του ποσοστού του στο σύνθετο που σημαίνει ότι υπάρχει καλύτερη ανάπτυξη (κρυστάλλωση) του ZnO στο πλέγμα της CS. Στο Σχήμα 4.3 παρατίθενται συγκριτικά τα περιθλασιογραφήματα των συνθέτων και γίνεται μελέτη του κατά πόσο επηρεάζεται η κρυσταλλική δομή της CS τόσο με την αύξηση του ποσοστού σε ZnO όσο και με την προσθήκη των πλαστικοποιητών της GL και PVOH. Επίσης, στους Πίνακες 4.1, 4.2, 4.3 φαίνονται αναλυτικά οι τιμές των κορυφών που λήφθηκαν.



Σχήμα 4.3: Συγκριτικό περιθλασιογράφημα για τη μελέτη της επίδρασης του ποσοστού ZnO στη δομή των μεμβρανών a) CS, b) CS20GL, c) CS20PVOH της ενίσχυσης της χιτοζάνης

Πίνακας 4.1: Αποτύπωση των χαρακτηριστικών κορυφών για τις μεμβράνες CS_3/5/7 %ZnO.

(a)	Επιπλέον κορυφή	1 _η κορυφή CS	2 _η κορυφή CS	1 _η κορυφή ZnO	2 _η κορυφή ZnO	3 _η κορυφή ZnO
CS	-	15-25		-	-	-
CS3ZnO	5.68	9.94	19.9	31.59	34.41	36.06
CS5ZnO	5.22	9.91	19.97	31.80	34.56	36.00
CS7ZnO	5.68	9.70	19.84	31.72	34.53	36.25

Πίνακας 4.2: Αποτύπωση των χαρακτηριστικών κορυφών για τις μεμβράνες CS20GL_3/5/7 %ZnO.

(b)	Επιπλέον κορυφή	1 _η κορυφή CS	2 _η κορυφή CS	3 _η κορυφή CS	1 _η κορυφή ZnO	2 _η κορυφή ZnO	3 _η κορυφή ZnO
CS20GL	-	11.29	17-23		-	-	-
CS20GL3ZnO	5.32	10.33	20.09	-	31.90	34.56	36.50
CS20GL5ZnO	5.37	10.12	19.97	21.99	31.53	34.22	36.00
CS20GL7ZnO	5.8	9.79	19.63	21.93	31.22	34.07	35.94

Πίνακας 4.3: Αποτύπωση των χαρακτηριστικών κορυφών για τις μεμβράνες CS20PVOH_3/5/7 %ZnO.

(c)	Επιπλέον κορυφή	1 _η κορυφή CS	2 _η κορυφή CS	3 _η κορυφή CS	1 _η κορυφή ZnO	2 _η κορυφή ZnO	3 _η κορυφή ZnO
CS20PVOH	8	11.5	17-25		-	-	-
CS20PVOH3ZnO	5.13	9.17	20.15	-	31.77	34.44	36.34
CS20PVOH5ZnO	5.16	9.54	19.84	21.96	31.68	34.35	36.13
CS20PVOH7ZnO	4.88	9.6	19.94	21.99	31.71	34.47	36.22

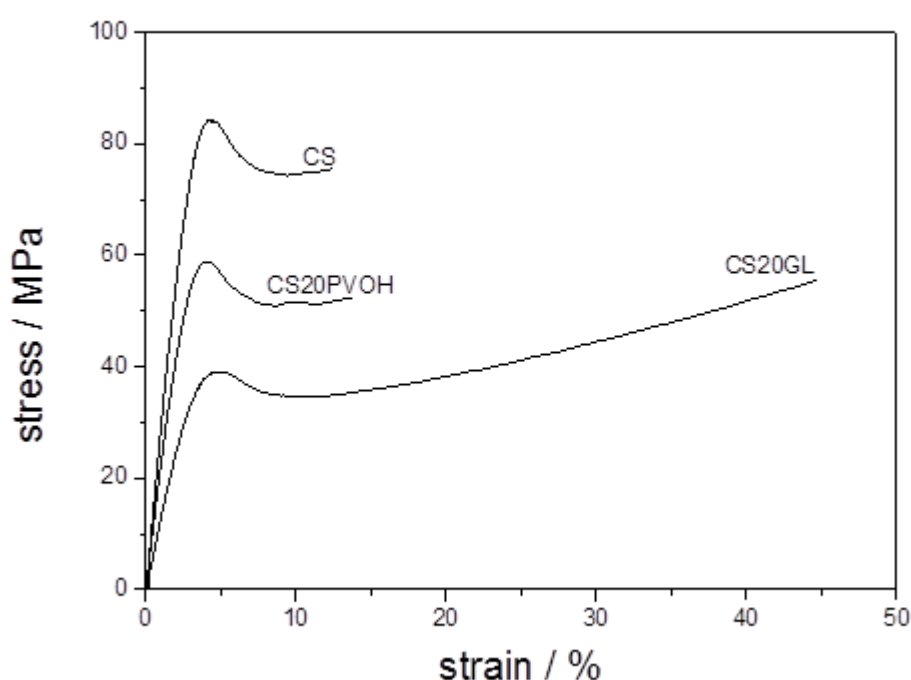
Επίσης, το ZnO εμφανίζει χαρακτηριστικές κορυφές στις γωνίες $2\theta \approx 31.6^\circ$, $2\theta \approx 34.3^\circ$ και $2\theta \approx 36.2^\circ$.

Στο Σχήμα 4.3(a), από τα ληφθέντα περιθλασιογραφήματα παρατηρούμε ότι οι κορυφές της CS και του ZnO είναι σύμφωνες με αυτές της βιβλιογραφίας (13, 19, 26, 48) όπως παρουσιάζονται στον Πίνακα 8. Επιπλέον, παρατηρούμε ότι με την αύξηση του ποσοστού του ZnO, οι κορυφές του είναι εντονότερες. Όσο μεγαλύτερη η ένταση των κορυφών τόσο καλύτερη η ανάπτυξη του στο πλέγμα της CS.

Στα Σχήμα 4.3(b) και (c), παρατηρούμε ότι ακόμα και πριν την επεξεργασία των φιλμ με καυστικό νάτριο, η δομή της CS είναι πιο οργανωμένη καθώς αρχίζει να σχηματίζεται κορυφή γύρω στις $\sim 20^\circ$ που συγκριτικά με την μη επεξεργασμένη καθαρή CS που είναι αρκετά διευρυμένη. Επιπλέον, παρατηρούμε και πάλι ότι με την αύξηση του ποσοστού του ZnO στο σύνθετο αυξάνεται η ένταση των κορυφών που συνεπάγεται την επιθυμητή διασπορά των νανοσωματιδίων ZnO στο πλέγμα της CS.

4. 2 Μηχανική συμπεριφορά των μεμβρανών στον εφελκυσμό

Όπως είναι γνωστό οι μεμβράνες που προορίζονται για εύκαμπτη συσκευασία θα πρέπει να εμφανίζουν μία ικανοποιητική δυσκαμψία και αντοχή αλλά μία πολύ σημαντική παράμετρος για την ικανότητα μορφοποίησής τους αποτελεί η παραμόρφωση στη θραύση. Στη συνέχεια της παραγράφου θα γίνει μία συγκριτική μελέτη της συμπεριφοράς τάσεις-παραμόρφωσης των μεμβρανών και θα σχολιαστούν τα κρίσιμα μεγέθη που εξάγονται από τις καμπύλες και μελετήθηκαν, όπως E , σ_y , σ_{UTS} , $\epsilon_{θρ}$.

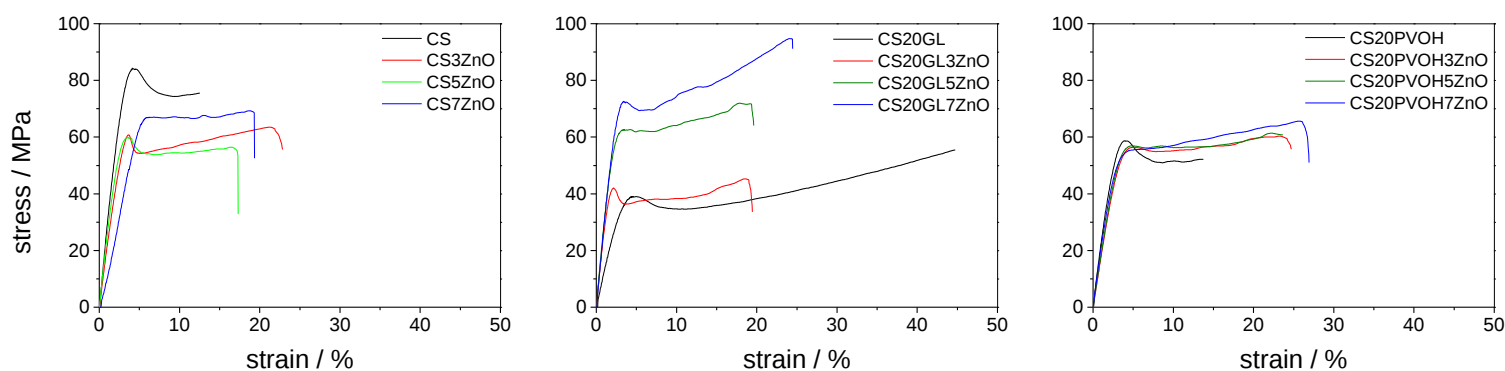


Σχήμα 4.4: Διάγραμμα τάσης-παραμόρφωσης μεμβρανών CS και η επίδραση της προδότηκης GL/PVOH – οι μεμβράνες είναι ανφοράς (χωρίς την προσθήκη ZnO και πριν την επεξεργασία τους με καυστικό νάτριο)

Στο Σχήμα 4.4 παρουσιάζονται οι αλλαγές των μηχανικών ιδιοτήτων των μεμβρανών CS με την προσθήκη πλαστικοποιητών 20GL και 20PVOH. Αρχικά, παρατηρούμε ότι η προσθήκη GL μειώνει μεν το μέτρο ελαστικότητας και την τάση διαρροής όμως έχει θετική επίδραση όσον αφορά την παραμόρφωση στη θραύση καθώς αυτή τετραπλασιάζεται. Επιπλέον, παρατηρούμε ότι η προσθήκη GL οδήγησε σε ενίσχυση της τάσης στην πλαστική περιοχή (strain hardening) γεγονός που καταδεικνύει τη δημιουργία δεσμών H μεταξύ CS και GL. Το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να επιβεβαιωθεί και από την βιβλιογραφία, καθώς για ποσοστά από 10-30% παρουσιάζουν αύξηση του ποσοστού παραμόρφωσης από 25-70% αντίστοιχα. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η

GL αναστέλλει το σχηματισμό φυσικών σταυροδεσμών της CS και δρώντας ως πλαστικοποιητής συμβάλλει στην αποφυγή σχηματισμού δευτεροταγών δεσμών μεταξύ των γειτονικών αλυσίδων του πολυμερούς, αυξάνοντας τον ελεύθερο όγκο και διευκολύνοντας την κίνηση της αλυσίδας.

Επιπλέον, διαπιστώνουμε ότι η προσθήκη PVOH εκτός από την πτώση του μέτρου ελαστικότητας, της τάσης διαρροής και της αντοχής στον εφελκυσμό δείχνει να μην έχει θετική επίδραση ούτε στην παραμόρφωση, στη θραύση των μεμβρανών, με ποσοστό επιμήκυνσης κοντά στο 15% που επιβεβαιώνεται και από άλλες έρευνες και ήταν αναμενόμενο από τη στιγμή που και για μεγαλύτερα ποσοστά παρουσιάζεται ποσοστό επιμήκυνσης που φτάνει το 20%.



Σχήμα 4.5: Διαγράμματα τάσης-παραμόρφωσης (a) CS και CS3ZnO, CS5ZnO και CS7ZnO (b) CS20GL και CS20GL3ZnO, CS20GL5ZnO και CS20GL7ZnO και (c) CS20PVOH και CS20PVOH3ZnO, CS20PVOH5ZnO και CS20PVOH7ZnO.

Πίνακας 4.4: Καταγραφή των επιμέρους μεγεθών που μελετήθηκαν από τα διαγράμματα εφελκυσμού για τα σύνθετα CS_ZnO 3/5/7 %.

(a)	E	σ_{UTS}	σ_y	ε
CS	2702.121	84.3079	54.662	12.520
CS3ZnO	1825.386	63.535	54.333	22.831
CS5ZnO	2306.976	59.806	41.659	17.275
CS7ZnO	1327.603	69.302	59.596	19.320

Πίνακας 4.5: Καταγραφή των επιμέρους μεγεθών που μελετήθηκαν από τα διαγράμματα εφελκυσμού για τα σύνθετα CS20GL_ZnO 3/5/7 %.

(b)	E	σ_{UTS}	σ_y	ε
CS20GL	1085.893	55.426	32.116	44.742
CS20GL3ZnO	2462.025	45.248	34.369	19.009
CS20GL5ZnO	2658.442	71.942	46.485	19.364
CS20GL7ZnO	2539.062	94.752	61.796	24.431

Πίνακας 4.6: Καταγραφή των επιμέρους μεγεθών που μελετήθηκαν από τα διαγράμματα εφελκυσμού για τα σύνθετα CS20PVOH_ZnO 3/5/7 %.

(c)	E	σ_{UTS}	σ_y	ε
CS20PVOH	1955.437	58.702	43.018	13.764
CS20 PVOH3ZnO	1699.557	60.362	37.425	24.820
CS20 PVOH5ZnO	1743.522	61.366	41.266	23.675
CS20 PVOH7ZnO	1882.845	65.613	36.709	26.938

Για καλύτερη κατανόηση της επίδρασης της προσθήκης ZnO στις διάφορες μεμβράνες γίνεται συγκριτική αναπαράσταση της απόκρισής τους στους Πίνακες 4.4, 4.5, 4.6.

Στο Σχήμα 4.5(a) παρατηρούμε ότι η καθαρή CS παρουσιάζει μεγάλο μέτρο ελαστικότητας και μεγάλη τιμή μέγιστης τάσης όμως έχει πολύ μικρή παραμόρφωση, σε αντίθεση με τις τιμές των σύνθετων μεμβρανών με ZnO όπου παρατηρείται μεν μείωση του μέτρου ελαστικότητας αλλά επιδέχεται διπλάσια περίπου παραμόρφωση το υλικό. Έτσι όλες οι μεμβράνες μετά την προσθήκη ZnO εμφανίζουν υψηλότερη ολκιμότητα. Αυτό συμβαίνει γιατί με την είσοδο του ZnO οι διαμοριακοί δεσμοί της CS αποδυναμώνονται και σχηματίζονται νέοι μεταξύ CS-ZnO κάνοντας την κίνηση της αλυσίδας ευκολότερη με αποτέλεσμα να επιδέχεται μεγαλύτερες παραμορφώσεις. Σε μικρά ποσοστά το ZnO σύμφωνα με τη βιβλιογραφία δείχνει να ευνοεί τις μηχανικές ιδιότητες, ενώ σε μεγάλα όπου αρχίζει να υπάρχει περίσσεια πάνω από 10% αρχίζει και πάλι το σύνθετο να ψαθυροποιείται. Αυτός είναι και ο λόγος που έχουν επιλεγεί ποσότητες μικρότερες του 10% (34).

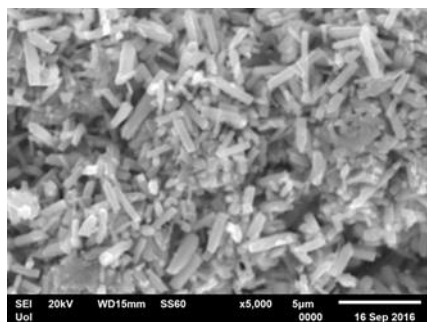
Στο Σχήμα 4.5(b) παρατηρούμε τη συμπεριφορά της χιτοζάνης μετά την προσθήκη πλαστικοποιητή GL, όπου διαπιστώνουμε ότι η GL δρα ως πραγματικός

πλαστικοποιητής με θετικά αποτελέσματα ως προς την παραμόρφωση θραύσης των μεμβρανών. Ταυτόχρονα με την αύξηση του ποσοστού σε ZnO παρατηρείται σταδιακή αύξηση της τιμής της μέγιστης τάσης σ_{UTS} , με το ποσοστό του 7%ZnO να εμφανίζει πολύ καλές μηχανικές ιδιότητες δηλαδή υψηλό μέτρο ελαστικότητας (E) και μέγιστη τάση (σ_{UTS}) καθώς επίσης και μεγάλη παραμόρφωση πριν τη θραύση (ϵ). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι οι μηχανικές ιδιότητες των μεμβρανών CS20GL7ZnO υπερέχουν και ως προς την τάση διαρροής και ως προς την εφελκυστική αντοχή και ως προς την παραμόρφωση στη θραύση σε σχέση με την καθαρή CS.

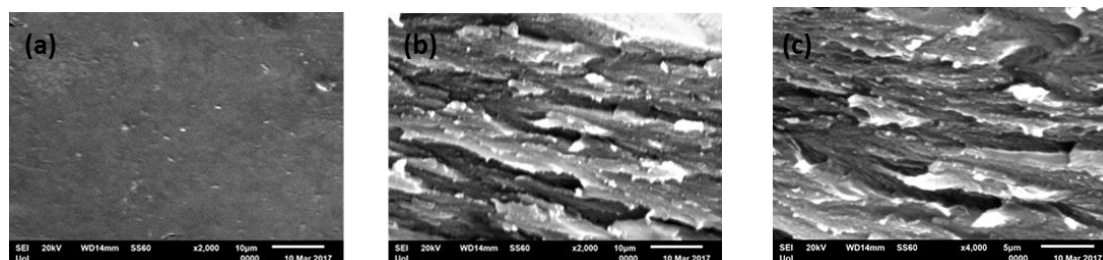
Στο Σχήμα 4.5(c) παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για τις μεμβράνες που ενισχύθηκαν με πλαστικοποιητή PVOH. Παρατηρούμε ότι συγκριτικά με το σύνθετο CS- PVOH που παρουσίασε μικρή παραμόρφωση, όλα τα υπόλοιπα φιλμ ενισχύθηκαν ως προς την παραμόρφωσή τους με τα αποτελέσματα του εφελκυσμού να παραμένουν σχεδόν ανεπηρέαστα από την αύξηση του ποσοστού ZnO εμφανίζοντας όμοιες μηχανικές ιδιότητες όπως φαίνεται και στον Πίνακα 4.6 (c). Και σε αυτή την περίπτωση η ενίσχυση της ολκιμότητας με το ποσοστό ZnO παραπέμπει σε χαλαρή αλληλεπίδραση των νανοσωματιδίων και πιθανώς καλύτερη αλληλεπίδραση του PVOH με την CS. Σε προηγούμενη εργασία είχε φανεί ότι η χρήση φυλλόμορφης αργίλου σε δοκίμια με πλαστικοποιητές ευνοούσε την καλύτερη κατανομή του πλαστικοποιητή σε όλο το υλικό και σε καλύτερα αποτελέσματα πλαστικοποίησης (33) .

4.3 Ανάλυση της μικροδομής των μεμβρανών

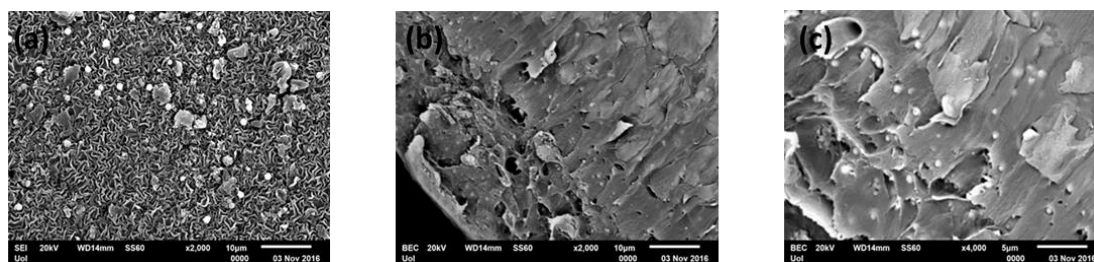
Λόγω του μεγάλου αριθμού των δοκιμίων έγινε παρατήρηση της σκόνης του ZnO και επιλεγμένων μεμβρανών, πιο συγκεκριμένα μελετήθηκαν οι μεμβράνη αναφοράς CS, και οι νανο-σύνθετές της με CS7ZnO, CS20GL7ZnO και CS20PVOH7ZnO. Παρουσιάζονται οι εξωτερικές επιφάνειες των δοκιμίων καθώς και οι επιφάνειες θραύσης τους.



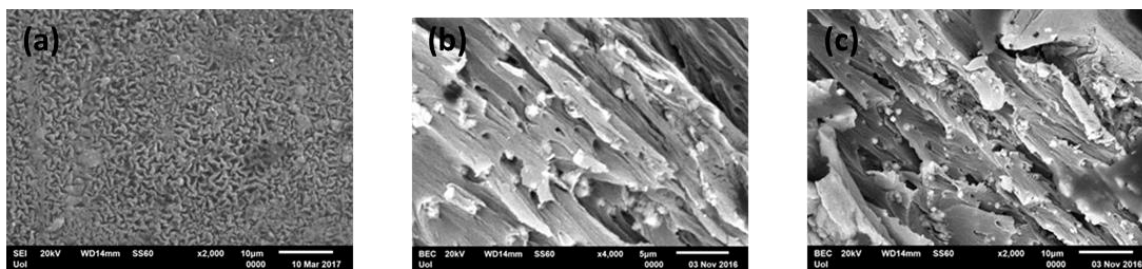
Εικόνα 4.1: Μικροδομή της σκόνης ZnO



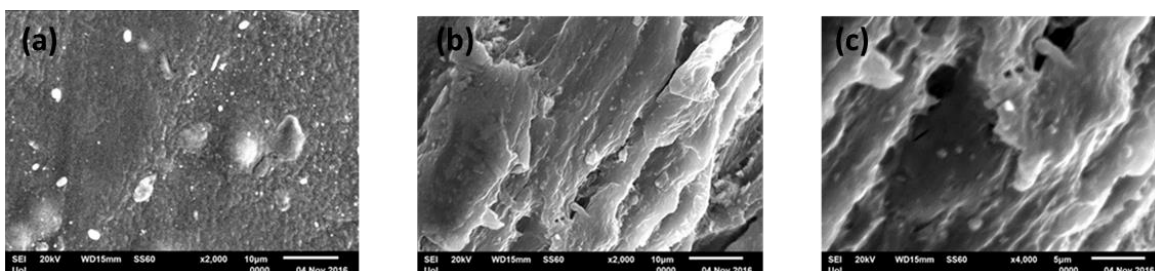
Εικόνα 4.2: Μικροδομή (a) της επιφάνειας της καθαρής CS και (b), (c) του σημείου θραύσης μετά τον εφελκυσμό



Εικόνα 4.3: Μικροδομή (a) της επιφάνειας της μεμβράνης CS7ZnO και (b), (c) του σημείου θραύσης μετά τον εφελκυσμό



Εικόνα 4.4: Μικροδομή (a) της επιφάνειας της μεμβράνης CS20GL7ZnO και (b), (c) του σημείου θραύσης μετά τον εφελκυσμό



Εικόνα 4.5: Μικροδομή (a) της επιφάνειας της της μεμβράνης CS20PVOH7ZnO και (b), (c) του σημείου θραύσης μετά τον εφελκυσμό

Γενικά, το οξείδιο του ψευδαργύρου μπορεί να πάρει είτε τη μορφή ραβδίων είτε τη μορφή σφαιριδίων. Όπως φαίνεται στην *Εικόνα 4.1* το ZnO που χρησιμοποιήθηκε έχει τη μορφή ραβδίων.

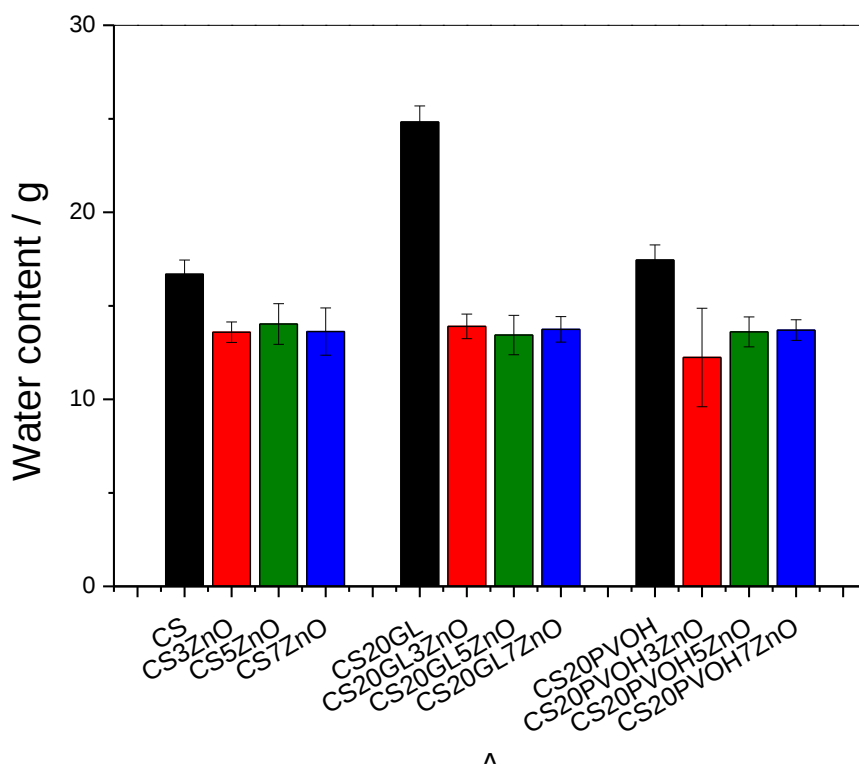
Στην *Εικόνα 4.2* (a) φαίνεται η άμορφη και ομοιογενής επιφάνεια της CS και στην *Εικόνα (b) και (c)* φαίνεται το σημείο που έσπασε το dog bone της καθαρής CS σε μεγέθυνση x2000 και x4000 αντίστοιχα, όπου παρατηρούμε την παραμόρφωση που έχουν υποστεί οι αλυσίδες της CS.

Όσον αφορά την *Εικόνα 4.3* (a) όπου παρουσιάζεται η επιφάνεια της CS ενισχυμένη με 7%ZnO μπορούμε να δούμε ότι έχει γίνει διασπορά του ZnO στο πλέγμα της CS και έχει τη μορφή λευκών σφαιριδίων. Επίσης, στην *Εικόνα 4.3* (b) και (c), φαίνονται τα νανοσωματίδια και στο σημείο θραύσης των δειγμάτων, πράγμα το οποίο συνεπάγεται την ομοιόμορφη διάχυση σε όλο το πλέγμα του πολυμερούς.

Στην *Εικόνα 4.4*, κυρίως στις (b) και (c), βλέπου ότι η προσθήκη της GL ως πλαστικοποιητή, έχει ευνοήσει την ανάπτυξη του ZnO, και τα νανοσωματίδια εμφανίζονται να έχουν μεγαλύτερο μέγεθος συγκριτικά με την *Εικόνα 4.3*.

Τέλος, παρατηρούμε ότι στην *Εικόνα 4.5* όπου το σύνθετο έχει ενισχυθεί με PVOH ως πλαστικοποιητή, παρατηρείται μεγάλη διασπορά συγκριτικά με το δείγμα που δεν έχει πλαστικοποιητή.

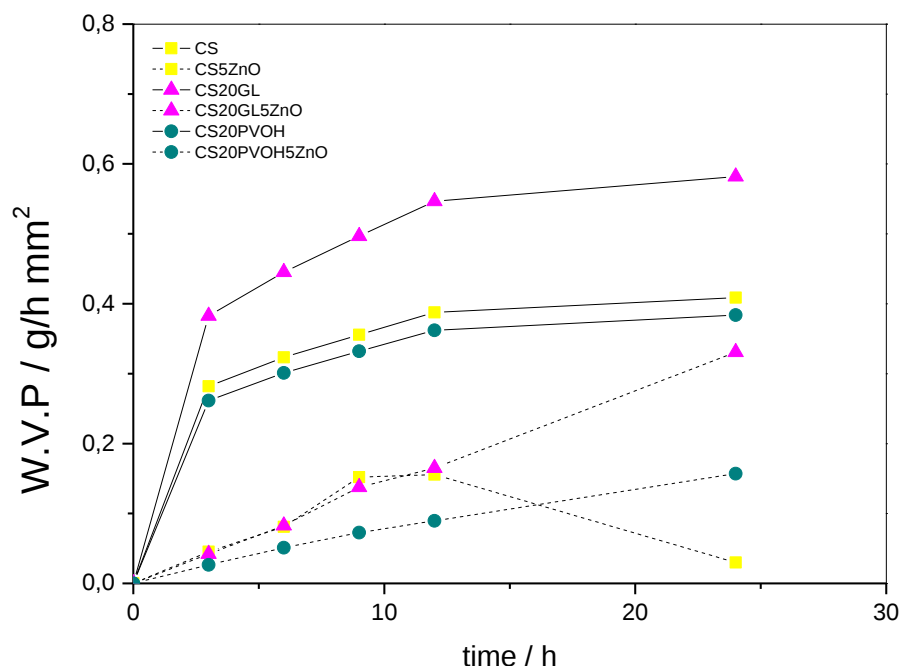
4.4 Μελέτη περιεκτικότητας των μεμβρανών σε υγρασία



Σχήμα 4.6: Η μέση τιμή και τυπική απόκλιση του βάρους των τριών δειγμάτων που ζυγίστηκαν για κάθε τύπο συνθέτου μετά από 24 ώρες στους 120 C

Στο Σχήμα 4.6 παρουσιάζεται το βάρος των δειγμάτων μετά από 24 ώρες στους 120°C, όπου έχει απομακρυνθεί το νερό που ήταν εγκλωβισμένο στο εσωτερικό των πόρων τους. Όπως διαπιστώνουμε, με την προσθήκη ZnO παρουσιάζεται μεγαλύτερη μείωση στο βάρος που σημαίνει ότι απομακρύνεται μεγαλύτερη ποσότητα παγιδευμένου νερού ή ότι εξαρχής η ποσότητα του νερού που ήταν εγκλωβισμένη στους πόρους ήταν μικρότερη. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι με την προσθήκη του ZnO μειώνεται ο ελεύθερος όγκος του πολυμερούς, δηλαδή πόροι οι οποίοι θα μπορούσαν να φιλοξενήσουν (41; 42; 43; 44; 45) το νερό.

4.5 Μελέτη διαπερατότητας των μεμβρανών σε υγρασία



Σχήμα 4.7: Η επί τοις εκατό μεταβολή του βάρους του συστήματος δειγματοφορέων-μεμβρανών συναρτήσει του χρόνου

Από όλα τα δείγματα επιλέχθηκαν τα ποσοστά σε ZnO 5%, δηλαδή CS5ZnO, CS20GL5ZnO, CS20PVOH5ZnO και συγκρίθηκαν με τα αντίστοιχα δείγματα χωρίς ZnO, δηλαδή CS, CS20GL, CS20PVOH (Σχήμα 4.7). Ο υπολογισμός της διαπερατότητας σε υγρασία των υπό μελέτη δειγμάτων γίνεται με χρήση της σχέσης [8] και παρουσιάζεται στον Πίνακα 14.

Πίνακας 4.7: Υπολογισμός της διαπερατότητας σε υγρασία των μεμβρανών CS, CS5ZnO, CS20GL, CS20GL5ZnO, CS20PVOH, CS20PVOH5ZnO

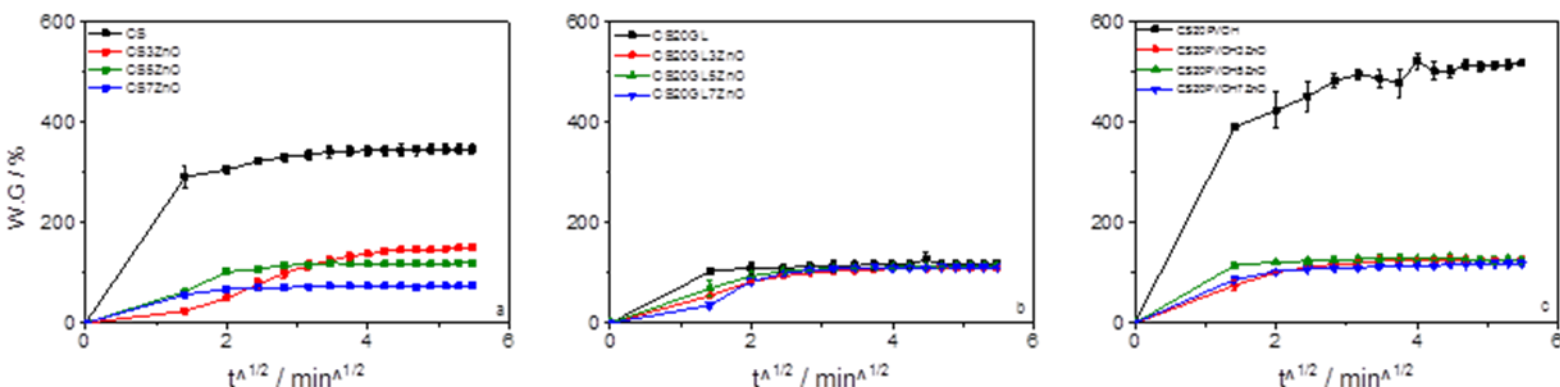
	G/t	$WVP=(G/t)/A$
CS	0.01287	$4.10 \cdot 10^{-5} \text{ g/h mm}^2$
CS5ZnO	0.00111	$3.53 \cdot 10^{-6} \text{ g/h mm}^2$
CS20GL	0.01871	$5.69 \cdot 10^{-5} \text{ g/h mm}^2$
CS20GL5ZnO	0.01376	$4.38 \cdot 10^{-5} \text{ g/h mm}^2$
CS20PVOH	0.01215	$3.87 \cdot 10^{-5} \text{ g/h mm}^2$
CS20PVOH5ZnO	0.00642	$2.04 \cdot 10^{-5} \text{ g/h mm}^2$

Από το Σχήμα 4.7 αρχικά παρατηρούμε ότι η CS παρουσιάζει μεγάλη διαπερατότητα σε υγρασία, που όμως μειώνεται αισθητά μετά την προσθήκη ZnO, διότι μειώνεται ο ελεύθερος όγκος του πολυμερούς, δυσχεραίνοντας τη διέλευση των μορίων νερού.

Επιπλέον, παρατηρούμε ότι στην περίπτωση της GL και τα δύο φιλμ CS20GL και CS20GL5 ZnO παρουσιάζουν αύξηση του W.V.P συγκριτικά με την CS (Πίνακας 4.7). Αυτό οφείλεται στο ότι η GL είναι ένα σχετικά μικρό υδρόφιλο μόριο που εισχωρεί ανάμεσα στις γειτονικές αλυσίδες, μειώνοντας τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις και διευκολύνοντας την μεταφορά μορίων νερού.

Στην περίπτωση της PVOH παρατηρούμε μεγαλύτερη μείωση του WVP που οφείλεται σύμφωνα με άλλες έρευνες στο ότι σε ποσοστά 20/30% μειώνει τη διαπερατότητα λόγω του σχηματισμού δεσμών H μεταξύ CS-PVOH που έχουν την τάση να περιορίζουν τη διαμοριακή κίνηση της αλυσίδας.

4.6 Μελέτη απορρόφησης της υγρασίας



Σχήμα 4.8: Διαγράμματα της επί τοις εκατό αύξησης του βάρους με τη ρίζα του χρόνου (a) για τα σύνθετα CS_3/5/7% Zn, (b) για τα σύνθετα CS20GL_3/5/7% Zn, (c) για τα σύνθετα CS20PVOH_3/5/7% Zn

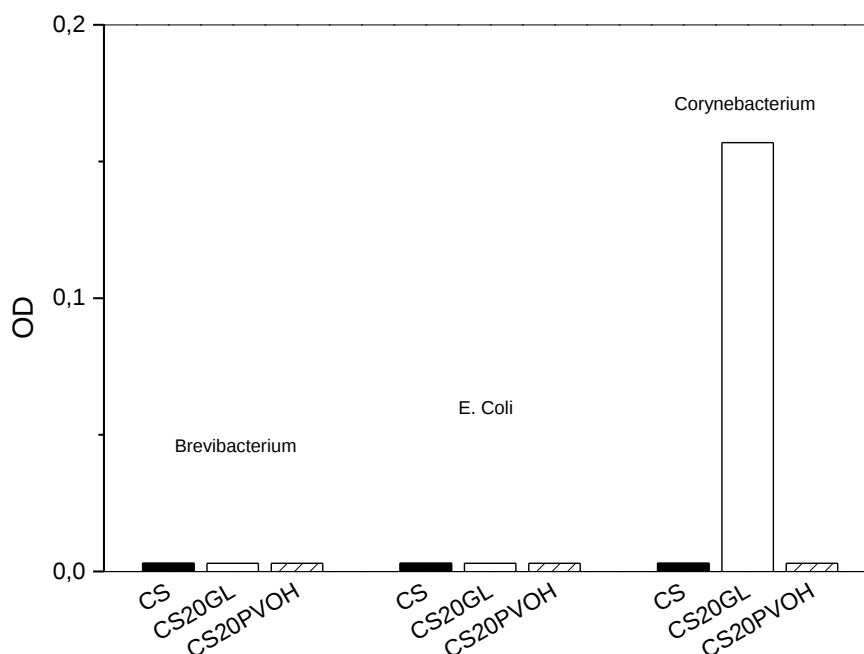
Οι μετρήσεις έγιναν ανά 2 λεπτά, γιατί όπως φαίνεται και από τα διαγράμματα εμφανίζεται πλατό μόλις από τα τρία πρώτα λεπτά.

Στο Σχήμα 4.8 παρατηρούμε ότι ενώ η CS αρχικά εμφανίζει μία αύξηση του βάρους της, της τάξης του 300%, με την προσθήκη ZnO παρατηρείται υποδιπλασιασμός αυτής τιμής, με την αύξηση του ποσοστού του ZnO να εμφανίζει ολοένα και καλύτερα αποτελέσματα όσον αφορά την αλλαγή στο βάρος της.

Στην περίπτωση προσθήκης GL, συμπεραίνουμε ότι υπάρχει μείωση ως προς την απορροφητικότητα των φιλμ συγκριτικά με την CS, αλλά όσον αφορά την προσθήκη του ZnO δείχνει να μην επηρεάζει η αύξηση του ποσοστού του.

Τέλος, παρατηρούμε ότι το σύνθετο CS20PVOH παρουσίασε αύξηση του βάρους του κατά περίπου 500%, πράγμα το οποίο μπορεί να οφείλεται στον υδρόφιλο χαρακτήρα του πλαστικοποιητή, που όμως μετά την προσθήκη ψευδαργύρου παρουσιάστηκε κατακόρυφη μείωση στην επί τις εκατό αύξηση του βάρους, υποτριπλασιασμό της αρχικής τιμής.

4.7 Μελέτη αντιμικροβιακής απόκρισης των μεμβρανών

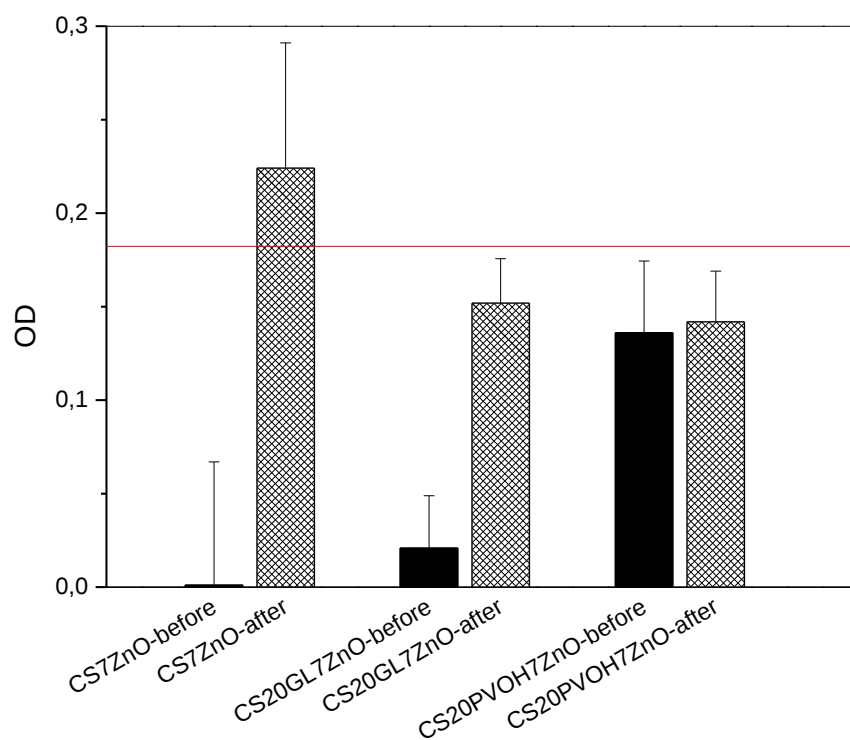


Σχήμα 4.9: Η μικροβιακή απόκριση των μεμβρανών πριν την επεξεργασία του με καυστικό νάτριο, έναντι των βακτηρίων

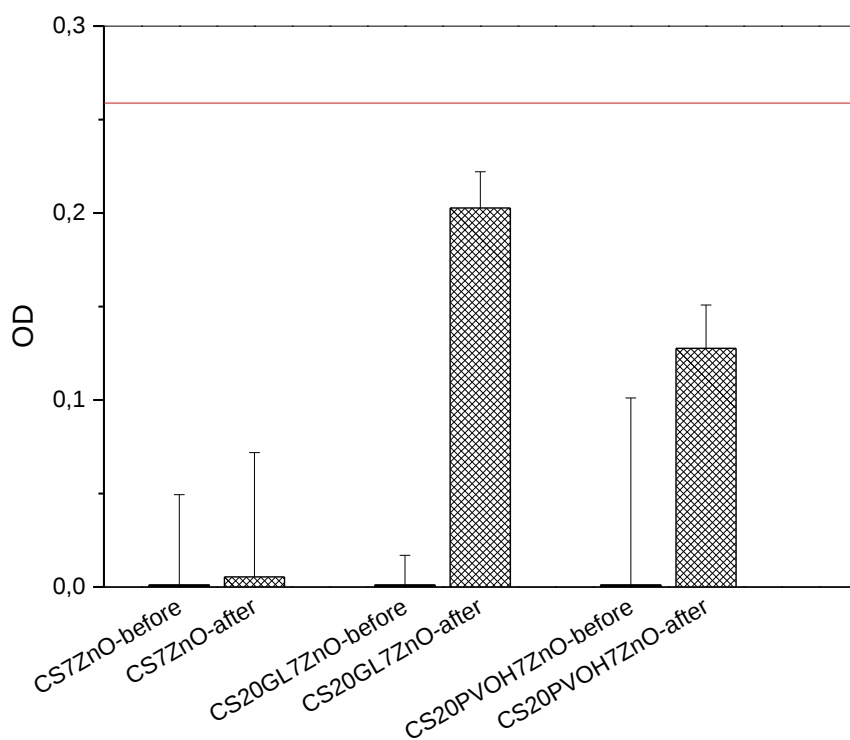
Στο Σχήμα 4.9 παρατηρούμε την απορρόφηση των δειγμάτων CS, CS20GL και CS20PVOH για τα διαφορετικά βακτήρια *Brevibacterium* sp., *E.Coli* και *Corynebacterium* sp. Διαπιστώνουμε από το ραβδόγραμμα ότι μόνο το σύνθετο CS20GL παρουσιάζει μία υποτυπώδη ανάπτυξη του βακτηρίου *Corynebacterium* sp. όπως φαίνεται και στον Πίνακα 4.8.

Πίνακας 4.8: Παρουσίαση της μικροβιακής απόκρισης των μεμβρανών πριν την επεξεργασία του με καυστικό νάτριο, έναντι των βακτηρίων

Σύνθετο	Αναστολή %		
	Gram-θετικά		Gram-αρνητικό
	<i>Brevibacterium</i> sp.	<i>Corynebacterium</i> sp.	<i>E. Coli</i>
CS	100 %	100 %	100 %
CS20GL	100 %	30 %	100 %
CS20PVOH	100 %	100 %	100 %



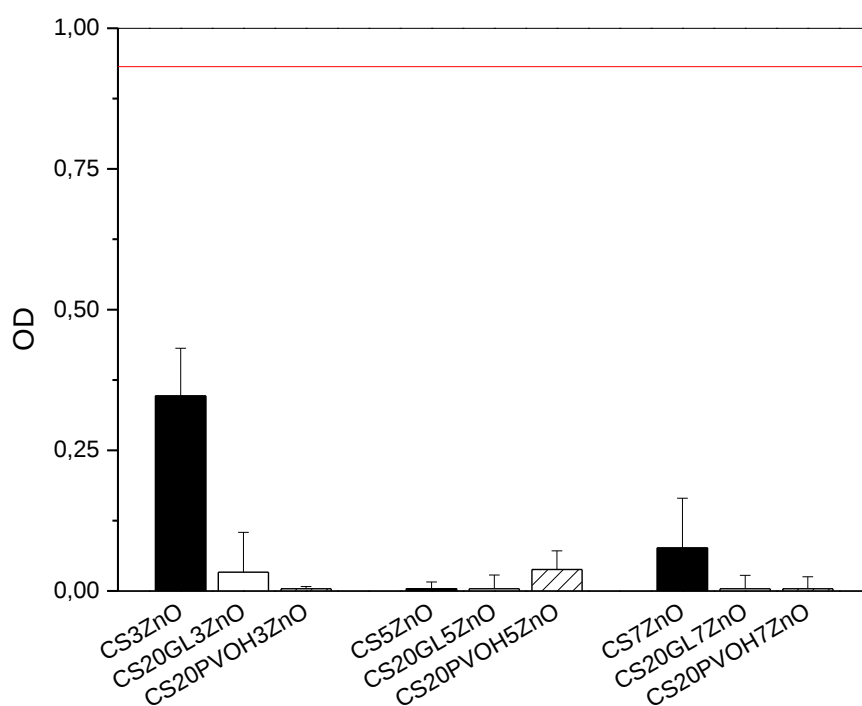
Σχήμα 4.10: Παρουσίαση της αντιμικροβιακής ικανότητας των συνθέτων πριν και μετά την ανάπτυξη ιόντων ψευδαργύρου, έναντι του *Corynebacterium sp.*



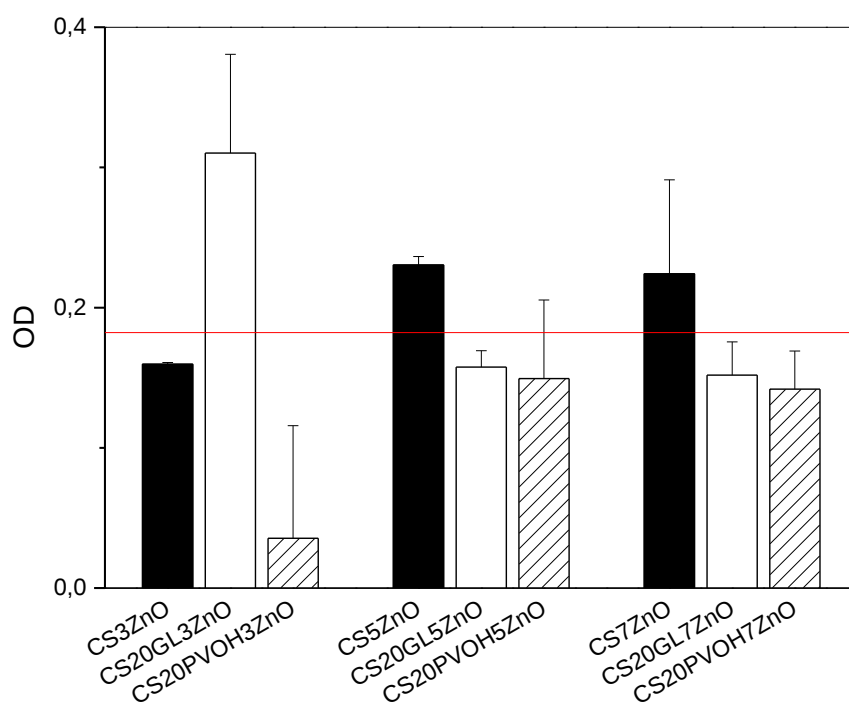
Σχήμα 4.11: Παρουσίαση της αντιμικροβιακής ικανότητας των συνθέτων πριν και μετά την ανάπτυξη ιόντων ψευδαργύρου, έναντι του *E. Coli*.

Στο Σχήμα 4.10 παρουσιάζονται οι απορροφήσεις των δειγμάτων, αφού έχουμε προσθέσει το *Corynebacterium sp.*, πριν και μετά την ανάπτυξη των ιόντων ψευδαργύρου με τη χρήση καυστικού νατρίου στα ενισχυμένα δείγματα με ποσοστό 7%ZnO. Στο διάγραμμα η κόκκινη γραμμή παρουσιάζει την απορρόφηση του καθαρού εμβολίου (control) μετά από 8 ½ ώρες καλλιέργειας και αποτελεί θετικό control για την μελέτη της βελτίωσης των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων των συνθέτων. Παρατηρούμε ότι τα δείγματα που δεν ήταν επεξεργασμένα με τη χρήση καυστικού νατρίου (before growth) παρουσίασαν μεγαλύτερη αναστολή στην ανάπτυξη του βακτηρίου σε σχέση με εκείνα που είχαν υποστεί επεξεργασία (after growth) στην περίπτωση της καθαρής CS και της CS20GL. Όσον αφορά την προσθήκη του πλαστικοποιητή PVOH παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει διαφορά στην αναστολή ανάπτυξης των μικροοργανισμών στα δείγματα πριν και μετά την επεξεργασία.

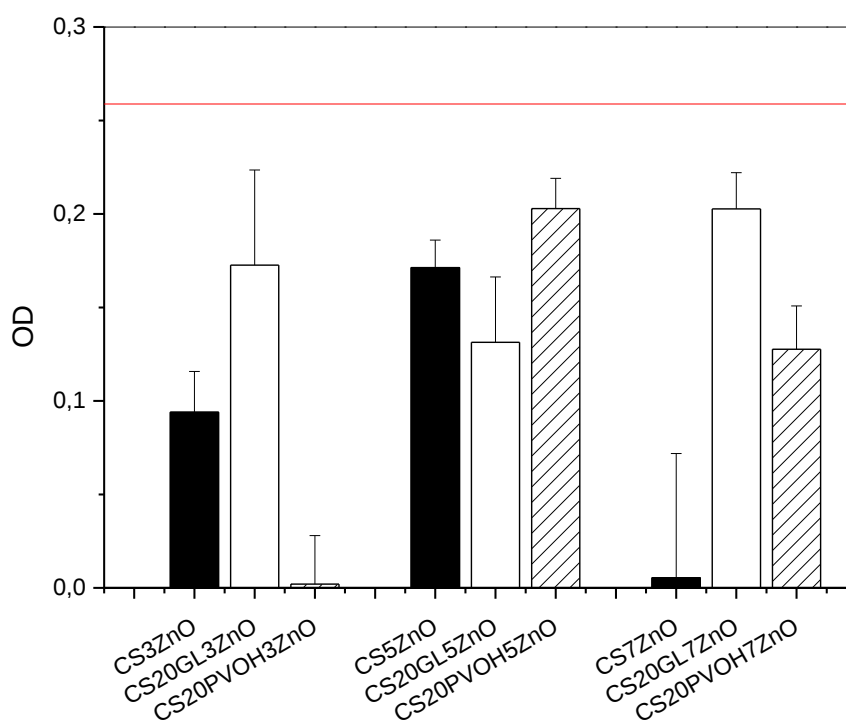
Στο Σχήμα 4.11 παρατηρούμε για το CS7ZnO η αναστολή ανάπτυξης του *E. Coli* μετά από επώαση 8 ωρών, είναι ίδια για τα σύνθετα πριν και μετά την επεξεργασία με καυστικό νάτριο ενώ για τα δείγματα όπου έχουν ενισχυθεί με πλαστικοποιητές η επεξεργασία τους υποβαθμίζει τις αντιμικροβιακές τους ιδιότητες. Παρόλα αυτά και στις δύο περιπτώσεις σε όλα τα δείγματα η απορρόφηση είναι μικρότερη από το σημείο αναφοράς.



Σχήμα 4.12: Η συμπεριφορά των μεμβρανών κατά τον *Brevibacterium sp.* για τα διαφορετικά ποσοστά ZnO με υπόστρωμα τη CS, CS-GL και CS -PVOH



Σχήμα 4.13: Η συμπεριφορά των μεμβρανών κατά τον *Corynebacterium sp.* για τα διαφορετικά ποσοστά ZnO με υπόστρωμα τη CS, CS-GL και CS -PVOH



Σχήμα 4.14: Η συμπεριφορά των μεμβρανών κατά του *E. Coli*. για τα διαφορετικά ποσοστά ZnO με υπόστρωμα τη χιτοζάνη, CS, CS-GL και CS -PVOH

Στο Σχήμα 4.12 παρουσιάζεται η αύξηση του *Brevibacterium sp.* παρουσία διαφόρων μεμβρανών CS, η κόκκινη γραμμή αντιστοιχεί στην αύξηση του βακτηρίου απουσία φιλμ CS (θετικό control). Παρατηρούμε ότι όλα τα σύνθετα παρουσιάζουν πλήρη αναστολή στην ανάπτυξη του *Brevibacterium sp.*, με εξαίρεση το δείγμα CS3ZnO, που υπάρχει αρνητική επίδραση όσον αφορά το βαθμό αναστολής.

Στο Σχήμα 4.13 παρουσιάζεται η αύξηση του *Corynebacterium sp* σε όλα τα δείγματα. Παρατηρούμε αναστολή στην περίπτωση του CS3ZnO και περισσότερη στην CS20PVOH3ZnO ενώ στην περίπτωση της CS20GL3ZnO παρατηρείται μεγάλη ανάπτυξη του βακτηρίου. Στις περιπτώσεις του CS5ZnO και CS7ZnO παρατηρείται αρχικά έντονη ανάπτυξη αλλά με την προσθήκη των πλαστικοποιητών υπάρχει παρόμοια αναστολή.

Τέλος, αν μελετήσουμε την αύξηση του ποσοστού του ZnO παρατηρούμε για την καθαρή CS ότι υπάρχει έντονη αύξηση της ανάπτυξης με την αύξηση του ποσοστού, στην περίπτωση της GL, όσο το ποσοστό αυξάνεται, μειώνεται η ανάπτυξη του μικροβίου, ενώ στην περίπτωση της PVOH αυξάνεται μεν η ανάπτυξη του μικροοργανισμού στο CS20PVOH5ZnO και CS20PVOH7ZnO χωρίς όμως να ξεπερνά την τιμή απορρόφησης του σημείου αναφοράς.

Στο Σχήμα 4.14 φαίνεται ότι για το CS20GL3ZnO υπάρχει μικρή σχετικά αναστολή συγκρίνοντας με τα αποτελέσματα της καθαρής CS και ιδιαίτερα με αυτά της CS20PVOH, όπου η ανάπτυξη είναι μηδενική.

Στην περίπτωση του CS5ZnO παρατηρούμε περίπου όμοια ανάπτυξη του βακτηρίου, ενώ στο ποσοστό της τάξης του CS7ZnO παρατηρείται μεγάλη αναστολή στην καθαρή CS σε αντίθεση με τη CS20PVOH και κυρίως τη CS20GL όπου δεν παρατηρείται ιδιαίτερη αναστολή της ανάπτυξης του *E.Coli* (Σχήμα 4.14).

Τέλος, συγκρίνοντας το κατά πόσο επηρεάζει η αύξηση του ποσοστού του ZnO τις αντιμικροβιακές ιδιότητες των συνθέτων, παρατηρούμε ότι το CS7ZnO παρουσιάζει τη μεγαλύτερη αναστολή. Όσον αφορά τη CS20GL η ανάπτυξη είναι σχετικά αυξημένη για όλα τα ποσοστά και τέλος για το CS20PVOH3ZnO εμφανίζει μηδενική ανάπτυξη του βακτηρίου, ενώ τα άλλα δύο παρουσιάζουν μία σχετική απορρόφηση.

Κεφάλαιο 5 -Συμπεράσματα

Από τα αποτελέσματα που εξήχθησαν συμπεραίνουμε αρχικά ότι η παρουσία του ZnO οργάνωσε καλύτερα την αλυσίδα της CS. Όπως φαίνεται και στα περιθλασιογραφήματα προσέδωσε ένα ποσοστό κρυσταλλικότητας που αποτυπώθηκε με την ανάπτυξη της κορυφής στις 20°. Τα μεγαλύτερα ποσοστά του ZnO καθώς και με η προσθήκη PVOH παρουσίασαν καλύτερη ανάπτυξη του ZnO στο πλέγμα της CS. Πρέπει να σημειωθεί επίσης ότι από τους δύο πλαστικοποιητές η GL εμφάνισε μεγάλο ποσοστό επιμήκυνσης της τάξης του 45%, χαρακτηριστικό που αποτελεί βασική απαίτηση των υλικών συσκευασίας. Ακόμη και μετά την προσθήκη ZnO έδειξαν να ευνοούνται περισσότερο οι μηχανικές ιδιότητες με το μέτρο ελαστικότητας, την τάση διαρροής, την μέγιστη αντοχή και την παραμόρφωση να παρουσιάζουν πολύ καλά αποτελέσματα. Επίσης, οι τιμές της περιεκτικότητας σε υγρασία έδειξαν να βελτιώνονται από την προσθήκη του ZnO. Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα των δειγμάτων CS20GL3/5/7ZnO και CS20PVOH3/5/7ZnO με το CS3/5/7ZnO παρατηρήσαμε ότι η παρουσία των πλαστικοποιητών δεν είχε θετική επίδραση. Αντίθετα η PVOH έδειξε να επηρεάζει τη διαπερατότητα με τιμή WVP=2.04*10⁻⁵ g/h mm². Τέλος όσον αφορά τις αντιμικροβιακές ιδιότητες, παρατηρήσαμε ότι συγκριτικά με τα δείγματα που δεν είχαμε επεξεργαστεί, η επεξεργασία με NaOH δεν έχει θετική επίδραση στην αντιμικροβιακή απόκριση των φιλμ. Οι πλαστικοποιητές δε, έδειξαν να επηρεάζουν θετικά την αντιμικροβιακή απόκριση έναντι του *Brevivacterium sp.* και *Ecoli*, όχι όμως του *Coryne sp.*

Εν κατακλείδι, η βασική παράμετρος που μελετάται για την σταθερότητα μιας συσκευασίας είναι η συμπεριφορά της στις μηχανικές καταπονήσεις, διότι στόχος είναι να αυξάνει την διάρκεια ζωής. Συνεπώς καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η CS20GL7ZnO φάνηκε να ανταποκρίνεται καλύτερα σε αυτήν την απαίτηση.

Εικόνα 2.1: Τρεις τύποι συσκευασιών [1]	11
Εικόνα 2.2: Ποικιλία συσκευασιών που κυκλοφορούν στην αγορά [http://www.oxfordlearnersdictionaries.com/definition/english/aerosol].....	12
Εικόνα 2.3: Δομή πολυαιθυλενίου (PE).	15
Εικόνα 2.4: Διαχωρισμός πολυσακχαριτών σε πολυηλεκτρολύτες και μη-πολυηλεκτρολύτες [6]	16
Εικόνα 2.5: Η δομή της χιτίνης [8].....	17
Εικόνα 2.6: Προέλευση χιτοζάνης από καρκινοειδή [8].	18
Εικόνα 2.7: Η δομή της χιτοζάνης [42].	19
Εικόνα 2.8: Διαδικασία αποακετυλίωσης χιτίνης για το σχηματισμό χιτοζάνης [6].....	19
Εικόνα 2.9: Τεχνητό δέρμα από χιτοζάνη [Tama Art University bulletin 2006]	23
Εικόνα 2.10: Κρίσιμη αποδεκτή ποσότητα μετανάστευσης υλικού [http://analyteguru.com/where-is-your-food-packaging-material-migrating-to-this-winter/].	27
Εικόνα 2.11: Παρουσίαση διαφόρων τύπων προσομοιωτών [16].....	28
Εικόνα 2.12: Ενεργότητα νερού [45].	33
Εικόνα 2.13: Αντιμικροβιακές ιδιότητες και εφαρμογές της χιτοζάνης [15].	38
Εικόνα 2.14: Διαχωρισμός βακτηρίων [17].	39
Εικόνα 2.15: Δομή gram-θετικών βακτηρίων [25].....	40
Εικόνα 2.16: Δομή gram-αρνητικών βακτηρίων [25].	40
Εικόνα 3.1: Παρασκευή χιτοζάνης, χιτοζάνης-γλυκερόλης και χιτοζάνης-πολυβινυλαλκοόλης στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών.....	46
Εικόνα 3.2: Στέγνωμα δειγμάτων για την παρασκευή των μεμβρανών στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών.....	47
Εικόνα 3.3: Ανάπτυξη ιόντων ψευδαργύρου στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών.	47
Εικόνα 3.4: Περίθλαση ακτίνων-X σύμφωνα με την εξίσωση του Bragg [31].....	50
Εικόνα 3.5: Πρότυπες διαστάσεις dog bone τύπου V με βάση το ASTM D638.....	51
Εικόνα 3.6: Μηχανική καταπόνηση των dog bones των νανοσύνθετων μεμβρανών.	52
Εικόνα 3.7: Εφελκόμετρο Shimadzu Autograph AG-Xplus Series, του εργαστηρίου Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών.....	52
Εικόνα 3.8: Σχηματική διάταξη ηλεκτρονικής μικροσκοπίας [32].	53
Εικόνα 3.9: Παρουσίαση των δειγμάτων πριν και μετά την επιχρύσωση στο Sc760 sputter coater Polaron του Τμήματος Χημείας, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.	54
Εικόνα 3.10: Φούρνος Fermaks, του εργαστηρίου Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών.	55
Εικόνα 3.11: Μέτρηση διαπερατότητας υγρασίας των φιλμ στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Πατρών.	56
Εικόνα 3.12: Ζύγιση δειγμάτων στο εργαστήριο Μηχανικής Συνθέτων και Ευφρών Υλικών, του Τμήματος Μηχανικών Επιστήμης Υλικών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων	56

Εικόνα 3.13: Επωαστήρας mrc, TOU-120, του Εργαστηρίου Βιοτεχνολογίας, του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων	57
Εικόνα 3.14: Αποαείρωση πλακέτας μετά από έκθεση σε ακτινοβολία UV, στη συσκευή ZHWY-100C του Εργαστηρίου Βιοτεχνολογίας, του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.	58
Εικόνα 3.15: Τοποθέτηση δειγμάτων στο micro-plate και προσθήκη βακτηρίων, που έλαβε χώρα στο Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας, του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων	58
Εικόνα 3.16: Φωτομέτρηση δειγμάτων στο φωτόμετρο ELISA, LT-4500 του Εργαστηρίου Βιοτεχνολογίας, του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων	59
Εικόνα 4.1: Μικροδομή της σκόνης ZnO.....	69
Εικόνα 4.2: Μικροδομή (a) της επιφάνειας της καθαρής CS και (b), (c) του σημείου θραύσης μετά τον εφελκυσμό	69
Εικόνα 4.3: Μικροδομή (a) της επιφάνειας της μεμβράνης CS7ZnO και (b), (c) του σημείου θραύσης μετά τον εφελκυσμό	69
Εικόνα 4.4: Μικροδομή (a) της επιφάνειας της μεμβράνης CS20GL7ZnO και (b), (c) του σημείου θραύσης μετά τον εφελκυσμό	70
Εικόνα 4.5: Μικροδομή (a) της επιφάνειας της της μεμβράνης CS20PVOH7ZnO και (b), (c) του σημείου θραύσης μετά τον εφελκυσμό.....	70

Πίνακας 2.1: Περιβαλλοντικοί παράγοντες και ιδιότητες που επηρεάζουν τα τρόφιμα [45] .	13
Πίνακας 2.2: Κλιματικό περιβάλλον [2].	14
Πίνακας 2.3: Φυσικό περιβάλλον [2].	14
Πίνακας 2.4: Βιολογικό περιβάλλον [2].	14
Πίνακας 2.5: Ανεπιθύμητες αλλαγές που υποβαθμίζουν την ποιότητα των τροφίμων (9).	29
Πίνακας 3.1: Αναλυτική παρουσίαση των συνθέτων που παρασκευάστηκαν και ονοματολογία τους.	48
Πίνακας 3.2: Αναλυτικός πίνακας των διαστάσεων του dog bone	51
Πίνακας 4.1: Αποτύπωση των χαρακτηριστικών κορυφών για τις μεμβράνες CS_3/5/7 %ZnO.	63
Πίνακας 4.2: Αποτύπωση των χαρακτηριστικών κορυφών για τις μεμβράνες CS20GL_3/5/7 %ZnO.	63
Πίνακας 4.3: Αποτύπωση των χαρακτηριστικών κορυφών για τις μεμβράνες CS20PVOH_3/5/7 %ZnO.	63
Πίνακας 4.4: Καταγραφή των επιμέρους μεγεθών που μελετήθηκαν από τα διαγράμματα εφελκυσμού για τα σύνθετα CS_ZnO 3/5/7 %.	66
Πίνακας 4.5: Καταγραφή των επιμέρους μεγεθών που μελετήθηκαν από τα διαγράμματα εφελκυσμού για τα σύνθετα CS20GL_ZnO 3/5/7 %.	67
Πίνακας 4.6: Καταγραφή των επιμέρους μεγεθών που μελετήθηκαν από τα διαγράμματα εφελκυσμού για τα σύνθετα CS20PVOH_ZnO 3/5/7 %.	67
Πίνακας 4.7: Υπολογισμός της διαπερατότητας σε υγρασία των μεμβρανών CS, CS5ZnO, CS20GL, CS20GL5ZnO, CS20PVOH, CS20PVOH5ZnO.	72
Πίνακας 4.8: Παρουσίαση της μικροβιακής απόκρισης των μεμβρανών πριν την επεξεργασία του με καυστικό νάτριο, έναντι των βακτηρίων.	75

Σχήμα 4.1: Περιθλασιογράφημα των μεμβρανών CS, CS20GL και CS20PVOH	60
Σχήμα 4.2: Συγκεντρωτικό διάγραμμα αποτύπωσης της δομής των μεμβρανών χιτοζάνης πριν και μετά την ανάπτυξη ιόντων ψευδαργύρου -διαφορετικά γραφήματα για διαφορετικά ποσοστά ZnO.....	61
Σχήμα 4.3: Συγκριτικό περιθλασιογράφημα για τη μελέτη της επίδρασης του ποσοστού ZnO στη δομή των μεμβρανών a) CS, b) CS20GL, c) CS20PVOH της ενίσχυσης της χιτοζάνης. 62	
Σχήμα 4.4: Διάγραμμα τάσης-παραμόρφωσης μεμβρανών CS και η επίδραση της προδθής GL/PVOH – οι μεμβράνες είναι ανφοράς (χωρίς την προσθήκη ZnO και πριν την επεξεργασία τους με καυστικό νάτριο)	65
Σχήμα 4.5: Διαγράμματα τάσης-παραμόρφωσης (a) CS και CS3ZnO, CS5ZnO και CS7ZnO (b)) CS20GL και CS20GL3ZnO, CS20GL5ZnO και CS20GL7ZnO και (c)) CS20PVOH και CS20PVOH3ZnO, CS20PVOH5ZnO και CS20PVOH7ZnO.....	66
Σχήμα 4.6: Η μέση τιμή και τυπική απόκλιση του βάρους των τριών δειγμάτων που ζυγίστηκαν για κάθε τύπο συνθέτου μετά απο 24 ώρες στους 120 C	71
Σχήμα 4.7: Η επ'ι τοις εκατό μεταβολή του βάρους του συστήματος δειγματοφορέων-μεμβρανών συναρτήσει του χρόνου	72
Σχήμα 4.8: Διαγράμματα της επί τοις εκατό αύξησης του βέρους με τη ρίζα του χρόνου (a) για τα σύνθετα CS_3/5/7% Zn, (b) για τα σύνθετα CS20GL_3/5/7% Zn, (c) για τα σύνθετα CS20PVOH_3/5/7% Zn	74
Σχήμα 4.9: Η μικροβιακή απόκριση των μεμβρανών πριν την επεξεργασία του με καυστικό νάτριο, έναντι των βακτηρίων	75
Σχήμα 4.10: Παρουσίαση της αντιμικροβιακής ικανότητας των συνθέτων πριν και μετά την ανάπτυξη ιόντων ψευδαργύρου, έναντι του <i>Corynebacterium</i> sp.	76
Σχήμα 4.11: Παρουσίαση της αντιμικροβιακής ικανότητας των συνθέτων πριν και μετά την ανάπτυξη ιόντων ψευδαργύρου, έναντι του <i>E. Coli</i>	76
Σχήμα 4.12: Η συμπεριφορά των μεμβρανών κατά του <i>Brevibacterium</i> sp. για τα διαφορετικά ποσοστά ZnO με υπόστρωμα τη CS, CS-GL και CS -PVOH.....	78
Σχήμα 4.13: Η συμπεριφορά των μεμβρανών κατά του <i>Corynebacterium</i> sp. για τα διαφορετικά ποσοστά ZnO με υπόστρωμα τη CS, CS-GL και CS -PVOH	78
Σχήμα 4.14: Η συμπεριφορά των μεμβρανών κατά του <i>E. Coli</i> . για τα διαφορετικά ποσοστά ZnO με υπόστρωμα τη χιτοζάνη, CS, CS-GL και CS -PVOH.....	79

Βιβλιογραφία

1. Δεμερτζής,, Π. , και συν. Υλικά συσκευασίας / Ειδικά Θέματα Συσκευασίας Τροφίμων. Ιωάννινα : Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 2012.
2. Petersen, Karina , και συν. Potential of biobased materials for food packaging. *ELSEVIER* . 10, 1999, Τόμ. 52, 68.
3. Κουτσιλιέρη, Ελισαβετ Χ. Αξιολόγηση τής βιωσιμότητας τής συσκευασίας , Αρχές και εργαλεία. Αθήνα : Πν. Πειραιά, 2009.
4. Βερτζάη, Ευμορφία . Μελέτη τεχνολογίας και υλικών συσκευασίας τροφίμων και ποτών. Σύρος : Πανεπιστήμιο Αιγαίου, 2014.
5. Πολυμερή φιλικά προς τό πειβάλλον. Αθήνα : s.n.
6. Καρακασίδης, Ν. ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ,. Αθήνας : Εκδόσεις ΙΩΝ.
7. Συσκευασία τροφίμων. Αθήνα : Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Σχολή Χημικών Μηχανικών.
8. Παπαδάκης, Σπυρίδων. Συσκευασία Τροφίμων. Αθήνα : ΤΕΙ Αθήνας.
9. Βλάχα , Μαρία. Νανοσύνθετες μεμβράνες χιτοζάνης με φυλλόμορφες αργίλους: Επίδραση του πλαστικοποιητή και της μεθόδου μορφοποίησής της στη μορφολογίακαι στη μηχανική, περιβαλλοντική και μικροβιακή απόκριση. Ιωάννινα : Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.
10. Αλεξάνδρα, Τιτοπούλου. Παρασκευή και μελέτη νανοσωματιδίων τροποποιημένης χιτοζάνης, ως φορείς αποδέσμευσης φαρμάκων. Θεσσαλονίκη : Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 2014.
11. Γεωργιλέ, Μαρία. Βιοϋλικά στα τεχνητά εμφυτεύματα και μετρήσεις ακριβείας των εμφυτευμάτων. Αθήνα : Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, 2007.
12. Σαρρής, Παναγιώτης. Χιτοζανάσες - Εκφραση Χιτοζανασώνσέ trans-γενικά φυτά, για ανθεκτικότητα σέ φυτοπαθογόνους μύκητες. Αθήνα : s.n.
13. Rinaudo, Marguerite. Chitin and chitosan: Properties and applications. *ELSEVIER*. 2006, 2006, Τόμ. 31, 603-632.
14. Rajpal, Gagan . *Color and Mechanical Properties of Chitosan Films during Storage*. Tennessee : University of Tennessee - Knoxville, 5-2007.
15. Prashanth, K.V. Harish . Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potentialdan overview. *ELSEVIER*. 2007, Τόμ. 18, 117-131.
16. Rapid, Kumar Dutta. Chitin and chitosan: Chemistry , prperties and applications. *Journal of Scientific & Industrial \research*. 2004, Τόμ. 63, 20-31.
17. Packaging materials for foods. *Practical Action*.

18. Melissa Gurgel , Adeodato Vieira και Altenhofen da Silva, Mariana . Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *ELSEVIER*. 2011, Τόμ. 47, 254-263.
19. Oi-Wah ,, Laua και Siu-Kay Wongb. Contamination in food from packaging material. *ELVESIER*. 2000, Τόμ. 882, 255-270.
20. Tripathi, Shipra, Mehrotra,, G. K. και Dutta, P. K. . *Chitosan based antimicrobial films for food packaging applications*. Allahabad : e-Polymers, 2008. 1618-7229.
21. Amalia Carmen, Mitelut ,TĂNASE, Elisabeta Elena, Ioan, Popa Vlad και Elena, Mona. *Sustainable alternative for food packaging chitosan biopolymer*. Romania : University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, 2015.
22. Hafdani , F. Nejati και Sadeghinia, N. . A Review on Application of Chitosan as a Natural Antimicrobial. *International Journal of Medical. Health, Biomedical, Bioengineering and Pharmaceutical Engineering*, 2011, Τόμ. 5, 2.
23. Judith Perez Espitia, Paula , Ferreira Soaresa, Nilda de Fátima και Teófilob,, Reinaldo F. . Physical–mechanical and antimicrobial properties of nanocomposite films. *ELSEVIER. Carbohydrate Polymers*, 2013, Τόμ. 94 (2013), 199– 208.
24. Characterisation and cooperative antimicrobial properties of chitosan/nano-ZnO composite nanofibrous membranes. *ELSEVER. Food Chemistry* , 2012, Τόμ. 132 (2012) , 419–427.
25. Dhillon , Gurpreet Singh, Kaur , Surinder και Kaur Brar, Satinder. Facile fabrication and characterization of chitosan-based zinc oxide nanoparticles and evaluation of their antimicrobial and antibiofilm activity. *Int Nano Lett*. 2014, Τόμ. 4, 107.
26. Deepali Sharma, και συν. Synthesis of ZnO nanoparticles and study of their antibacterial and antifungal properties. *ELSEVIER. Thin Solid Films*, 2010, Τόμ. 519 (2010), 1224–1229.
27. Gunalan, Sangeetha, Sivaraj, Rajeshwari και Rajendran, Venckatesh. Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. *Chinese MaterialsResearchSociety. Progress in Natural Science: Materials International*, 2012, Τόμ. 22(6), 693–700.
28. Aryou Emamifar, και συν. Evaluation of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on shelf life of fresh orange juice. *ELSEVIER. Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2010, Τόμ. 11, 742–748.
29. Rasika Tankhiwale και S.K. Bajpai. Preparation, characterization and antibacterial applications of ZnO-nanoparticles coated polyethylene films for food packaging. *ELSEVIER. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2012, Τόμ. 90, 16– 20.
30. Sangeetha Gunalan, RajeshwariSivaraj και VenckateshRajendran. Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. *Chinese*

MaterialsResearchSociety. Progress in Natural Science: Materials International, 2012, Τόμ. 22(6), 693–700.

31. *Bacterial Classification, Structure and Function*. Lowy, Frank.

32. Ming Kong, και συν. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *elsevier*. International Journal of Food Microbiology 3, 2010, Τόμ. 144, 51–63.

33. —. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *ELSEVIER*. International Journal of Food Microbiology, 2010, Τόμ. 144, 51–63.

34. Li-Hua Li, και συν. Synthesis and characterization of chitosan/ZnO nanoparticle composite membranes. *ELSEVIER*. Carbohydrate Research, 2010, Τόμ. 345 (, 994–998.

35. Aris Giannakasa, και συν. Preparation, characterization, mechanical, barrier and antimicrobial Preparation, characterization, mechanical, barrier and antimicrobial properties of chitosan/PVOH/clay nanocomposites. *ELSEVIER*. Carbohydrate Polymers, 2016, Τόμ. 140, 408–415.

36. Wasina Thakhiew, Sakamon Devahastin και Somchart Soponronnarit. Physical and mechanical properties of chitosan films as affected by drying methods and addition of antimicrobial agent. *ELSEVIER*. Journal of Food Engineering, (2013), Τόμ. 119, 140–149.

37. Ambalangodage C. Jayasuriya¹, Ashkan Aryaei και Ahalapitiya H. Jayatissa². ZnO nanoparticles induced effects on nanomechanical behavior and cell viability of chitosan films. *NIH Public Access*. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2013 October, 2013, Τόμ. 33(7), 3688–3696.

38. Denice S. Vicentini, Arthur Smania Jr. και Mauro C.M. Laranjeira. Chitosan/poly (vinyl alcohol) films containing ZnO nanoparticles and plasticizers. *ELSEVIER*. Materials Science and Engineering C, 2010, Τόμ. 30 (, 503–508.

39. Maria Vlachas, και συν. On the efficiency of oleic acid as plasticizer of chitosan/clay nanocomposites and its role on thermo-mechanical, barrier and antimicrobial properties e Comparison with glycerol. *ELSEVIER*. Food Hydrocolloids, 2016, Τόμ. 57, 10e19.

40. Vicentini, Denice S., Arthur Smania Jr και Mauro C.M. Laranjeira. Chitosan/poly (vinyl alcohol) films containing ZnO nanoparticles and plasticizers. *ELSEVIER*. Materials Science and Engineering C, 2010, Τόμ. 30, 503–508.

41. Αθανάσιος, Αντωνιάδης. Χαρακτηρισμός σμεκτιτών σε εμπορικούς μπεντονίτες. Χανία, Κρήτη : Τμήμα Μηχανικών Ορυκτών Πόρων, 2015.

42. Σωτήρης, Ανδρώνης. Παραγωγή και μελέτη με περίθλαση ακτίνων Χ, της δομής και της αντιδιαβρωτικής/ αντιοξειδωτικής συμπεριφοράς μεταλλικών επικαλύψεων θερμικού ψεκασμού, κράματος νικελίου- χρωμίου και αλουμινίου. Θεσσαλονίκη : s.n., 2011.

43. *Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics*. s.l. : ASTM International.

44. Davoud Salarbashi, Seyed Ali Mortazavi, Mostafa Shahidi Noghabi, Bibi Sedigheh Fazly Bazzaz, Naser Sedaghat, Mohammad Ramezani, Iman Shahabi-Ghahfarrokhi. Development of new active packaging film made from a soluble soybean polysaccharide incorporating ZnO nanoparticles. *ELSEVIER*. 2015.

45. Alvarenga, Elson Santiago de Alvarenga. *Characterization and Properties of Chitosan*. Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Química, Viçosa, MG : Brazil.