



Σχολή Επιστημών Τροφίμων

Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ, ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Χρήση νανοφορέων για τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας
βιοδραστικών συστατικών σε τρόφιμα και διατροφικά συμπληρώματα**

MSc Thesis

**The use of nanocarriers to improve the bioavailability of bioactive
ingredients in foods and dietary supplements**

Διευθύντρια Π.Μ.Σ

Καθ.Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων(ΠΑ.Δ.Α)

Ηλιάνα Θεοδωροπούλου

IlianaTheodoropoulou

Παναγιώτης Ζουμπουλάκης, Αναπληρωτής Καθηγητής

Panagiotis Zoumpoulakis, Assoc. Professor

ΑΙΓΑΛΕΩ 2023



Faculty of Food Sciences

Department of Food Science and Technology

Master of Science

FOOD INNOVATION, QUALITY AND SAFETY

MSc THESIS

**The use of nanocarriers to improve the bioavailability of bioactive
ingredients in foods and dietary supplements**

Iliana Theodoropoulou

AM 21011

Fiqs21011@uniwa.gr

SUPERVISOR

Panagiotis Zoumpoulakis, Assoc. Professor

AIGALEO 2023

Έγινε δεκτή

Η Διευθύντρια του ΠΜΣ:

Οι υπογράφωντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία (master thesis) με τίτλο **‘Χρήση νανοφορέων για τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας βιοδραστικών συστατικών σε τρόφιμα και διατροφικά συμπληρώματα’** που παρουσιάσθηκε από την **Ηλιάνα Θεοδωροπούλου**, υποψήφιας για τον μεταπτυχιακό τίτλο σπουδών στην **ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ, ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ** και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

06/09/2023

Παναγιώτης Ζουμπουλάκης ,Αναπληρωτής καθηγητής

Ημερομηνία

Όνομα μέλους επιτροπής

06/09/2023

Σινάνογλου Βασιλεία, Καθηγήτρια

Ημερομηνία

Όνομα μέλους επιτροπής

06/09/20230

Ειρήνη Στρατή ,Επίκουρη Καθηγήτρια

Δήλωση περί λογοκλοπής/Copyright

Έχοντας πλήρη επίγνωση των συνεπειών του νόμου περί πνευματικής ιδιοκτησίας, δηλώνω ότι είμαι αποκλειστική συγγραφέας της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Δηλώνω, επίσης, ότι αναλαμβάνω όλες τις συνέπειες, όπως αυτές νομίμως ορίζονται, στην περίπτωση που διαπιστωθεί διαχρονικά ότι η εργασία μου αυτή ή τμήμα αυτής αποτελεί προϊόν λογοκλοπής.

Ηλιάνα Θεοδωροπούλου

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου στον επιβλέποντα καθηγητή μου Δρ. Παναγιώτη Ζουμπουλάκη, Αναπληρωτή Καθηγητή, που μου ανέθεσε και με καθοδήγησε στην εκπόνηση της συγκεκριμένης εργασίας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου και τους φίλους μου για τις πολύτιμες συμβουλές τους και τη συμπαράστασή τους σε κάθε βήμα της εργασίας αυτής.

Αφιερώσεις

Αφιερώνω την εργασία αυτή στην οικογένειά μου για τη συνεχή υποστήριξη σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας εργασίας αλλά και για την απρόσκοπτη αγάπη τους σε κάθε μου βήμα.

Περίληψη

Η νανοτεχνολογία μέσα από καινοτόμες τεχνολογίες και μεθόδους βρίσκει εφαρμογή στην επιστήμη και τεχνολογία τροφίμων, τη διατροφή αλλά και την υγεία. Συγκεκριμένα, τα νανοσυστήματα μεταφοράς βιοδραστικών ενώσεων συμβάλλουν στην παράταση της διάρκειας ζωής, στη διατήρηση της ποιότητας των τροφίμων, στην προστασία από την ενζυμική, χημική ή μικροβιακή αλλοίωση αλλά και στη βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των τροφίμων και των διατροφικών συμπληρωμάτων. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η διερεύνηση της χρήσης των νανοφορέων με σκοπό τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας των βιοδραστικών συστατικών, έχοντας ως απώτερο στόχο την ενίσχυση της δράσης τους στον ανθρώπινο οργανισμό.

Η συγκεκριμένη μελέτη αφορά στη βιβλιογραφική ανασκόπηση για τη χρήση νανοφορέων με στόχο τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας βιοδραστικών συστατικών σε τρόφιμα και διατροφικά συμπληρώματα. Στόχος είναι η ανάδειξη των τελευταίων επιστημονικών επιτευγμάτων στον τομέα αυτό αλλά και η σημασία χρήσης νανοφορέων σε τρόφιμα και διατροφικά συμπληρώματα για τη βελτίωση των ιδιοτήτων τους. Στο πρώτο κεφάλαιο της παρούσας εργασίας πραγματοποιήθηκε μια εισαγωγή στον τομέα των νανοφορέων όπου γίνεται αναφορά στα είδη και τις εφαρμογές τους στα τρόφιμα καθώς και στα προβλήματα βιοδιαθεσιμότητας των βιοδραστικών συστατικών στα τρόφιμα και τα διατροφικά συμπληρώματα. Παράλληλα αναφέρονται οι προκλήσεις και οι προοπτικές εξέλιξης αυτών των εφαρμογών. Στο δεύτερο κεφάλαιο γίνεται αναφορά στα μικρο- και νανογαλακτώματα με έμφαση στους τρόπους παρασκευής τους και στις εφαρμογές σε τρόφιμα και διατροφικά συμπληρώματα. Αντίστοιχα τα κεφάλαια 3 και 4 μελετώνται συγκεκριμένα τα λιπосώματα και τα πολυμερικά νανοσωματίδια που περιλαμβάνουν τις κυκλοδεξτρίνες και τις υδρογέλες.

Στο πλαίσιο αυτής της εργασίας περιγράφονται εκτενώς τα είδη των συστημάτων μεταφοράς βιοδραστικών ενώσεων που συνηθέστερα μελετώνται σε εφαρμογές τροφίμων και διατροφικών συμπληρωμάτων. Αναφέρονται οι τρόποι παρασκευής, οι βασικότερες εφαρμογές αλλά και οι προκλήσεις του τομέα. Στα συμπεράσματα καταγράφονται τα σημαντικότερα επιτεύγματα των εφαρμογών που μελετήθηκαν, γίνεται μικρή αναφορά σε εταιρείες που έχουν υιοθετήσει τη νανοτεχνολογία στη γραμμή παραγωγής τους ενώ παράλληλα αναγνωρίζονται τα κενά γνώσης και οι μελλοντικές προτάσεις για εξέλιξη.

Abstract

Nanotechnology, through innovative technologies and methods, finds application in food science and technology, nutrition and health. In particular, nanosystems for the transport of bioactive compounds contribute to extending the shelf life, maintaining the quality of food, protecting it from enzymatic, chemical or microbial spoilage and improving the organoleptic characteristics of food and nutritional supplements. Of particular interest is the investigation of the use of nanocarriers in order to improve the bioavailability of bioactive components, with the ultimate goal of enhancing their activity in the human body.

This particular study provides a literature review on the use of nanocarriers to improve the bioavailability of bioactive ingredients in food and nutritional supplements. The aim is to highlight the latest scientific achievements in this field, as well as the importance of using nanocarriers in food and nutritional supplements in order to improve their properties. In the first chapter of this study, an introduction to the field of nanocarriers is provided, where the definitions, the types of nanocarriers and their applications in food are mentioned, as well as the problems of bioavailability of bioactive ingredients in food and nutritional supplements. At the same time, the challenges and the future perspectives of these applications are mentioned. In chapter 2, reference is made to micro- and nanoemulsions with an emphasis on preparation methods and the literature review including applications in food and nutritional supplements. Accordingly, chapters 3 and 4 study liposomes and polymeric nanoparticles, including cyclodextrins and hydrogels. Chapter 5 include the conclusions and the proposals for future actions. Finally, literature is listed.

In the context of this study, the types of the most commonly used nano-systems in food and food supplement applications were extensively described. The methods of preparation, the most principal applications and the challenges of the sector were mentioned. In the conclusions, the most important achievements of the studied applications are provided, and a small part is dedicated to companies that have adopted nanotechnology in their production line, while knowledge gaps and future proposals for the development of existing studies are recognized.

Πίνακας Περιεχομένων

Δήλωση περί λογοκλοπής/Copyright	4
Ευχαριστίες	5
Αφιερώσεις	6
Περίληψη	7
Abstract	8
Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή	10
Κεφάλαιο 2. Νανοδιασπορές και η εφαρμογή τους στα τρόφιμα και τα διατροφικά συμπληρώματα	14
2.1 Μικρο- και νανο-γαλακτώματα	15
2.2 Συστατικά μικρο- και νανο- γαλακτωμάτων	18
2.3 Νανοενθυλάκωση και τρόποι παρασκευής μικρο- και νανο-γαλακτωμάτων	19
2.4 Εφαρμογές μικρο- και νανο-γαλακτωμάτων στα τρόφιμα και στα διατροφικά συμπληρώματα	23
Κεφάλαιο 3. Χρήση των λιποσωμάτων στα τρόφιμα και στα διατροφικά συμπληρώματα ..	26
3.1 Σύσταση λιποσωμάτων	27
3.2 Μέθοδοι παρασκευής λιποσωμάτων	30
3.3 Εφαρμογές λιποσωμάτων σε τρόφιμα και συμπληρώματα διατροφής	33
Κεφάλαιο 4. Χρήση των πολυμερικών νανοσωματιδίων στα τρόφιμα και στα διατροφικά συμπληρώματα	36
4.1 Κυκλοδεξτρίνες	36
4.1.1 Ενθυλάκωση σε κυκλοδεξτρίνες	37
4.1.3 Εφαρμογές κυκλοδεξτρινών σε τρόφιμα και διατροφικά συμπληρώματα	39
4.2 Υδρογέλες	41
4.2.1 Μέθοδοι παρασκευής υδρογελών	42
4.2.3 Εφαρμογές υδρογελών σε τρόφιμα και διατροφικά συμπληρώματα	43
Κεφάλαιο 5. Συμπεράσματα	46
Βιβλιογραφία	51
Ηλεκτρονικές Πηγές	60
Πίνακας περιεχομένων εικόνων	61
Πίνακας περιεχομένων πινάκων	61

Κεφάλαιο 1.Εισαγωγή

Η νανοτεχνολογία αποτελεί έναν πολυδιάστατο κλάδο που συνδυάζει την επιστήμη και την τεχνολογία των υλικών με εύρος μεγέθους στην νανοκλίμακα (nm). Η νανοτεχνολογία βρίσκει εφαρμογή σε πολλούς τομείς, συμπεριλαμβανομένων των τροφίμων, των καλλυντικών, των υλικών και της ιατρικής (νανοϊατρική). Τα νανοϋλικά διαθέτουν μοναδικές φυσικοχημικές και βιολογικές ιδιότητες και ως εκ τούτου, τα νανοϋλικά βρίσκουν πολλές εφαρμογές σε πολλούς κλάδους συμπεριλαμβανομένου αυτού των τροφίμων τόσο σε εργαστηριακό όσο και σε βιομηχανικό επίπεδο. Σε αυτό το πλαίσιο, η νανοτεχνολογία επιτρέπει την ανάπτυξη και τον χαρακτηρισμό των νανοφορέων (ως προς τη δομή και τις ιδιότητές τους) ως φορείς βιοδραστικών ενώσεων όπως βιταμίνες, πεπτίδια, πρωτεΐνες, θρεπτικά συστατικά, αντιοξειδωτικά κλπ. Πρόσφατες μελέτες επιβεβαιώνουν την αποτελεσματική μεταφορά πληθώρας βιοδραστικών ενώσεων σε συστήματα-στόχους, ξεπερνώντας τα εμπόδια που θέτουν διάφοροι βιολογικοί φραγμοί (δέρμα, βλενογόνοι κλπ.). Αναφορικά με την χρήση των νανοφορέων για την μεταφορά βιοδραστικών ουσιών με εφαρμογή στα τρόφιμα και τα διατροφικά συμπληρώματα, το βασικό σύστημα στόχος είναι το πεπτικό σύστημα. Σε αυτή την κατεύθυνση έχουν αναπτυχθεί διάφοροι τύποι νανοφορέων προκειμένου να ξεπεραστούν οι δυσκολίες που σχετίζονται με την χαμηλή διαλυτότητα και τη χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα των βιοδραστικών ενώσεων [1].

Ως νανοφορείς θεωρούνται τα υλικά σε νανοκλίμακα (1-300nm) και όταν χρησιμοποιούνται σε εφαρμογές που σχετίζονται με τρόφιμα, διατροφικά συμπληρώματα και φάρμακα, αποτελούνται από βιοσυμβατά ή/και βιοδιασπώμενα συστατικά. Νανοφορείς όπως λιποσώματα, νανοδιασπορές όπως νανο- και μικρο-γαλακτώματα, υδρογέλες και νανοσωματίδια βασισμένα σε βιοπολυμερή είναι ορισμένα από τα πρόσφατα αναπτυγμένα συστήματα μεταφοράς βιοδραστικών συστατικών που έχουν διερευνηθεί εκτενώς [2,3]. Οι παραπάνω κατηγορίες νανοφορέων έχουν μελετηθεί εκτενώς για τη μεταφορά και την αποτελεσματική απελευθέρωση βιοδραστικών ενώσεων με διαφορετική πολικότητα, υδρόφιλων και λιπόφιλων. Οι κύριοι στόχοι σε όλες τις περιπτώσεις ήταν η αποτελεσματική μεταφορά, η ενισχυμένη διαπερατότητα στις βιολογικές μεμβράνες και η αυξημένη βιοδιαθεσιμότητα της ενθυλακωμένης βιοδραστικής ουσίας.

Οι κατηγορίες νανοφορέων που βρίσκουν εφαρμογή στον τομέα των τροφίμων αλλά και στα διατροφικά συμπληρώματα περιλαμβάνουν τις κολλοειδείς διασπορές (νανογαλακτώματα, μικρογαλακτώματα, λιποσώματα, γαλακτώματα Pickering) αλλά και νανοφορείς με βάση φυσικά - κυρίως - πολυμερή όπως τα πολυμερικά νανοσωματίδια, οι κυκλοδεξτρίνες και οι υδρογέλες. Περισσότερο υποσχόμενες σε αυτό το πεδίο φαίνεται να είναι οι κολλοειδείς διασπορές λόγω της βιοσυμβατής τους φύσης, ωστόσο πρόσφατες μελέτες αναδεικνύουν και τα πολυμερικά συστήματα που εξελίσσονται και γίνονται περισσότερο φιλικά προς το περιβάλλον ενώ παράλληλα παρουσιάζουν βιοσυμβατότητα.

Η σταθερότητα αυτών των συστημάτων επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την σύνθεσή τους και κυρίως στα επιμέρους συστατικά που κατά βάση περιλαμβάνουν υδατική φάση (νερό, υδατικά εκχυλίσματα κλπ.) και οργανική φάση (έλαια, λίπη κλπ.) που αναμιγνύονται μεταξύ τους με την βοήθεια είτε επιφανειοδραστικών ενώσεων ή πολυμερών.

Τα τελευταία χρόνια, παρατηρείται αυξανόμενο ενδιαφέρον από τη βιομηχανία τροφίμων και των διατροφικών συμπληρωμάτων στην παραγωγή νέων και βελτιωμένων σκευασμάτων κυρίως όσον αφορά τις οργανοληπτικές τους ιδιότητες, την επιμήκυνση της διάρκειας ζωής τους αλλά και την προσθήκη νέων χαρακτηριστικών όπως λειτουργικότητα, αντιμικροβιακή δράση και μειωμένη περιεκτικότητα σε λίπος. Ωστόσο, για την επίτευξη των παραπάνω, είναι απαραίτητη η ενσωμάτωση βιοδραστικών ενώσεων όπως βιταμίνες, αντιοξειδωτικά κ.α. Η εισαγωγή αυτών των βιοδραστικών ουσιών στα τρόφιμα και τα διατροφικά συμπληρώματα αποτελεί πρόκληση καθώς οι περισσότερες από αυτές εμφανίζουν χαμηλή υδατοδιαλυτότητα, είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες στην χημική ή ενζυμική αλλοίωση ή εμφανίζουν ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά (οσμή, χρώμα, γεύση). Για να ξεπεραστούν αυτά τα εμπόδια, η χρήση νανοφορέων γίνεται ολοένα και δημοφιλέστερη μεταξύ των ερευνητικών ομάδων αλλά και του βιομηχανικού κλάδου καθώς είναι κατάλληλοι τόσο για λιπόφιλες όσο και για υδρόφιλες ενώσεις [4].

Οι περισσότερες μελέτες επικεντρώνονται κυρίως στην ενθυλάκωση λιπόφιλων ενώσεων, καθώς η μειωμένη διαλυτότητα των ενώσεων αυτών στο νερό αποτελεί αποτρεπτικό παράγοντα για την χρήση τους σε τρόφιμα και διατροφικά συμπληρώματα. Πέραν της επίλυσης του προβλήματος της μειωμένης διαλυτότητας των βιοδραστικών

ενώσεων, οι νανοφορείς ξεπερνούν τους βιολογικούς φραγμούς που συναντούν κατά τη διαδρομή προς τον στόχο τους. Συγκεκριμένα, το γαστρεντερικό σύστημα αποτελείται από πολλά όργανα και ιστούς που διαθέτουν επιθήλια αλλά και μηχανισμούς άμυνας έναντι των παθογόνων. Η ύπαρξη του επιθηλίου καθιστά δυσκολότερη την απορρόφηση των λιπόφιλων συστατικών [5]. Παράλληλα, η ενθυλάκωση των βιοδραστικών συστατικών συμβάλλει στην παράταση ζωής των τροφίμων και των διατροφικών σκευασμάτων, παρέχει προστασία έναντι της χημικής και μικροβιακής τους αλλοίωσης και ταυτόχρονα συνεισφέρει στη διατήρηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους. Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας για τη διερεύνηση της χρήσης των νανοφορέων ως μέσο για τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας των βιοδραστικών συστατικών, τόσο στα τρόφιμα όσο και στα συμπληρώματα διατροφής, με στόχο τη βελτίωση της δράσης τους στον ανθρώπινο οργανισμό.

Λόγω του μικρού τους μεγέθους, οι νανοφορείς μπορούν να παρέχουν νέα χαρακτηριστικά στα υπάρχοντα τρόφιμα και διατροφικά συμπληρώματα, βελτιώνοντας τόσο το διατροφικό τους προφίλ όσο και τη σταθερότητα τους. Μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για την αντιμετώπιση της χαμηλής βιοδιαθεσιμότητας των βιοδραστικών ενώσεων είναι η χρήση νανοφορέων στην περιοχή μεγέθους 10 - 1000 nm (νανοκλίμακα). Τα συστήματα αυτά επηρεάζουν σημαντικά το προφίλ απορρόφησης των ενθυλακούμενων μορίων καθώς το μέγεθος των σωματιδίων, το σχήμα αλλά και οι ιδιότητες της μεσεπιφάνειας διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην πρόσληψη των βιοδραστικών ουσιών μέσω του γαστρεντερικού βλεννογόνου. Οι ενώσεις που ενθυλακώνονται σε νανοφορείς με μέγεθος σωματιδίων 50 - 300 nm, φαίνεται ότι είναι καλύτερα απορροφήσιμοι από το γαστρεντερικό σωλήνα σε σύγκριση με τους αντίστοιχους μεγαλύτερου μεγέθους (>300nm) [5].

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιείται στο πλαίσιο της διερεύνησης της εφαρμογής της νανοτεχνολογίας στα τρόφιμα και στα διατροφικά συμπληρώματα. Συγκεκριμένα, εστιάζει στην ανάδειξη της δυναμικής που παρουσιάζει η νανοτεχνολογία στην ενθυλάκωση βιοδραστικών ενώσεων για τη βελτίωση της απορρόφησης τους κατά την πορεία τους στο πεπτικό σύστημα αλλά και στην αύξηση της βιοδιαθεσιμότητάς τους. Στο δεύτερο κεφάλαιο της εργασίας γίνεται αναφορά στη χρήση μικρο- και νανο-γαλακτωμάτων, στις μεθόδους παρασκευής τους αλλά και στην ανασκόπηση των

εφαρμογών τους στα τρόφιμα και τα διατροφικά συμπληρώματα. Στο τρίτο κεφάλαιο, κατά αντιστοιχία, εξετάζονται οι εφαρμογές των λιποσωμάτων και στο τέταρτο κεφάλαιο μελετώνται τα πολυμερικά νανοσωματίδια που συμπεριλαμβάνουν τις κυκλοδεξτρίνες και τις υδρογέλες. Προχωρώντας στο πέμπτο κεφάλαιο παρατίθενται τα αποτελέσματα της παρούσας ανασκόπησης.

Κεφάλαιο 2. Νανοδιασπορές και η εφαρμογή τους στα τρόφιμα και τα διατροφικά συμπληρώματα

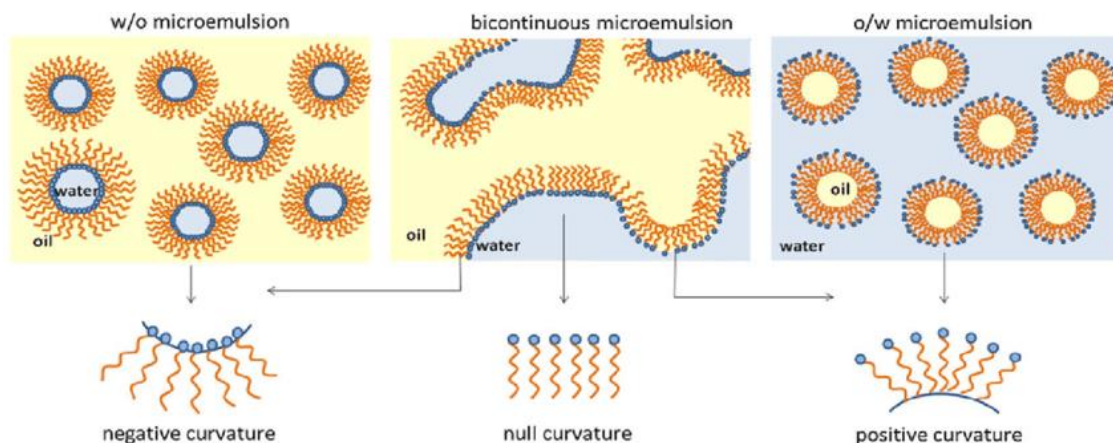
Το ενδιαφέρον για τη δημιουργία βιοσυμβατών, μη τοξικών και ασφαλών νανοφορέων για την ενθυλάκωση, προστασία και μεταφορά βιοδραστικών ενώσεων στον τομέα των τροφίμων, ολοένα και αυξάνεται. Η βιομηχανία επεκτείνεται στην παραγωγή τροφίμων και διατροφικών συμπληρωμάτων με ένα ή περισσότερα λειτουργικά συστατικά. Τα συστατικά αυτά δύνανται να βελτιώσουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων ενώ πρόσφατες μελέτες αναδεικνύουν την ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών που επιλέγονται προς όφελος της υγείας του καταναλωτή[6]. Η ενσωμάτωση τέτοιων συστατικών παρουσιάζει πληθώρα προκλήσεων για την επιστήμη και τεχνολογία των τροφίμων ιδίως όσον αφορά: α) στην προστασία των τροφίμων κατά την επεξεργασία και αποθήκευση από εξωγενείς παράγοντες (πχ. οξείδωση, χημική/ενζυμική αλλοίωση κλπ.), β) στην αποφυγή αλληλεπίδρασης με άλλα συστατικά του τροφίμου της συσκευασίας του, γ) στην ενσωμάτωση λιπόφιλων συστατικών σε υδατικό περιβάλλον και αντίστροφα.

Η ενθυλάκωση βιοδραστικών συστατικών σε συστήματα στη νανοκλίμακα περιγράφεται στη βιβλιογραφία ως νανοενθυλάκωση. Πέραν της προστασίας που παρέχει στα συστατικά αυτά, η νανοενθυλάκωση συνδέεται με την αυξημένη απορρόφησή τους από τον οργανισμό, λόγω του πολύ μικρού μεγέθους των νανοφορέων. Παράλληλα, θα πρέπει να ληφθούν υπόψη οι περιορισμοί στη χρήση συστατικών, καθώς θα πρέπει να διασφαλιστεί η βιοσυμβατότητα αλλά και η ευθυγράμμιση με την υπάρχουσα νομοθεσία [7]. Ειδικότερα, πολλά συστατικά που είναι ιδιαίτερα διαδεδομένα για την δημιουργία νανοφορέων σε τομείς που δεν αφορούν εδώδιμα προϊόντα, δεν μπορούν να υιοθετηθούν στον κλάδο των τροφίμων λόγω περιορισμών στη χρήση τους σε τρόφιμα και διατροφικά συμπληρώματα. Πιο συγκεκριμένα, τα «μαλακά» νανοϋλικά (softnanomaterials) παρασκευάζονται από οργανικές ενώσεις (όπως πρωτεΐνες, έλαια, πολυσακχαρίτες και λιπίδια) και τείνουν να είναι εύπεπτα στον ανθρώπινο γαστρεντερικό σωλήνα. Αντίθετα, συχνά τα «σκληρά» νανοϋλικά (hardnanomaterials) παρασκευάζονται από ανόργανα υλικά (όπως μέταλλα ή μεταλλικά άλατα) και τείνουν να είναι δύσπεπτα [8]. Για το λόγο αυτό η τεχνική της νανοενθυλάκωσης εστιάζει κυρίως σε υγρές νανοδιασπορές τύπου i) μικρογαλακτώματος και ii) νανογαλακτώματος, σε λιποσώματα, υδρογέλες κλπ ως «μαλακά» νανοϋλικά.

2.1 Μικρο- και νανο-γαλακτώματα

Ο όρος «μικρογαλακτώμα» περιγράφει θερμοδυναμικά σταθερές, οπτικά ισότροπες, κολλοειδείς διασπορές που σχηματίζονται αυθόρμητα με την ανάμιξη τριών τουλάχιστον συστατικών: ελαίου, επιφανειοδραστικού (ή επιφανειοενεργού) και υδατικής φάσης [9]. Αυτά τα τρία συστατικά μπορούν να σχηματίσουν μίγματα με διάφορες αναλογίες, με την εναλλαγή της σύνθεσης αλλά και διαφόρων θερμοδυναμικών παραγόντων (κυρίως της θερμοκρασίας). Με τον όρο «έλαιο» περιγράφεται κάθε υγρό αδιάλυτο στο νερό. Η χρήση των επιφανειοδραστικών ενώσεων είναι ιδιαίτερα σημαντική για τη δημιουργία μικρογαλακτωμάτων καθώς μειώνει την μεσεπιφανειακή τάση μεταξύ νερού/ελαίου και ως εκ τούτου επιτρέπει την αμοιβαία διαλυτότητα των δύο υγρών που υπό άλλες συνθήκες θα ήταν αδιάλυτα μεταξύ τους. Οι επιφανειοδραστικές ενώσεις είναι αμφίφιλα μόρια καθώς διαθέτουν τόσο υδρόφοβες όσο και υδρόφιλες ομάδες. Η υδρόφοβη ομάδα προσανατολίζεται προς το έλαιο, ενώ η υδρόφιλη ομάδα προσανατολίζεται προς την υδατική φάση. Σε πολλές περιπτώσεις, κυρίως στο πλαίσιο περαιτέρω σταθεροποίησης της νανοδιασποράς, προστίθενται στο σύστημα και συνεπιφανειοενεργές ουσίες που επικουρούν την λειτουργία των επιφανειοενεργών ενώσεων. Τέτοιες ενώσεις αποτελούν κυρίως αλκοόλες μικρής και μεσαίας ανθρακικής αλυσίδας, γλυκερόλη κ.α. [10].

Ο όρος μικρογαλακτώματα εμφανίστηκε το 1960 από τους Stoeckenius et al. ωστόσο όπως περιγράφηκε σε μεταγενέστερες μελέτες, η διάμετρος των σταγόνων είναι στο εύρος της νανοκλίμακας [11]. Τα μικρογαλακτώματα είναι συστήματα με χαμηλό ιξώδες τα οποία δύναται να διαλυτοποιήσουν ενώσεις διαφορετικής πολικότητας. Το μέγεθος των σταγονιδίων κυμαίνεται από 5 έως 50 nm. Σε αντίθεση με τα συμβατικά γαλακτώματα, τα μικρογαλακτώματα σχηματίζονται χωρίς εφαρμογή εξωτερικής ενέργειας και άρα αυθόρμητα με απλή ανάμιξη των συστατικών τους. Υπάρχουν τρεις τύποι μικρογαλακτωμάτων (βλ. Εικόνα 1): μικρογαλακτώματα ελαίου-σε-νερό (o/w), όπου η ελαιώδης φάση διασπείρεται στην υδατική φάση, μικρογαλακτώματα νερού-σε-έλαιο (w/o) όπου η υδατική φάση διασπείρεται σε ένα ή περισσότερα έλαια, και οι δισυνεχείς διασπορές [12, 13].



Εικόνα 1. Τύποι μικρογαλακτωμάτων: (α) μικρογαλακτώματα ελαίου-σε-νερό (o/w), (β) δισυνεχείς διασπορές, (γ) μικρογαλακτώματα νερού-σε-έλαιο (w/o) [14].

Ως νανογαλακτώματα χαρακτηρίζονται τα κολλοειδή συστήματα διασποράς που αποτελούνται από δύο μη αναμίξιμα υγρά, κατά κύριο λόγο έλαιο και νερό/υδατική φάση, και επιφανειοενεργές ουσίες. Το ένα υγρό βρίσκεται διεσπαρμένο σε μορφή νανοσταγονιδίων (μη συνεχής φάση) στη μάζα του άλλου υγρού (συνεχής φάση). Μακροσκοπικά, τα νανογαλακτώματα μπορεί να είναι διαυγή ή ελαφρώς θολά. Τα διεσπαρμένα σταγονίδια είναι σφαιρικού σχήματος και η διάμετρό τους κυμαίνεται μεταξύ 50 και 200 nm. Ο σχηματισμός των νανοσταγονιδίων προκύπτει από τη διάσπαση μεγαλύτερων σταγονιδίων, από ήδη σχηματισμένα γαλακτωμάτων, μέσω διαφόρων τεχνικών ομογενοποίησης οι οποίες θα αναλυθούν παρακάτω. Τα νανογαλακτώματα κατηγοριοποιούνται και αυτά σε νανογαλακτώματα νερού-σε-έλαιο (W/O) ή νανογαλακτώματα ελαίου-σε-νερό (O/W) όπως τα μικρογαλακτώματα. Σε αντίθεση όμως με τα μικρογαλακτώματα, τα οποία παρουσιάζουν θερμοδυναμική σταθερότητα, τα νανογαλακτώματα είναι κινητικά σταθερά γεγονός που τα καθιστά ανθεκτικά σε αλλαγές θερμοδυναμικών παραγόντων όπως η θερμοκρασία και η πίεση [15]. Η επιστημονική κοινότητα πριν αρκετά χρόνια είχε υιοθετήσει τον όρο μικρογαλακτώματα, γενικά για τα γαλακτώματα που τα σταγονίδιά τους βρίσκονται στην υπομικρομετρική κλίμακα. Για ιστορικούς λόγους και εφόσον τα μικρογαλακτώματα μελετήθηκαν νωρίτερα χρονικά σε σχέση με τα νανογαλακτώματα, έχουν επικρατήσει αυτοί οι ορισμοί, παρόλο που στα νανογαλακτώματα η μέση διάμετρος των νανοσταγόνων είναι μεγαλύτερη από την μέση διάμετρο των νανοσταγόνων των μικρογαλακτωμάτων.

Τα νανογαλακτώματα βρίσκουν παρόμοια εφαρμογή με τα μικρογαλακτώματα σε πολλούς τομείς όπως η βιομηχανία τροφίμων, η φαρμακοβιομηχανία, η κοσμητολογία κ.α.[16, 17]. Παρόλα αυτά εμφανίζουν πολλές και σημαντικές διαφορές. Αρχικά, λόγω της μικρότερης περιεκτικότητάς τους σε επιφανειοενεργές ουσίες σε σχέση με τα μικρογαλακτώματα, τα νανογαλακτώματα

εμφανίζουν πλεονεκτήματα κατά την εφαρμογή σε τομείς που οι επιφανειενεργές ουσίες υπόκεινται σε νομοθετικό περιορισμό. Επιπλέον, διαφέρει ο τρόπος παρασκευής τους καθώς τα μικρογαλακτώματα παρασκευάζονται αυθόρμητα με απλή ανάδευση των συστατικών τους, ενώ τα νανογαλακτώματα παρασκευάζονται με εφαρμογή εξωτερικής ενέργειας μέσω μεθόδων ομογενοποίησης που θα αναλυθούν σε επόμενη παράγραφο. Παράλληλα, τα μικρογαλακτώματα εμφανίζουν θερμοδυναμική σταθερότητα ενώ τα μικρογαλακτώματα κινητική σταθερότητα, γεγονός που τα καθιστά πιο ανθεκτικά στην αλλαγή παραμέτρων όπως η θερμοκρασία σε σχέση με τα μικρογαλακτώματα, λιγότερο ανθεκτικά όμως στην πάροδο του χρόνου. Τέλος, το μέγεθος των νανοσταγόνων στα νανογαλακτώματα είναι μεγαλύτερο σε σχέση με τα μικρογαλακτώματα, ενώ μακροσκοπικά είναι ελαφρώς θολερά σε σχέση με τα μικρογαλακτώματα που είναι διαυγή. Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται οι διαφορές μικρογαλακτωμάτων, νανογαλακτωμάτων και συμβατικών γαλακτωμάτων [15].

Πίνακας 1. Διαφορές μικρογαλακτωμάτων, νανογαλακτωμάτων και συμβατικών γαλακτωμάτων [15].

Ιδιότητα	Μικρογαλάκτωμα	Νανογαλάκτωμα	Γαλάκτωμα
Μέγεθος Νανοσταγόνων	<50 nm	50-200nm	>200nm
Τρόπος παρασκευής	Αυθόρμητος σχηματισμός με απλή ανάμιξη συστατικών	Μέθοδοι ομογενοποίησης με εφαρμογή εξωτερικής ενέργειας (υψηλής/χαμηλής πίεσης, υπέρηχοι κ.α.)	Μέθοδοι ομογενοποίησης με εφαρμογή εξωτερικής ενέργειας (υψηλής/χαμηλής πίεσης, υπέρηχοι κ.α.)
Σταθερότητα	Θερμοδυναμική	Κινητική	Κινητική
Ποσοστό επιφανειενεργών ουσιών	>5-10% κβ*	< 5-10% κβ*	< 5-10% κβ*
Σύσταση	Ελαιώδης φάση, Υδατική φάση, Επιφανειενεργές ουσίες	Ελαιώδης φάση, Υδατική φάση, Επιφανειενεργές ουσίες	Ελαιώδης φάση, Υδατική φάση, Επιφανειενεργές ουσίες

Όψη	Διαυγές	Ελαφρώς θολερό ή γαλακτώδες	Γαλακτώδες
-----	---------	-----------------------------	------------

*Όπως συνήθως αναφέρεται βιβλιογραφικά, είναι κυμαινόμενο και μεταβάλλεται κατά περίπτωση.

2.2 Συστατικά μικρο- και νανο- γαλακτωμάτων

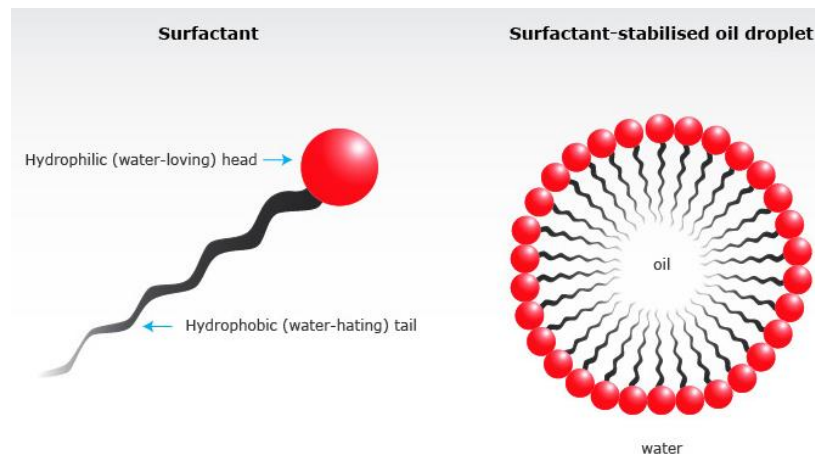
Τα έλαια που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή μικρο και νανο- γαλακτωμάτων, που προορίζονται για τη βιομηχανία τροφίμων, είναι εδώδιμα φυτικά έλαια όπως το εξαιρετικό παρθένο αλλά και εξευγενισμένο ελαιόλαδο, το ηλιέλαιο, το σογιέλαιο, τα τριγλυκερίδια μέσου μήκους ανθρακικής αλυσίδας (Miglyol 818, Miglyol 812, Miglyol 810), οι εστέρες λιπαρών οξέων (μυριστικοί και παλμιτικοί ισοπροπυλεστέρες) και διάφορα αιθέρια έλαια (από λεμόνι, θυμάρι, ρίγανη κ.λπ.). Πέραν της ελαιώδους φάσης, τα μικρο- και νανο- γαλακτώματα περιέχουν και επιφανειοδραστικές ουσίες, οι οποίες είναι αμφίφιλα μόρια, καθώς παρουσιάζουν δύο περιοχές με διαφορετική πολικότητα. Το μόριο αποτελείται από μια πολική κεφαλή, η οποία είναι υδρόφιλη και προσανατολίζεται προς την υδατική φάση του μικρο- ή νανο-γαλακτώματος, και μια μη πολική ουρά, η οποία είναι υδρόφοβη και προσανατολίζεται προς την ελαιώδη φάση του μικρο- ή νανο-γαλακτώματος (Εικόνα 2). Η παρουσία επιφανειοδραστικών ουσιών αυξάνει τη μεσεπιφανειακή τάση μεταξύ των δύο μη αναμίξιμων υγρών (ελαίου και νερού), με αποτέλεσμα τη διασπορά της υδατικής στην ελαιώδη φάση και αντίστροφα. Ωστόσο, η προσθήκη επιφανειοδραστικών ουσιών δεν αρκεί πάντα για τη μείωση της διεπιφανειακής τάσης για τον σχηματισμό μικρο- και νανο-γαλακτωμάτων, γι' αυτό χρησιμοποιούνται συχνά και συνεπιφανειοδραστικές ουσίες.

Οι επιφανειοδραστικές ουσίες κατηγοριοποιούνται ανάλογα με την παρουσία και το είδος του φορτίου στην πολική κεφαλή του μορίου: α) η πολική κεφαλή δεν διαθέτει φορτίο (μη ιοντικά επιφανειοδραστικά) και β) η πολική κεφαλή διαθέτει φορτίο (ιοντικά επιφανειοδραστικά). Η δεύτερη κατηγορία αποτελείται από τρεις διαφορετικές υποκατηγορίες [18]:

- ανιοντικά επιφανειοδραστικά (ανιοντικά): η πολική κεφαλή είναι αρνητικά φορτισμένη.
- κατιοντικά επιφανειοδραστικά (κατιοντικά): η πολική κεφαλή είναι θετικά φορτισμένη.
- αμφοτερικά επιφανειοδραστικά (ζβιττεριοντικά): η πολική κεφαλή περιέχει και θετικά και αρνητικά φορτία.

Ως συνεπιφανειοδραστική χαρακτηρίζεται μια χημική ένωση η οποία προστίθεται σε ένα μικρο- ή νανο- γαλάκτωμα με σκοπό να βελτιώσει την αποτελεσματικότητα του επιφανειοδραστικού. Τα μόρια αυτά κατανέμονται μεταξύ της συνεχούς φάσης και της μεσεπιφάνειας προκαλώντας

αύξηση της καμπυλότητας της μονοστιβάδας των επιφανειοδραστικών και επομένως σταθεροποίηση του συστήματος [19]. Παραδείγματα συνεπιφανειοδραστικών ενώσεων είναι οι αλκοόλες ή οι αμίνες μικρού μήκους ανθρακικής αλυσίδας. Επίσης για τη σταθεροποίηση των μικρογαλακτωμάτων χρησιμοποιείται συχνά, η γλυκερόλη και η προπυλενογλυκόλη.



Εικόνα 2. Σχηματική απεικόνιση επιφανειενεργού μορίου (αριστερά) και μικκυλίου (δεξιά) [18].

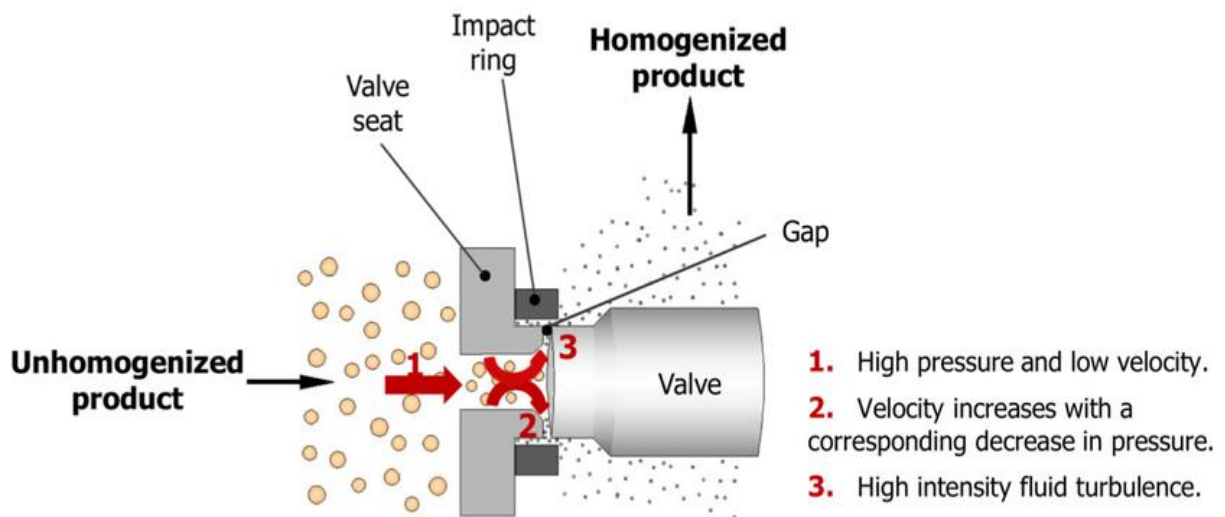
2.3 Νανοενθυλάκωση και τρόποι παρασκευής μικρο- και νανο-γαλακτωμάτων

Η νανοενθυλάκωση είναι μια διαδικασία κατά την οποία βιοδραστικές ενώσεις, όπως φάρμακα, ένζυμα, βιταμίνες, αντιοξειδωτικά κ.α., περικλείονται μέσα σε ένα «κέλυφος». Η νανοενθυλάκωση μπορεί να επιτευχθεί μέσω του σχηματισμού μικρογαλακτωμάτων και νανογαλακτωμάτων, καθώς αποτελούν δομές που παρέχουν μεγάλη επιφάνεια για την ενθυλάκωση των βιοδραστικών ενώσεων. Τα μόρια των επιφανειενεργών ουσιών που σταθεροποιούν τις νανοσταγόνες σχηματίζουν μια προστατευτική επικάλυψη γύρω από τη βιοδραστική ουσία, εμποδίζοντας την αλλοίωση ή αλληλεπίδρασή της με άλλες χημικές ενώσεις ή ένζυμα στο μικροπεριβάλλον της. Η νανοενθυλάκωση βρίσκει εφαρμογή στην κατανομή φαρμακευτικών / βιοδραστικών ουσιών στο σώμα, στα τρόφιμα, στα καλλυντικά αλλά και σε πολλούς άλλους τομείς. Με την ενθυλάκωση φαρμάκων ή άλλων βιοδραστικών συστατικών είναι δυνατό να βελτιωθεί η διαλυτότητα, η σταθερότητα και η βιοδιαθεσιμότητά τους, ενώ παράλληλα δίνεται η δυνατότητα στόχευσης σε συγκεκριμένους ιστούς ή όργανα στο σώμα, υπό κατάλληλες συνθήκες [20].

Αναφορικά με την παρασκευή των μικρογαλακτωμάτων, αρκεί η απλή ανάμιξη των επιμέρους συστατικών (έλαιο, υδατική φάση, επιφανειενεργό), όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Λόγω της θερμοδυναμικής τους σταθερότητας, τα μικρογαλακτώματα σχηματίζονται αυθόρμητα

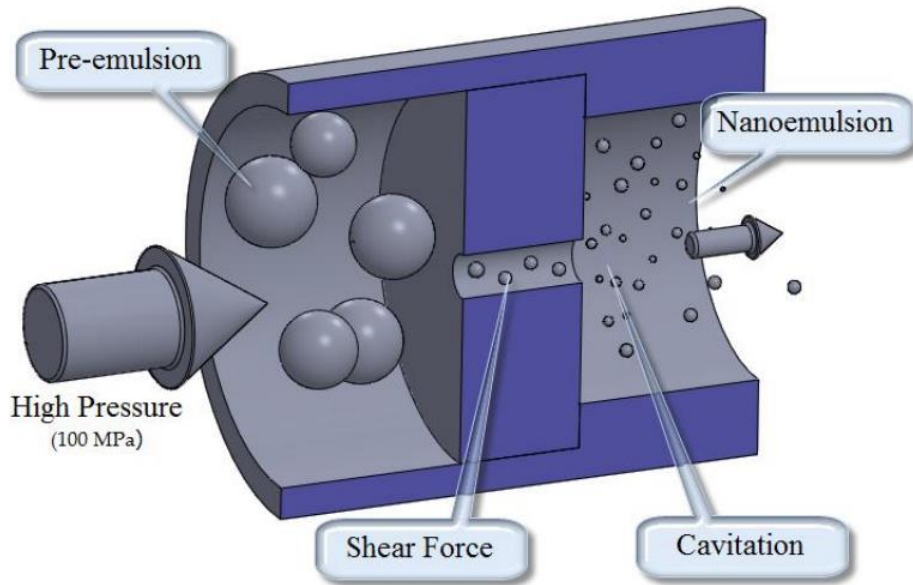
χωρίς να είναι απαραίτητη η εφαρμογή εξωτερικής ενέργειας, σε αντίθεση με τα νανογαλακτώματα. Τα νανογαλακτώματα μπορούν να σχηματιστούν εφαρμόζοντας διάφορες προσεγγίσεις με πιο διαδεδομένες την ομογενοποίηση υψηλής ενέργειας και την ομογενοποίηση χαμηλής ενέργειας [21]. Οι προσεγγίσεις υψηλής ενέργειας χρησιμοποιούν μηχανικές συσκευές («homogenizers») ικανές να παράγουν έντονες δυνάμεις διάσπασης που είναι ικανές να διαταράσσουν και να αναμιγνύουν τις φάσεις του ελαίου και του υδατικού σε μικροσκοπικά σταγονίδια λαδιού, π.χ. ομογενοποιητές βαλβίδων υψηλής πίεσης, μικρορευστοποιητές και μεθόδους υπερήχων. Αντίστοιχα, στις προσεγγίσεις ομογενοποίησης χαμηλής ενέργειας ανήκουν η τεχνική αναστροφής φάσης (PIT), η αυτο-γαλακτωματοποίηση (self-emulsification) και η μέθοδος αναστροφής σημείου (EIP). Παρακάτω περιγράφονται αναλυτικά όλες αυτές οι τεχνικές.

Διάφορες φυσικοχημικές ιδιότητες, όπως το μέγεθος των νανοσταγόνων, η κατανομή μεγεθών, το σχήμα, η διαλυτότητα της βιοδραστικής ουσίας που ενθυλακώνεται, η απόδοση της ενθυλάκωσης αλλά και οι μηχανισμοί απελευθέρωσης της ένωσης διαφοροποιούνται από τις τεχνικές νανοενθυλάκωσης. Στη βιβλιογραφία, έχουν περιγραφεί διάφορες τεχνικές νανοενθυλάκωσης, όπως η ομογενοποίηση υψηλής/χαμηλής ενέργειας (emulsification), η συσσωμάτωση (coacervation), η καθίζηση (nanoprecipitation), η συμπλοκοποίηση εγκλεισμού (inclusion complexation), η γαλακτωματοποίηση με εξάτμιση του διαλύτη (emulsification-solvent evaporation) και η τεχνική υπερκρίσιμου ρευστού (supercritical fluid). Παράλληλα, τεχνικές όπως η ξήρανση μετά από ψεκασμό (spraydrying) και η ξήρανση σε χαμηλές θερμοκρασίες (freeze-drying), έχουν επίσης μελετηθεί. Ο σχηματισμός νανογαλακτωμάτων με ομογενοποίηση υψηλής ενέργειας μπορεί να επιτευχθεί, χρησιμοποιώντας διαφορετικές τεχνικές όπως για παράδειγμα με αναδευτήρα υψηλής διάτμησης, με ομογενοποιητή υψηλής πίεσης ή με υπερήχους (Εικόνα 3). Βιβλιογραφικά, πολλές μελέτες έχουν συσχετίσει το μέγεθος των νανοσταγόνων με το είδος της επιφανειοενεργής ουσίας, την ισχύ της εφαρμοζόμενης πίεσης/ανάδευσης ή του υπερήχου, τον αριθμό των κύκλων (σε περίπτωση ομογενοποίησης υψηλής πίεσης) ή τον χρόνο γαλακτωματοποίησης [22, 23]. Κατά γενικό κανόνα και όπως φαίνεται στις περισσότερες μελέτες, το μέγεθος των νανοσταγόνων εξαρτάται άμεσα από τη διάρκεια της ομογενοποίησης καθώς όσο περισσότερο διαρκεί, τόσο μικρότερες νανοσταγόνες σχηματίζονται. Παράλληλα, μελέτες αναφέρουν ότι το μέγεθος των νανοσταγόνων εξαρτάται επίσης από την ισχύ που εφαρμόζεται κατά τη διαδικασία ομογενοποίησης [24].



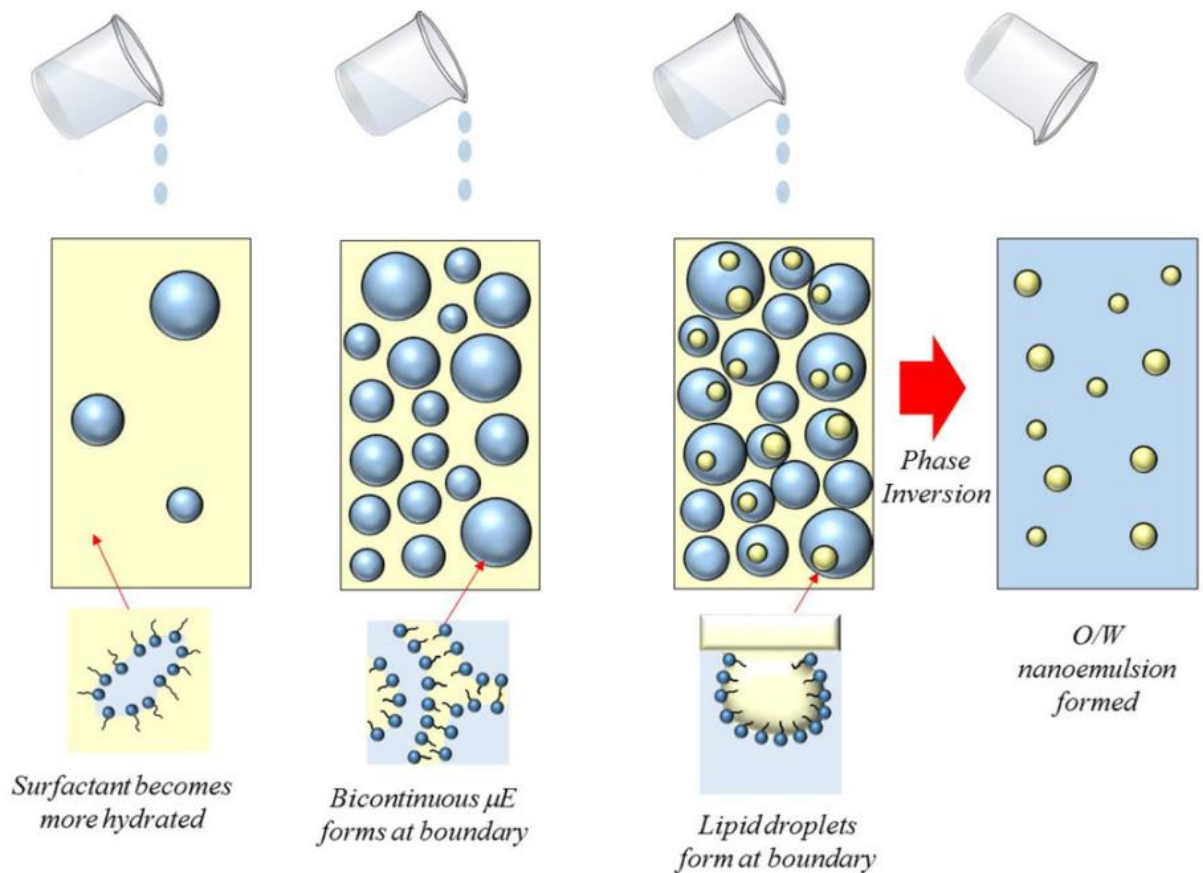
Εικόνα 3. Σχηματισμός νανογαλακτωμάτων με την εφαρμογή μεθόδου ομογενοποίησης υψηλής ενέργειας [25].

Οι αρχές της ομογενοποίησης υψηλής πίεσης βασίζονται στην υψηλή πίεση που ασκείται στο σύστημα των δύο μη αναμίξιμων υγρών παρουσία επιφανειοενεργών, μέσω μιας βαλβίδας, μειώνοντας τη διάμετρο των νανοσταγόνων. Αρχικά, τα συστατικά αναμιγνύονται ενώ αναδεύονται για να σχηματιστεί ένα συμβατικό γαλάκτωμα. Καθώς το γαλάκτωμα εισέρχεται στη βαλβίδα με χαμηλή ταχύτητα, αρχίζει η σταδιακή αύξηση της πίεσης. Στη συνέχεια, το γαλάκτωμα ρέει με μεγαλύτερη ταχύτητα και λόγω της υψηλής πίεσης που εφαρμόζεται, μειώνεται το μέγεθος των νανοσταγόνων. Ομοίως, ο αναδευτήρας διάτμησης παρέχει ισοδύναμο μέγεθος πίεσης που παράγεται επίσης από μια αντλία. Το μέγεθος των σταγονιδίων μειώνεται λόγω της υψηλής ταχύτητας ανάδευσης που προκαλείται από τη σύγκρουση των δύο ρευμάτων που στη συνέχεια ανακατευθύνονται σε έναν θάλαμο. Σε αυτόν τον θάλαμο, τα δύο ρεύματα του γαλακτώματος συγκρούονται και ενώνονται μεταξύ τους, με αποτέλεσμα τη μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων λόγω της υψηλής διάτμησης που προκαλείται από αυτή τη σύγκρουση [26]. Η ομογενοποίηση με υπερήχους είναι μια τεχνική που παράγει υψηλές δυνάμεις διάτμησης που δημιουργούνται από υπερήχους υψηλής ισχύος. Αρχικά, τα συστατικά αναμιγνύονται για να σχηματιστεί ένα συμβατικό γαλάκτωμα. Στη συνέχεια, το ακουστικό κύμα (υπέρηχος) επιτρέπει στα σταγονίδια της ασυνεχούς φάσης να διασκορπιστούν ομοιογενώς στη συνεχή φάση [27].



Εικόνα 4. Σχηματική απεικόνιση ομογενοποίησης νανογαλακτώματος με χρήση υπερήχων [28].

Οι μέθοδοι ομογενοποίησης χαμηλής ενέργειας περιλαμβάνουν τεχνική αναστροφής φάσης (PIT), την αυτο-γαλακτωματοποίηση (self-emulsification) και την μέθοδο αναστροφής σημείου (EIP). Οι αλλαγές σε παραμέτρους όπως η θερμοκρασία, η τιμή του pH και η παρουσία ιόντων κατά την ανάδευση, μπορεί να οδηγήσουν στη μετατροπή ενός γαλακτώματος ελαίου-σε-νερό σε γαλάκτωμα νερού-σε-έλαιο και αντίστροφα, καθώς αυτές οι παράμετροι μεταβάλλουν την αυθόρμητη καμπυλότητα της επιφανειοδραστικής ουσίας. Η αυτογαλακτωματοποίηση αποτελεί μια εναλλακτική μέθοδο, καθώς κατά την αραιώση ενός μικρογαλακτώματος με τη συνεχή φάση υπό σταθερή θερμοκρασία, είναι δυνατόν να σχηματιστεί ένα νανογαλάκτωμα [29, 30]. Η μέθοδος αναστροφής σημείου (EIP) περιγράφει τον σχηματισμό νανογαλακτωμάτων, με βάση τον αυθόρμητο θερμοδυναμικά σχηματισμό νανοσταγονιδίων ως αποτέλεσμα της αλλαγής της σύνθεσης σε ένα μείγμα ελαίου, νερού και επιφανειοδραστικού [31]. Οι μέθοδοι χαμηλής ενέργειας έχουν πλεονεκτήματα σε σύγκριση με τις αντίστοιχες υψηλής ενέργειας καθώς έχουν χαμηλότερο κόστος όσον αφορά τον εξοπλισμό και τη μη αναγκαία εφαρμογή εξωτερικής ενέργειας. Αντίθετα, η χρήση τους παρουσιάζει περιορισμούς, όπως η εύρεση του κατάλληλου συνδυασμού ελαίων και επιφανειοδραστικών ουσιών, αλλά και η βέλτιστη αναλογία τους για το σχηματισμό σταθερών νανογαλακτωμάτων.



Εικόνα 5. Σχηματικό διάγραμμα του προτεινόμενου μηχανισμού σχηματισμού νανογαλακτωμάτων με τη μέθοδο αναστροφής φάσης. Το νερό προστίθεται σε μείγμα επιφανειοδραστικής ουσίας-ελαίου με συνεχή ανάδευση [30].

2.4 Εφαρμογές μικρο- και νανο-γαλακτωμάτων στα τρόφιμα και στα διατροφικά συμπληρώματα

Σε αυτήν την ενότητα πραγματοποιείται βιβλιογραφική ανασκόπηση αναφορικά με τη χρήση τόσο των μικρογαλακτωμάτων όσο και των νανογαλακτωμάτων ως φορείς βιοδραστικών ενώσεων στα τρόφιμα και τα διατροφικά συμπληρώματα. Η ενδεικτική ανασκόπηση που παρουσιάζεται πραγματοποιήθηκε σε μελέτες που δημοσιεύθηκαν την τελευταία πενταετία, με σκοπό την παρουσίαση των πιο πρόσφατων επιστημονικών δεδομένων και εφαρμογών, αλλά και την ανάδειξη των μικρο- και νανο-γαλακτωμάτων ως φορείς βιοδραστικών ενώσεων με οφέλη στην υγεία του ανθρώπου.

Τόσο τα νανο- όσο και τα μικρο-γαλακτώματα βρίσκουν συχνή εφαρμογή ως συστατικά τροφίμων και συμπληρωμάτων διατροφής. Πολλά θρεπτικά συστατικά όπως βιταμίνες και αντιοξειδωτικά, δεν είναι εύκολο να προστεθούν στα τρόφιμα ή τα συμπληρώματα διατροφής λόγω της χαμηλής τους διαλυτότητας στο νερό ή της ευαισθησίας τους στην οξείδωση ή την

αλληλεπίδραση με άλλες ουσίες. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, με την τεχνική της νανοενθυλάκωσης είναι δυνατή η ενσωμάτωση τέτοιων βιοδραστικών ενώσεων σε μικρογαλακτώματα. Την τελευταία πενταετία η χρήση των μικρο- και νανο-γαλακτωμάτων βρίσκει ολοένα και μεγαλύτερη εφαρμογή, παρά τους περιορισμούς που διέπουν τη χρήση των επιφανειοενεργών ενώσεων. Ο σχηματισμός μικρο- και νανο-γαλακτωμάτων με όσο το δυνατόν χαμηλότερη περιεκτικότητα σε επιφανειοενεργά αποτελεί μεγάλη πρόκληση. Ενδεικτικά, σε μελέτη των Yeetal., σχηματίστηκε μικρογαλάκτωμα χωρίς συνεπιφανειοενεργά και με χαμηλή περιεκτικότητα σε επιφανειοενεργές ουσίες για την ασφαλή και αποτελεσματική ενθυλάκωση αλινολενικού οξέος (ALA) και βιταμίνης E. Το μικρογαλάκτωμα περιείχε 8,6% ALA και 1,14% βιταμίνη E, ενθυλακωμένα σε σταγόνες με διάμετρο 25nm. Το μικρογαλάκτωμα παρουσίασε σταθερότητα σε υψηλή θερμοκρασία, ιοντική ισχύ και pH, ενώ παράλληλα παρουσίασε και καλή αντιοξειδωτική σταθερότητα, υποδεικνύοντας ότι ένα μικρογαλάκτωμα με χαμηλή περιεκτικότητα σε επιφανειοδραστικά είναι πολλά υποσχόμενο για χρήση στον τομέα των τροφίμων [32].

Παράλληλα, οι φαινολικές ενώσεις παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στις βιομηχανίες τροφίμων, φαρμάκων και διατροφικών προϊόντων λόγω των μοναδικών ιδιοτήτων τους και των οφελών τους στην υγεία. Ωστόσο, η εκτεταμένη χρήση τους περιορίζεται κυρίως λόγω της χαμηλής διαλυτότητάς τους στο νερό και λόγω της αστάθειάς τους σε συνθήκες επεξεργασίας αλλά και σε γαστρεντερικές αλληλεπιδράσεις. Όλα τα παραπάνω, επηρεάζουν τη βιοδιαθεσιμότητά τους σε μεγάλο βαθμό και σε αυτό το σημείο αξίζει να αναφερθεί ότι πληθώρα ερευνητών έχουν ασχοληθεί με την ενθυλάκωση φαινολικών ενώσεων σε μικρο- και νανο-γαλακτώματα [33]. Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει και η βιταμίνη D ως βιοδραστικό συστατικό καθώς είναι ιδιαίτερα λιπόφιλη ένωση και μπορεί να οξειδωθεί εύκολα κατά την επεξεργασία ή την αποθήκευση του τροφίμου ή του διατροφικού συμπληρώματος. Ενδεικτικά, παρασκευάστηκε ο/w μικρογαλάκτωμα με ενθυλάκωση χοληκαλσιφερόλης (βιταμίνης D3) και πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση του φαρμακοκινητικού της προφίλ σε σκύλους ράτσας beagle. Το αποτέλεσμα της αξιολόγησης έδωσε δεδομένα για την δυνητική χρήση του μικρογαλακτώματος ως σύστημα για την παροχή συμπληρωμάτων χοληκαλσιφερόλης σε άτομα με δυσφαγία [34]. Παράλληλα, έχει επιτευχθεί η ανάπτυξη νανογαλακτωμάτων με ενθυλακωμένη βιταμίνη D τα οποία δυνητικά μπορούν να ενσωματωθούν σε τρόφιμα [35, 36].

Τα ω-3 λιπαρά οξέα και η εισαγωγή τους κυρίως σε γαλακτοκομικά προϊόντα όπως το τυρί, το γάλα, το βούτυρο, το παγωτό κ.λπ.. αποτελούν θέματα που απασχολούν επίσης τους ερευνητές αλλά και τη βιομηχανία τροφίμων [37]. Ειδικότερα, εξετάζεται η ενθυλάκωση των ω-3 λιπαρών

οξέων σε μικρο- και νάνο-γαλακτώματα για την παραγωγή υγιεινών γιαουρτιών και ροφημάτων γιαουρτιού. Τα αποτελέσματα των κλινικών μελετών ήταν ενδιαφέροντα καθώς οι καινοτόμες συνθέσεις γιαουρτιού όχι μόνο εμφάνισαν αξιόλογες φυσικοχημικές, ρεολογικές, μικροβιακές και οργανοληπτικές ιδιότητες αλλά και πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα για τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας των ω-3 λιπαρών οξέων σε υγιείς ενήλικες [38].

Μια ιδιαίτερη κατηγορία βιοδραστικών ενώσεων που παρουσιάζει ενδιαφέρον για νανοενθυλάκωση αποτελούν τα αντιοξειδωτικά. Τόσο στα τρόφιμα, όσο και στα συμπληρώματα διατροφής, αντιοξειδωτικά όπως κουρκουμίνη, γαλλικό οξύ, κερσετίνη, υδροξυτυροσόλη κ.α. εμφανίζουν ιδιαίτερες προκλήσεις, καθώς πέραν των θεμάτων διαλυτότητας στο νερό, είναι ενώσεις ιδιαίτερα ευαίσθητες στην οξείδωση από το φως αλλά και από την αλληλεπίδρασή τους με άλλες χημικές ενώσεις. Παραδείγματος χάριν, η ενθυλάκωση κουρκουμινολιδίων σε μικρογαλακτώματα έχει αναφερθεί ως μια αποτελεσματική μέθοδος για την αύξηση της σταθερότητας των ευαίσθητων αυτών ενώσεων, όπως αποδεικνύεται από δεδομένα φασματοσκοπίας UV-Vis και φθορισμού [39]. Οι Liu et al. παρασκεύασαν ένα μικρογαλάκτωμα O/W για την ενθυλάκωση κουρκουμίνης σε υψηλή συγκέντρωση έως και 17,54 mg/mL, γεγονός που οδήγησε και σε αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης [40]. Οι Smuleketal., παρασκεύασαν νανογαλακτώματα με βάση το έλαιο σπόρων κάνναβης και με εκχύλισμα του καρπού *Sarindusmukorossi* ως φυσικό επιφανειοδραστικό με σκοπό την ενθυλάκωση σιδήρου και βιταμίνης D. Στόχος της συγκεκριμένης μελέτης ήταν η δημιουργία ενός νέου συμπληρώματος σε υγρή μορφή, για την ενίσχυμένη απορρόφηση σιδήρου και βιταμίνης D [41].

Κεφάλαιο 3. Χρήση των λιποσωμάτων στα τρόφιμα και στα διατροφικά συμπληρώματα

Τα λιποσώματα είναι κατηγορία νανοφορέων που αποτελούνται από μια διπλοστοιβάδα φωσφολιπιδίων που περικλείει έναν υδατικό πυρήνα. Στην πλειοψηφία τους είναι βιοσυμβατά, βιοαποικοδομήσιμα και έχουν την ικανότητα να ενθυλακώνουν τόσο υδρόφιλες όσο και λιπόφιλες ενώσεις. Ειδικότερα, στον υδατικό πυρήνα είναι δυνατό να ενθυλακωθούν υδρόφιλες ενώσεις και μέσα στη διπλοστοιβάδα φωσφολιπιδίων είναι δυνατό να ενθυλακωθούν λιπόφιλες ενώσεις (Εικόνα 4). Τα λιποσώματα έχουν αναδειχθεί ως πολλά υποσχόμενα συστήματα μεταφοράς για διάφορες βιοδραστικές ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων ενώσεων φαρμακολογικού ενδιαφέροντος, θρεπτικών ουσιών και αντιοξειδωτικών [42]. Η χρήση λιποσωμάτων στη βιομηχανία τροφίμων έχει αποκτήσει σημαντικό ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια λόγω της ικανότητάς τους να προστατεύουν τις ευαίσθητες βιοδραστικές ενώσεις από ενζυμική και χημική αλλοίωση. Το παρόν κεφάλαιο στοχεύει να αναδείξει τις σύγχρονες εφαρμογές των λιποσωμάτων στα τρόφιμα και τα συμπληρώματα διατροφής καθώς και τα πιθανά οφέλη τους.

Τα λιποσώματα παρουσιάζουν πολλά πλεονεκτήματα σε σχέση με άλλα συστήματα μεταφοράς βιοδραστικών ενώσεων, όπως ενισχυμένη βιοδιαθεσιμότητα, στοχευμένη μεταφορά και αποδέσμευση καθώς και βελτιωμένη σταθερότητα των ενθυλακωμένων ενώσεων [43]. Στη βιομηχανία τροφίμων, τα λιποσώματα έχουν χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας και της σταθερότητας των βιταμινών, των αντιοξειδωτικών και άλλων βιοδραστικών ενώσεων. Για παράδειγμα, μελέτες έχουν δείξει ότι η βιταμίνη C που έχει ενθυλακωθεί σε λιποσώματα εμφανίζει υψηλότερη βιοδιαθεσιμότητα σε σύγκριση με τις συμβατικές μορφές βιταμίνης C, όπως το ασκορβικό οξύ [44]. Ομοίως, η ενθυλακωμένη κουρκουμίνη έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζει βελτιωμένη σταθερότητα και βιοδιαθεσιμότητα σε σύγκριση με την ελεύθερη μορφή της [45]. Η εφαρμογή των λιποσωμάτων στη βιομηχανία τροφίμων δεν περιορίζεται στην ενθυλάκωση βιταμινών και αντιοξειδωτικών. Τα λιποσώματα έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για την ενθυλάκωση βιοδραστικών πεπτιδίων, προβιοτικών και ωμέγα-3 λιπαρών οξέων σε συμπληρώματα διατροφής. Για παράδειγμα, έχει αποδειχθεί ότι τα ενθυλακωμένα προβιοτικά εμφανίζουν βελτιωμένη σταθερότητα σε σύγκριση με τα παραδοσιακά προβιοτικά σκευάσματα [46]. Ομοίως, τα λιποσωμικά ωμέγα-3 λιπαρά οξέα έχει αποδειχθεί ότι παρουσιάζουν μικρότερο βαθμό οξειδωσης σε σύγκριση με τα ελεύθερα ωμέγα-3 λιπαρά οξέα [47].

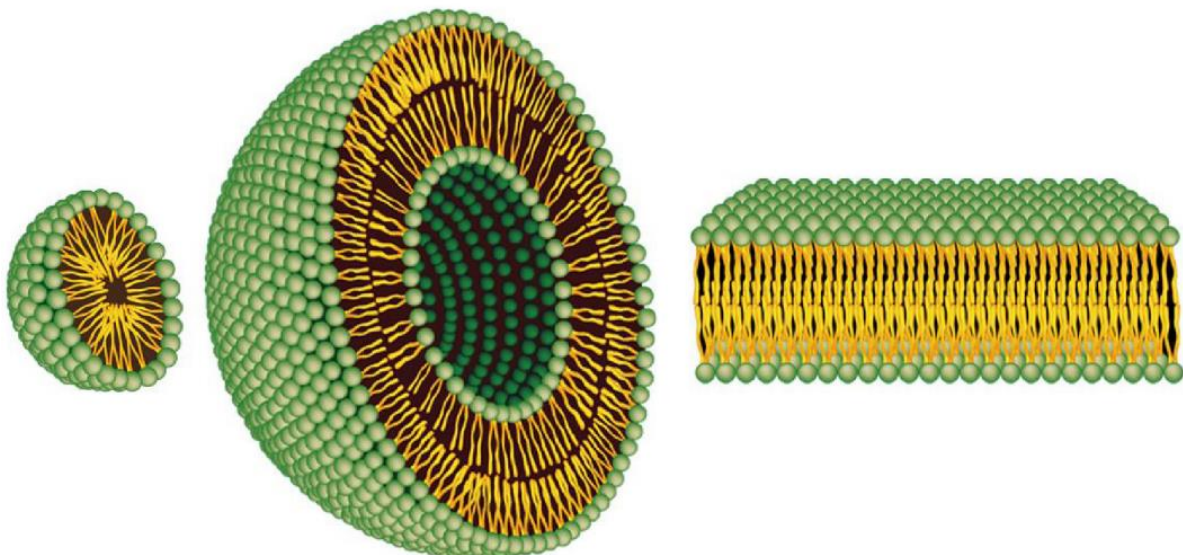
Τα λιποσώματα μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για τη βελτίωση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων των λειτουργικών τροφίμων. Για παράδειγμα, ενώσεις για βελτίωση του αρώματος ή της γεύσης μπορούν να ενθυλακωθούν σε λιποσώματα και να προστεθούν σε συμπληρώματα διατροφής για να βελτιώσουν τη γεύση και το άρωμά τους. Η χρήση λιποσωμάτων για την ενθυλάκωση τέτοιων ενώσεων είναι δυνατό να μειώσει την απαιτούμενη ποσότητα αρώματος, οδηγώντας σε μείωση της συνολικής περιεκτικότητας σε θερμίδες των συμπληρωμάτων διατροφής [48]. Παράλληλα, μία από τις μεγαλύτερες προκλήσεις στην ανάπτυξη λιποσωμικών συμπληρωμάτων διατροφής είναι η επιλογή των κατάλληλων λιπιδίων αλλά και τεχνικών ενθυλάκωσης. Οι παράμετροι αυτές σε συνδυασμό με το μέγεθος των λιποσωμάτων και την ύπαρξη ή μη φορτίου στην επιφάνειά τους, μπορεί να επηρεάσουν σημαντικά τη σταθερότητα και τη βιοδιαθεσιμότητα των ενθυλακωμένων ενώσεων. Για παράδειγμα, η χρήση χοληστερόλης στη λιπιδική διπλοστιβάδα μπορεί να βελτιώσει τη σταθερότητα των λιποσωμάτων, ενώ η χρήση πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG) στην επιφάνεια των λιποσωμάτων μπορεί να παρατείνει το χρόνο παραμονής και κυκλοφορίας τους στο σώμα [49, 50].

Παρά τα πιθανά οφέλη της χρήσης των λιποσωμάτων σε τρόφιμα και συμπληρώματα διατροφής, είναι αναγκαίο να αντιμετωπιστούν αρκετοί περιορισμοί που προκύπτουν πριν από την ευρεία χρήση τους. Μία από τις μεγαλύτερες προκλήσεις είναι το υψηλό κόστος της ανάπτυξης της λιποσωματικής τεχνολογίας. Η παραγωγή λιποσωμάτων απαιτεί εξειδικευμένο εξοπλισμό και υλικά, τα οποία μπορούν να αυξήσουν σημαντικά το κόστος των τελικών προϊόντων. Επιπλέον, η σταθερότητα των λιποσωμικών συμπληρωμάτων διατροφής μπορεί να επηρεαστεί από διάφορους παράγοντες, όπως η θερμοκρασία, το pH και η μηχανική καταπόνηση, συνεπώς απαιτείται χρόνος και ανθρώπινο δυναμικό για την βελτιστοποίηση των συνθηκών παραγωγής και αποθήκευσης των σκευασμάτων.

3.1 Σύσταση λιποσωμάτων

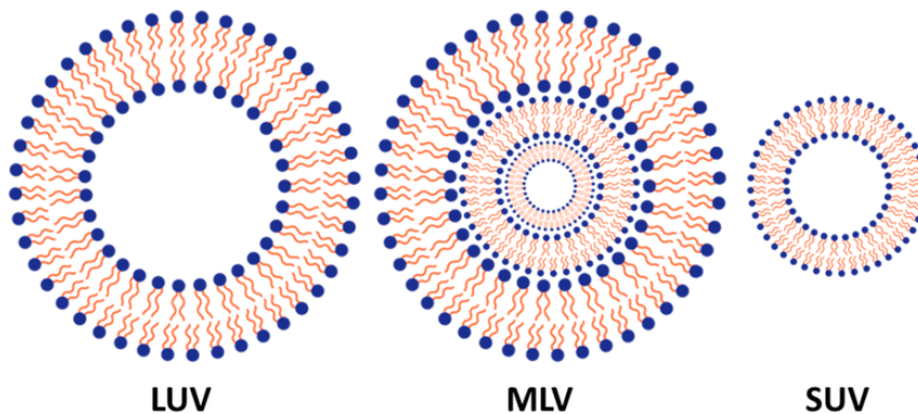
Η επιστήμη των λιποσωμάτων είναι ένα από τα ταχύτερα αναπτυσσόμενα επιστημονικά πεδία και έχει συμβάλλει σε τομείς όπως η μεταφορά φαρμάκων, τα καλλυντικά, τα τρόφιμα και τα συμπληρώματα διατροφής. Τόσο η δομή των λιποσωμάτων, όσο και η λειτουργικότητα της του βιολογικής τους μεμβράνης, που ως επί το πλείστον απαρτίζεται από φωσφολιπίδια, έχουν μελετηθεί εκτεταμένα στη βιβλιογραφία. Αυτό οφείλεται σε πολλά πλεονεκτικά χαρακτηριστικά όπως η ικανότητα να ενσωματώνουν όχι μόνο υδατοδιαλυτούς αλλά και λιποδιαλυτούς παράγοντες, ευελιξία όσον αφορά το ιζώδες, το μέγεθος και το φορτίο. Η επάρκεια των

λιποσωμάτων ως συστήματα μεταφοράς βιοδραστικών ενώσεων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, τη φύση των συστατικών τους, το μέγεθός τους, το φορτίο της μεμβράνης και τη λιπιδική οργάνωση [51]. Τα λιποσώματα αποτελούνται κυρίως από φωσfolιπίδια τα οποία είναι αμφίφιλα μόρια που διαθέτουν υδρόφιλη κεφαλή και δύο υδρόφοβες αλυσίδες. Όταν τα φωσfolιπίδια διασπείρονται σε υδατικά διαλύματα, λόγω της αμφίφιλης φύσης τους, σχηματίζουν μεμβράνες. Οι πολικές κεφαλές προσανατολίζονται προς την υδατική φάση και αντίστοιχα οι υδρόφοβες αλυσίδες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους σχηματίζοντας διπλοστιβάδα. Οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις καθώς και οι δυνάμεις Van der Waals ευνοούν τον σχηματισμό αυτών των λιπιδικών διπλοστιβάδων. Επιπλέον, σχηματίζονται δεσμοί υδρογόνου και παρατηρούνται πολικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του των μορίων νερού του υδατικού περιβάλλοντος και των πολικών κεφαλών. Τα λιποσώματα παρουσιάζουν ομοιότητες αλλά και διαφορές σε σχέση με τα μικκύλια των μικρο- και νανο-γαλακτωμάτων. Τα μικκύλια παρασκευάζονται από ένα λιπιδικό στρώμα στο οποίο το μη πολικό τμήμα προσανατολίζεται είτε προς τον λιπόφιλο πυρήνα (o/w) ή προς το λιπόφιλο περιβάλλον (w/o) και οι πολικές κεφαλές υιοθετούν αντίστοιχο προσανατολισμό ανάλογα με τη φύση του μικρο- και νανο-γαλακτώματος (o/w, w/o) [52]. Ως εκ τούτου, ο χώρος που περικλείεται στα μικκύλια είναι πολύ πιο περιορισμένος σε αυτόν που είναι διαθέσιμος στα λιποσώματα.



Εικόνα 6. Σχηματική αναπαράσταση της δομής ενός μικκυλίου (αριστερά), ενός λιποσώματος (κέντρο) και μιας λιπιδικής διπλοστιβάδας (δεξιά) [53].

Τα λιποσώματα διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: 1) τα λιποσώματα που διαθέτουν μια διπλοστιβάδα φωσφολιπιδίων (unilamellar) και 2) τα λιποσώματα που διαθέτουν περισσότερες από μια διπλοστιβάδα φωσφολιπιδίων (multilamellar). Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει λιποσώματα είτε μικρού (50-100 nm – small unilamellar vesicle/SUV) ή μεγάλου μεγέθους (100-250 nm – large unilamellar vesicles/LUV). Τα λιποσώματα αυτού του τύπου διαθέτουν μια διπλοστιβάδα φωσφολιπιδίων και στο εσωτερικό τους σχηματίζεται ένας υδατικός πυρήνας με δυνατότητα ενθυλάκωσης υδρόφιλων ενώσεων. Αντίθετα, τα λιποσώματα της δεύτερης κατηγορίας έχουν μέγεθος 1-5 μm και διαθέτουν πολλαπλές στιβάδες φωσφολιπιδίων (multilamellar vesicle/MLV). Για το λόγο αυτό ο εσωτερικός υδατικός πυρήνας είναι συγκριτικά μικρότερος και ως εκ τούτου ευνοείται η ενθυλάκωση υδρόφοβων ενώσεων (Εικόνα 5) [54].



Εικόνα 5. Οι κατηγορίες των λιποσωμάτων [55].

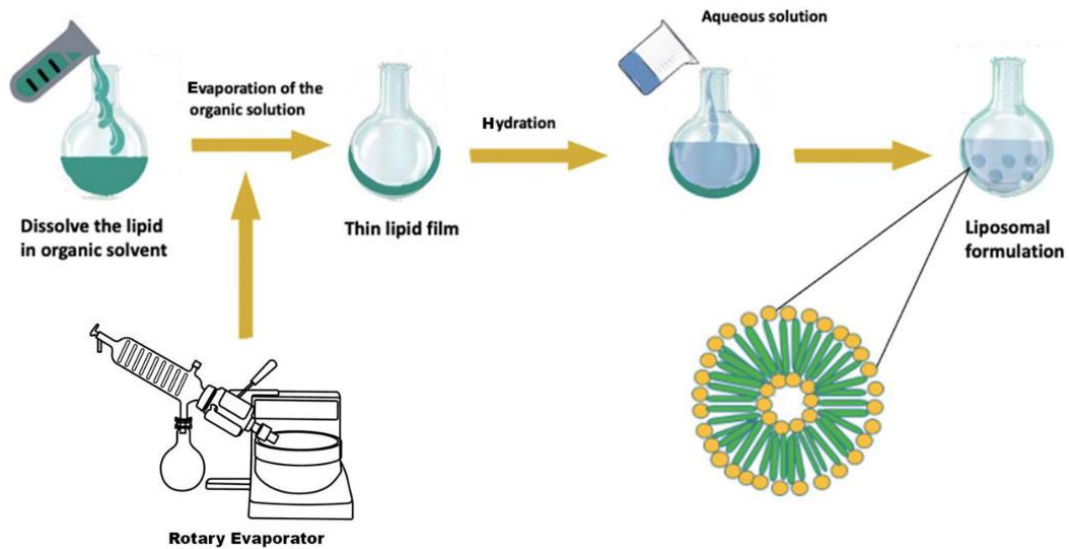
Τα λιποσώματα περιγράφηκαν για πρώτη φορά από τον A. C. Bangham όταν προσπάθησε να πραγματοποιήσει χρώση στα φωσφολιπίδια και να τα παρατηρήσει με ηλεκτρονική μικροσκοπία. Ούσες αμφίφιλες, οι πολικές κεφαλές των φωσφολιπιδίων είναι προσανατολισμένες προς το υδατικό περιβάλλον - τόσο στον υδατικό πυρήνα όσο και στην υδατική συνεχή φάση –ενώ οι μη πολικές αλυσίδες είναι προσανατολισμένες προς τη φάση ελαίου/λιπιδίου. Τα λιποσώματα αποτελούνται από φυσικά ή συνθετικά φωσφολιπίδια όπως η φωσφατιδυλοχολίνη (PC), η φωσφατιδυλαιθανολαμίνη (PE), η φωσφατιδυλοσερίνη και η φωσφατιδυλγλυκερόλη [55]. Γενικά, υπάρχουν διαφορετικοί τύποι λιποσωμάτων ανάλογα με τη οδό χορήγησης, συμπεριλαμβανομένων των συμβατικών λιποσωμάτων, των τροποποιημένων λιποσωμάτων και των λιποσωμάτων που διαθέτουν συζευγμένα μόρια. Τα συμβατικά λιποσώματα αποτελούνται από διπλές στοιβάδες με

βάση τα φωσφολιπίδια, συμπεριλαμβανομένων φυσικών ή συνθετικών φωσφολιπιδίων, συγκεκριμένα, φωσφατιδυλοχολίνη, παράγωγα φωσφατιδικού οξέος και χοληστερόλη. Σε περιπτώσεις τροποποίησης της σύστασης ή της σύζευξης, είναι απαραίτητο να πραγματοποιηθούν χημικές και στερικές αλλαγές για να επιτευχθεί όχι μόνο η επιμήκυνση του χρόνου ημιζωής των λιποσωμάτων στο σώμα αλλά και για να στοχευθούν συγκεκριμένοι ιστοί. Υπάρχει πληθώρα μελετών στη βιβλιογραφία που προτείνουν την επικάλυψη των λιποσωμάτων με PEG, ένα υδρόφιλο πολυμερές, το οποίο προσφέρει αξιοσημείωτη στερεοχημική σταθερότητα όσον αφορά την κυκλοφορία του αίματος [56].

3.2 Μέθοδοι παρασκευής λιποσωμάτων

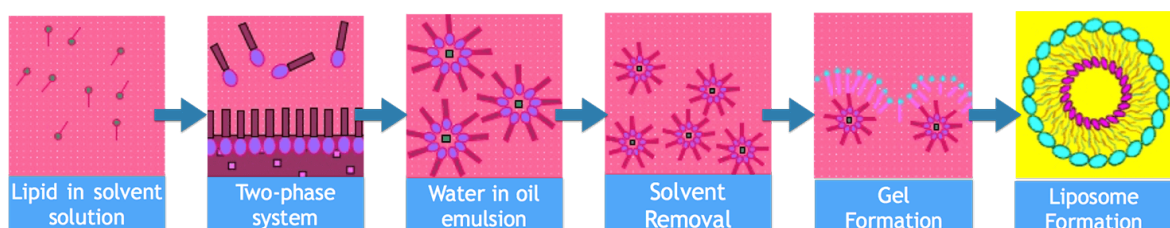
Η παρασκευή λιποσωμάτων περιλαμβάνει διάφορες τεχνικές, καθεμία από τις οποίες διαθέτει πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα, ανάλογα την εφαρμογή και τα επιλεγόμενα συστατικά. Ακολουθούν μερικές από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες τεχνικές για τη σύνθεση των λιποσωμάτων:

1. **Μέθοδος εξάτμισης διαλύτη (Solvent evaporation method/ Thin-film hydration method):** Σε αυτή την τεχνική, τα φωσφολιπίδια διαλύονται σε οργανικό διαλύτη, παραδείγματος χάριν χλωροφόρμιο, μεθανόλη, αιθανόλη ή διχλωρομεθάνιο. Η λιπόφιλη βιοδραστική ένωση προστίθεται επίσης στο οργανικό διάλυμα ούτως ώστε να σχηματιστεί ένα μονοφασικό διάλυμα. Ο οργανικός διαλύτης είναι στη συνέχεια εξατμίζεται αργά υπό κενό για να σχηματιστούν λεπτά φύλλα λιπιδικών μεμβρανών στις οποίες η λιπόφιλη ένωση είναι ομοιογενώς διεσπαρμένη. Στη συνέχεια, το λιπιδικό φιλμ ενυδατώνεται με ένα ρυθμιστικό διάλυμα ώστε να σχηματιστούν λιποσώματα [57]. Το μέγεθος και η σύνθεση των λιποσωμάτων μπορεί να ελεγχθεί μεταβάλλοντας τη συγκέντρωση λιπιδίων, τη λιπιδική σύνθεση και τις συνθήκες ενυδάτωσης. Η προκύπτουσα διασπορά δίνει λιποσώματα με μέγεθος περίπου 1-5μm και βιβλιογραφικά είναι πιο κατάλληλη για λιπόφιλες βιοδραστικές ενώσεις καθώς όπως έχει αναφερθεί η απόδοση της ενθυλάκωσης υπολογίζεται περίπου στο 90%. Παρόλα αυτά, στην περίπτωση ενθυλάκωσης υδρόφιλης ένωσης, αυτή θα πρέπει να διαλυθεί σε υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα, όμως η απόδοση ενθυλάκωσης είναι ιδιαίτερα χαμηλή (10-30%) [58].



Εικόνα 7. Σχηματική αναπαράσταση της μεθόδου εξάτμισης διαλύτη [59].

2. **Μέθοδος εξάτμισης διαλύτη με αναστροφή φάσης (Reverse-phase evaporation method):** Η συγκεκριμένη τεχνική προτιμάται για την ενθυλάκωση υδρόφιλων ενώσεων σε λιποσώματα. Λόγω της δομής του λιποσώματος, ο πυρήνας είναι η μοναδική περιοχή όπου μπορεί να ενθυλακωθεί μια υδρόφιλη βιοδραστική ένωση. Ως εκ τούτου, μια τεχνική που μπορεί να εγκλωβίσει μεγάλη ποσότητα υδατικού διαλύματος κατά τη διάρκεια του σχηματισμού λιποσώματος, χαρακτηρίζεται από υψηλή απόδοση ενθυλάκωσης και συνεπώς μεγάλη συγκέντρωση της ενθυλακούμενης βιοδραστικής. Κατά τη μέθοδο εξάτμισης διαλύτη με αναστροφή φάσης, παρασκευάζεται ένα γαλάκτωμα w/o αναμιγνύοντας το υδατικό διάλυμα που περιέχει τη βιοδραστική ουσία, τα φωσφολιπίδια και έναν οργανικό διαλύτη (συνήθως χλωροφόρμιο). Ο οργανικός διαλύτης στη συνέχεια εξατμίζεται υπό κενό και σχηματίζεται μια γέλη με υψηλό ιξώδες. Με ενυδάτωση διασπορά με υψηλή απόδοση ενθυλάκωσης του υδατικού πυρήνα στο εσωτερικό των λιποσωμάτων. Αυτή η τεχνική μπορεί να αποφέρει έως και 30-50% απόδοση ενθυλάκωσης υδρόφιλων βιοδραστικών ενώσεων [60].

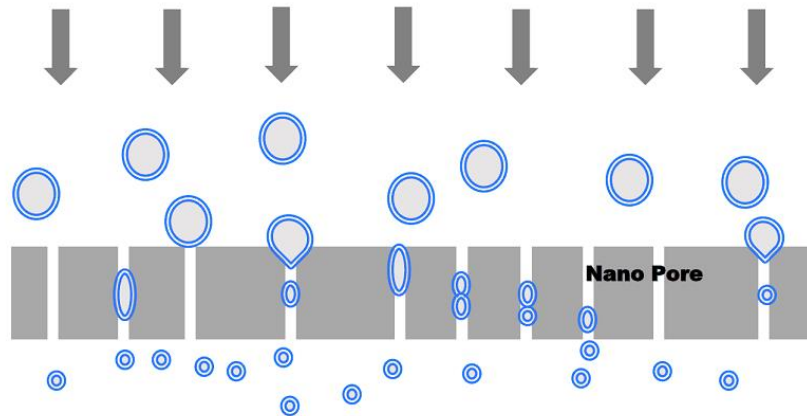


Εικόνα 8. Σχηματική αναπαράσταση της μεθόδου εξάτμισης διαλύτη με αναστροφή φάσης.

(<https://www.creative-biostructure.com/mempro-liposome-preparation-by-reverse-phase-evaporation-516.htm>)

3. **Μέθοδος ψύξης-ξηράνσης/Λυοφιλίωσης (Freeze-drying or lyophilization method):** Η συγκεκριμένη τεχνική χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή λιποσωμάτων μικρού μεγέθους. Σε αυτή τη διαδικασία, τα φωσφολιπίδια και η υδατική φάση αναμιγνύονται με την οργανική φάση σχηματίζοντας ένα ισότροπο μονοφασικό διάλυμα. Στη συνέχεια, το διάλυμα αυτό λυοφιλιώνεται (ή ξηραίνεται και στη συνέχεια ψύχεται) και ενυδατώνεται με ένα υδατικό διάλυμα ώστε να σχηματιστεί ένα ομοιογενές εναιώρημα λιποσωμάτων (μέγεθος περίπου 100-400 nm) [61]. Αυτή η μέθοδος είναι ιδανική για την παρασκευή λιποσωμάτων με υψηλή απόδοση ενθυλάκωσης και ομοιόμορφη κατανομή μεγέθους.
4. **Εφαρμογή υπερήχων (Sonication method):** Αυτή η τεχνική περιλαμβάνει χρήση υπερήχων για την ομογενοποίηση εναιωρήματος λιπιδίων, ώστε να σχηματιστούν λιποσώματα μικρότερου μεγέθους. Η τεχνική μπορεί να εφαρμοστεί με χρήση συσκευής υπερήχων που διαθέτει είτε υδατόλουτρο ή ακίδα (probe). Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται στην παρασκευή λιποσωμάτων SUV και από λιποσώματα MLV που παρασκευάζονται αρχικά από κάποια άλλη από τις προαναφερόμενες μεθόδους. Η αρχή μεθόδου των υπερήχων περιλαμβάνει τη χρήση παλμικών, ηχητικών κυμάτων υψηλής συχνότητας. Τα λιποσώματα που προκύπτουν έχουν συνήθως διάμετρο στην περιοχή 15–50 nm [62]. Ο σκοπός της υπερήχων, επομένως, είναι η παραγωγή ομοιογενούς διασποράς λιποσωμάτων με δυνατότητα μεγαλύτερης διείσδυσης στις βιολογικές μεμβράνες και κατ'επέκταση στους ιστούς. Κατά την εφαρμογή υπερήχων, τα λιποσώματα δέχονται μεγάλη ποσότητα ενέργειας. Ως εκ τούτου υπάρχει πάντα ο κίνδυνος υπερθέρμανσης του δείγματος με αποτέλεσμα την πιθανή αλλοίωση και υποβάθμισή του. Παρόλα αυτά, η εφαρμογή υπερήχων είναι από τις πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες τεχνικές ομογενοποίησης.
5. **Μέθοδος εξώθησης υπό υψηλή πίεση (High-pressure extrusion method):** Αποτελεί μια εναλλακτική μέθοδο για τη μετατροπή λιποσωμάτων τύπου MLV σε SUV. Ειδικότερα, εναιωρήματα λιποσωμάτων τύπου MLV που παρασκευάζονται από τις προαναφερθείσες μεθόδους, διέρχονται πολλές φορές μέσω φίλτρων πολυανθρακικών μεμβρανών με πόρους

πολύ μικρής διαμέτρου (0,8–1,0 μm) υπό υψηλή πίεση έως 250psi. Τα λιποσώματα MLV διέρχονται μέσα από τους μικρούς πόρους, και λόγω της διαρκούς συμπίεσης μειώνεται το μέγεθός τους. Ανάλογα με το φίλτρο που επιλέγεται και το μέγεθος των πόρων, είναι δυνατή η παρασκευή λιποσωμάτων διαφορετικού μεγέθους [63].



Εικόνα 7. Σχηματική αναπαράσταση της διέλευσης των λιποσωμάτων από τους πόρους των μεμβρανών κατά τη μέθοδο εξώθησης υπό υψηλή πίεση (<https://www.genizer.com/art/liposome-extruder.html>)

3.3 Εφαρμογές λιποσωμάτων σε τρόφιμα και συμπληρώματα διατροφής.

Τα λιποσώματα έχουν μελετηθεί και εφαρμοστεί ευρέως σε διάφορους τομείς, συμπεριλαμβανομένης της βιομηχανίας τροφίμων. Στη βιομηχανία τροφίμων, τα λιποσώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μέσα μεταφοράς βιοδραστικών ενώσεων, όπως βιταμίνες, αντιοξειδωτικά αλλά και βελτιωτικά αρώματος και γεύσης. Τα πλεονεκτήματα της εφαρμογής των λιποσωμάτων σε τρόφιμα και διατροφικά συμπληρώματα είναι πολλά. Αρχικά, τα λιποσώματα προστατεύουν τις ευαίσθητες βιοδραστικές ενώσεις από την αποικοδόμηση και την οξείδωση, γεγονός που μπορεί να βελτιώσει τη σταθερότητα και τη βιοδιαθεσιμότητα τους. Επιπλέον, από πληθώρα μελετών έχει αποδειχθεί ότι τα λιποσώματα μπορούν να βελτιώσουν τη διαλυτότητα των υδρόφοβων βιοδραστικών ενώσεων, γεγονός που μπορεί να διευκολύνει την ενσωμάτωσή τους σε προϊόντα τροφίμων. Τέλος, τα λιποσώματα μπορούν να σχεδιαστούν ώστε να στοχεύουν συγκεκριμένους ιστούς ή όργανα, τα οποία μπορούν να ενισχύσουν τα θεραπευτικά ή διατροφικά τους αποτελέσματα, ανάλογα την εφαρμογή. Συνολικά, η χρήση λιποσωμάτων στη βιομηχανία τροφίμων είναι δυνατό να ενισχύσει τη θρεπτική αξία και τις λειτουργικές ιδιότητες των προϊόντων διατροφής, ενώ παράλληλα τα λιποσώματα αποτελούν ένα μέσο για τη μεταφορά βιοδραστικών

ενώσεων με ασφαλή και αποτελεσματικό τρόπο [64].

Τα ένζυμα χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία καθώς είναι δυνατό να βελτιώσουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες αλλά και τη θρεπτική αξία τροφίμων. Ειδικότερα, η βελτίωση της ποιότητας και όψης του ψωμιού μέσω της διόγκωσης του ζυμαριού, η μείωση του σχηματισμού ακρυλαμιδίου κατά το ψήσιμο, η υγροποίηση αμύλου, η διαύγαση χυμών φρούτων, η ενίσχυση της γεύσης και του αρώματος στους χυμούς φρούτων, η παραγωγή σιροπιών από καλαμπόκι με υψηλή περιεκτικότητα σε φρουκτόζη, η παραγωγή τυριού, ακόμα και η βελτίωση της διάρκειας ζωής των προϊόντων διατροφής και βελτίωση της γεύσης των τροφίμων είναι μόνο μερικά παραδείγματα στοιχειώδους ρόλου των ενζύμων στα τρόφιμα [65, 66]. Η ενθυλάκωση των ενζύμων σε νανοφορείς όπως τα λιποσώματα, έχει ενισχύσει ιδιαίτερα τη δράση και τη λειτουργικότητά τους. Οι περισσότερες από τις εφαρμογές ενθυλάκωσης ενζύμων στη βιομηχανία τροφίμων έχουν μελετηθεί στον τομέα των γαλακτοκομικών και ιδιαίτερα στην παραγωγή τυριού. Λόγω της πρωτεϊνικής τους φύσης, τα ένζυμα είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στην υψηλή θερμοκρασία, τις αλλαγές στην τιμή pH αλλά και στην παρουσία ή η ιόντων. Ως εκ τούτου, τα ένζυμα μπορούν να ενθυλακωθούν στα λιποσώματα, σε διάφορα σημεία (εσωτερικά στον υδατικό πυρήνα ή στην διπλοστιβάδα των φωσφολιπιδίων) γεγονός που καθορίζεται κυρίως από την υδροφιλικότητα/ υδροφοβικότητα του εκάστοτε ενζύμου [65].

Οι χρήσεις των λιποσωμάτων στην ενθυλάκωση ενζύμων σε τρόφιμα είναι πολυάριθμες. Ενδεικτικά, ένζυμα όπως α-αμυλάση, λιπάσες, β-γαλακτοζιδάση, θρυψίνη και αμυλογλυκοζιδάση είναι ορισμένα από τα παραδείγματα ενζύμων που ενθυλακώθηκαν σε λιποσώματα με στόχο τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητάς τους αλλά και της απόδοσής τους κατά τη βιοκατάλυση. Βιβλιογραφικά, αναφέρεται η επιτυχής προστασία της α-αμυλάσης έναντι της πεψίνης που επιτυγχάνεται με την αντικατάσταση της χοληστερόλης από στεατικό οξύ μέσω ενθυλάκωσης σε λιποσώματα. Η αντικατάσταση της χοληστερόλης από στεατικό οξύ, πραγματοποιήθηκε σε μια προσπάθεια μείωσης πρόσληψης επιπλέον χοληστερόλης μέσω της κατανάλωσης του σκευάσματος που περιείχε τα λιποσώματα. Σε άλλες μελέτες, τα μόρια χοληστερόλης αντικαθίστανται από άλλα λιπίδια όπως το λινολεϊκό οξύ [67]. Επιπλέον, οι Rodríguez-Nogales και López (2006) ανέφεραν ότι η β-γαλακτοσιδάση που ενθυλακώθηκε σε λιποσώματα έδειξε υψηλότερη θερμική σταθερότητα σε θερμοκρασίες αποθήκευσης (30–80 °C για 60min) και σταθερότητα έναντι πρωτεολυτικών ενζύμων λόγω της ενθυλάκωσής της [68]. Παράλληλα, οι Macario et al. (2013) μελέτησαν την ενθυλάκωση λιπάσης σε λιποσώματα. Η λιπάση απομονώθηκε από το *Rhizomucor michel* και ενθυλακώθηκε σε λιπόσωμα με επικάλυψη από διοξείδιο του πυριτίου (silica). Τέλος, η επικάλυψη με πυρίτιο φάνηκε

ότι ενίσχυσε περαιτέρω τη σταθερότητα του λιποσώματος [69].

Οι βιταμίνες δεν ενσωματώνονται εύκολα στα τρόφιμα. Οι λιποδιαλυτές βιταμίνες (A, D, E) έχουν πολύ μικρή διαλυτότητα στο νερό και ταυτόχρονα οξειδώνονται πολύ εύκολα από τον αέρα. Παράλληλα, είναι θερμοευαίσθητες και μπορούν εύκολα να αποικοδομηθούν μετά από θερμικές επεξεργασίες όπως η παστερίωση. Επιπλέον, οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες (σύμπλεγμα βιταμινών B, C) οξειδώνονται ταχύτατα και λόγω της μεγάλης διαλυτότητάς τους στο νερό, ο χρόνος παραμονής στον ανθρώπινο οργανισμό είναι πολύ μικρός. Από την άλλη πλευρά, η ενθυλάκωση βιταμινών στα λιποσώματα μπορεί να ενισχύσει την απορρόφηση και τη βιοδιαθεσιμότητά τους [70]. Οι Banville, Vuillemand και Lacroix ανέπτυξαν λιποσώματα με ενθυλακωμένη βιταμίνη D για την αύξηση της περιεκτικότητας της σε τυρί τσένταρ. Τα λιποσώματα που παρασκευάστηκαν, ενσωματώθηκαν στο γάλα, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την τυροκομία. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα λιποσώματα συνέβαλαν σε αύξηση της περιεκτικότητας σε βιταμίνη D σε σχέση με την τυροκόμηση γάλακτος που περιείχε μη-ενθυλακωμένη βιταμίνη D [71]. Οι Wechtersbach, Ulrich και Cigic ενσωμάτωσαν τη βιταμίνη C σε λιποσώματα σε χυμό μήλου αλλά και σε γάλα τα οποία υποβλήθηκαν σε παστερίωση στους 72 °C. Παρατηρήθηκε ότι η λιποσωμική ενθυλάκωση παρείχε προστασία στην βιταμίνη C η οποία δεν αλλοιώθηκε κατά την παστερίωση [72].

Επιπλέον, σε πολλές περιπτώσεις, πραγματοποιείται ενθυλάκωση δύο ή περισσότερων ενώσεων σε λιποσώματα (βιταμινών, αντιοξειδωτικών κλπ), καθώς αποτελούν τον ιδανικό φορέα για την ταυτόχρονη ενθυλάκωση υδρόφιλων και υρόφοβων βιοδραστικών ενώσεων. Επί παραδείγματι, οι Liu et al., πραγματοποίησαν ταυτόχρονη ενθυλάκωση βιταμίνης C και β-καροτενίου σε λιποσώματα και μελέτησαν τη σταθερότητα, την αντιοξειδωτική ικανότητα και αξιολόγησαν την τύχη του λιποσώματος σε *in vitro* μοντέλο του γαστρεντερικού συστήματος [73]. Παρόμοιες μελέτες πραγματοποιήθηκαν κατά τη συνενθυλάκωση β-καροτενίου και ρουτινοσίδης [74], αλλά και κατά τη συνενθυλάκωση ρεσβερατρόλης και επικατεχίνης [75] και τα αποτελέσματα φαίνονται πολλά υποσχόμενα για την περαιτέρω χρήση των λιποσωμάτων στη βιομηχανία τροφίμων.

Μια κατηγορία βιοδραστικών ενώσεων που συγκεντρώνει το ενδιαφέρον των επιστημόνων τόσο για τη διατροφική τους αξία όσο και για την σημασία της διατήρησης της λειτουργικότητας τους στα τρόφιμα, είναι τα ωμέγα-3 λιπαρά οξέα. Τα ωμέγα-3 λιπαρά οξέα αποτελούν ενώσεις ιδιαίτερα ευαίσθητες στην οξείδωση, την ενζυμική και χημική αλλοίωση. Ως εκ τούτου, έχουν πραγματοποιηθεί πολλές προσπάθειες ενθυλάκωσής τους σε λιποσώματα, με στόχο την προστασία τους και την ενίσχυση της βιοδιαθεσιμότητάς τους [76]. Ενδεικτικά, οι Choudhary et al.,

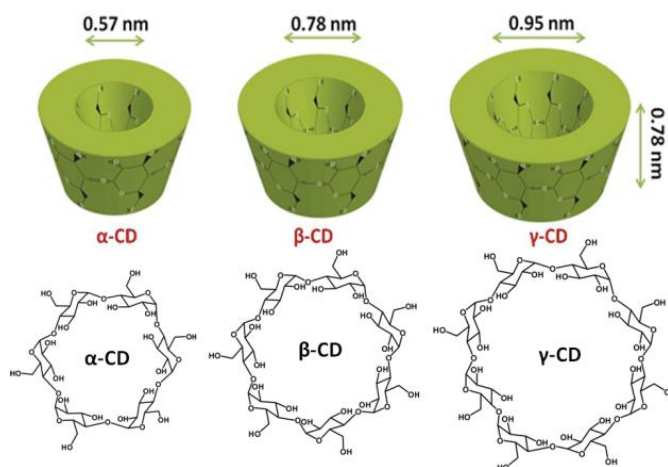
ενθυλάκωσαν ωμέγα-3 λιπαρά οξέα και α-λιποϊκό οξύ σε λιποσώματα τα οποία ενσωματώθηκαν σε αγελαδινό γάλα με στόχο την αύξηση της περιεκτικότητάς του στις ενώσεις αυτές [77].

Κεφάλαιο 4. Χρήση των πολυμερικών νανοσωματιδίων στα τρόφιμα και στα διατροφικά συμπληρώματα

Τα νανοσωματίδια που σχηματίζονται με τη βοήθεια πολυμερών βρίσκουν εφαρμογή σε πολλούς τομείς, συμπεριλαμβανομένου του τομέα των τροφίμων και των διατροφικών συμπληρωμάτων. Τα πολυμερή που χρησιμοποιούνται μπορεί να είναι συνθετικά ή φυσικά, ανάλογα την εφαρμογή για την οποία προορίζονται, την επιθυμητή σύσταση αλλά και το κόστος παραγωγής του εκάστοτε προϊόντος. Βασική προϋπόθεση για τη χρήση των πολυμερών σε τρόφιμα και συμπληρώματα διατροφής είναι η βιοσυμβατότητα, ενώ σε πολλές περιπτώσεις προτιμώνται τα βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή. Τα τελευταία υφίστανται αποικοδόμηση, με χρήση (ή μη) ενζύμων και τα τελικά προϊόντα που προκύπτουν είναι βιοσυμβατά. Τα τελευταία χρόνια είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη η χρήση βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών εγκεκριμένων από τον FDA [78].

4.1 Κυκλοδεξτρίνες

Οι κυκλοδεξτρίνες αποτελούν κυκλικούς πολυσακχαρίτες που παράγονται από ενζυμική τροποποίηση του αμύλου. Σε οργανοληπτικό επίπεδο, δεν διαθέτουν άρωμα ή γεύση και συμβάλλουν στην μείωση της πέψης των υδατανθράκων και λιπιδίων. Για αυτό το λόγο, οι κυκλοδεξτρίνες λόγω των ιδιοτήτων τους, είναι ευρέως διαδεδομένες για χρήση σε τρόφιμα αλλά και σε συμπληρώματα διατροφής, τόσο ως συστατικά όσο και ως φορείς βιοδραστικών ενώσεων. Το σχήμα τους είναι κωνικό και οφείλεται κυρίως στην περιορισμένη ελεύθερη περιστροφή των δεσμών που συνδέουν τις μονάδες γλυκοπυρανόζης [79].



Εικόνα 9. Δομές των α-, β- και γ-κυκλοδεξτρινών (<https://biotecnologiasi.tumblr.com/post/124853665403/la-arqueobacteria-que-convirti%C3%B3-una-patata-en-el>)

Οι κυκλοδεξτρίνες διαθέτουν την ικανότητα να ενθυλακώνουν βιοδραστικές ενώσεις εξαιτίας της υδρόφοβης εσωτερικής τους κοιλότητας, ενώ η εξωτερική τους επιφάνεια χαρακτηρίζεται ως υδρόφιλη. Επιπλέον, οι υδροξυλομάδες των γλυκοπυρανοζών καθιστούν τις κυκλοδεξτρίνες ιδιαίτερα ευδιάλυτες στο νερό, γεγονός που ευνοεί τη χρήση τους για τον εγκλεισμό και τη μεταφορά βιοδραστικών ενώσεων για τρόφιμα με μεγάλη περιεκτικότητα σε νερό. Αναφορικά με τη σταθερότητά τους, το σημείο τήξης των κυκλοδεξτρινών προσδιορίζεται σε θερμοκρασίες των 270°C. Πολλές βιταμίνες που έχουν χαμηλό σημείο τήξης είναι ευαίσθητες σε χημική υποβάθμιση όταν η θερμοκρασία αυξάνεται ή εκτίθενται σε πτητικά περιβάλλοντα. Τα μόρια-φορείς που συνδέονται με τις βιταμίνες, βελτιώνουν τις θερμικές τους ιδιότητες με τη διαδικασία της ενθυλάκωσης.

Οι κυκλοδεξτρίνες συναντώνται σε τρεις βασικές μορφές, την α-, β- και γ-κυκλοδεξτρίνη (CD), οι οποίες αποτελούνται από μονάδες 6,7, ή 8 γλυκοπυρανοζών αντίστοιχα που διαφέρουν σε μέγεθος και διάμετρο (από 0,5-0,9nm). Το μέγεθος αλλά και η γεωμετρία αυτών των συμπλόκων αποτελούν καθοριστικούς παράγοντες για το είδος των μορίων που θα δεχθούν στην εσωτερική τους κοιλότητα. Η α-κυκλοδεξτρίνη αποτελείται από έξι μόρια γλυκόζης, η β-κυκλοδεξτρίνη από επτά και η γ-κυκλοδεξτρίνη από οκτώ. Οι α- και β-κυκλοδεξτρίνες χρησιμοποιούνται εκτεταμένα για τον εγκλεισμό βιταμινών του συμπλέγματος Β [80]. Αναφορικά με την ασφάλεια χρήσης των κυκλοδεξτρινών στα τρόφιμα, βιβλιογραφικά αναφέρεται ότι και οι τρεις μορφές είναι ασφαλείς για λήψη από το στόμα. Η πιο ευρέως διαδεδομένη, με ιδιαίτερα χαμηλό κόστος είναι η β-κυκλοδεξτρίνη, η οποία όμως παρουσιάζει και τη χαμηλότερη διαλυτότητα στο νερό [81]. Παρόλα αυτά είναι εφικτή η χημική της τροποποίηση μέσω αλκυλίωσης ή υδροξυαλκυλίωσης για τη βελτίωση της διαλυτότητάς της. Από τη βιβλιογραφία έχει ήδη αποδειχθεί ότι η γ-κυκλοδεξτρίνη χρησιμοποιείται κυρίως για την ενθυλάκωση βιοδραστικών ενώσεων όπως αντιοξειδωτικά, βιταμίνες, φλαβονοειδή και καροτενοειδή. Εφαρμογές της γ-κυκλοδεξτρίνης σε λειτουργικά τρόφιμα μπορούν να βελτιώσουν την απορρόφηση και τη βιοδιαθεσιμότητα των ενώσεων αυτών [82].

4.1.1 Ενθυλάκωση σε κυκλοδεξτρίνες

Η απόδοση της ενθυλάκωσης εξαρτάται κυρίως από τη στερεοχημεία και την πολικότητα της

βιοδραστικής ένωσης. Από τη βιβλιογραφία έχει φανεί ότι όσο μικρότερη είναι η ένωση τόσο πιο αποτελεσματική είναι η διαδικασία εγκλεισμού της στην κυκλοδεξτρίνη. Κρίσιμοι παράγοντες που ενδέχεται να επηρεάσουν την απόδοση της ενθυλάκωσης εξίσου με τη στερεοχημεία και την πολικότητα είναι: ο τύπος της κυκλοδεξτρίνης (α-, β-, γ-), η τιμή pH, το μέγεθος της κοιλότητας, η σταθερά εγκλεισμού και η στοιχειομετρική αναλογία των συστατικών που έχουν προστεθεί [83]. Επιπλέον, σημαντικό ρόλο έχουν οι φυσικές και χημικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ της κυκλοδεξτρίνης και της επιλεγόμενης βιοδραστικής ένωσης. Σύμφωνα με τους Liu et al οι αλληλεπιδράσεις που έχουν καταγραφεί βιβλιογραφικά είναι οι παρακάτω [84]: α) υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις, β) ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, γ) δυνάμεις VanderWaals, δ) δεσμοί Υδρογόνου, ε) αλληλεπιδράσεις λόγω μεταφοράς φορτίου μεταξύ κυκλοδεξτρίνης και βιοδραστικής ένωσης.

Πριν την ενθυλάκωση, μόρια διαλύτη (συνήθως νερού) εισέρχονται στην κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης. Κατά την ενθυλάκωση, τα μόρια της βιοδραστικής ουσίας παίρνουν τη θέση των μορίων του διαλύτη στην κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης. Ο ρυθμός και η αποτελεσματικότητα της αποδέσμευσης των βιοδραστικών ενώσεων από τις κυκλοδεξτρίνες, σχετίζονται σε μεγάλο βαθμό με το ποσοστό νερού του εκάστοτε τροφίμου καθώς η εσωτερική κοιλότητα είναι ημιπολική. Το γεγονός αυτό καθιστά τις κυκλοδεξτρίνες ιδανικούς ναυοφορείς για χρήση σε τρόφιμα. Αναφορικά με τους ισχύοντες κανονισμούς που διέπουν τη χρήση των κυκλοδεξτρινών στα τρόφιμα, οι φυσικές κυκλοδεξτρίνες θεωρούνται πρόσθετα τροφίμων (E-457 (γ-κυκλοδεξτρίνη), E-458 (α-κυκλοδεξτρίνη) και E-459 (β-κυκλοδεξτρίνη)) και αναγνωρίζονται ως "Γενικά αναγνωρισμένα ως ασφαλή" (GRAS). Επιπλέον, έχει καθοριστεί η μέγιστη επιτρεπόμενη ποσότητά τους από FAO/ΠΟΥ και την επιτροπή για τα πρόσθετα τροφίμων (JECFA) [85].

Βιβλιογραφικά έχουν καταγραφεί αρκετές μέθοδοι ενθυλάκωσης βιοδραστικών ενώσεων σε κυκλοδεξτρίνες. Ενδεικτικά αναφέρονται οι πιο διαδεδομένες [86]:

- **Απλή Ανάμιξη:** Παρασκευάζονται μίγματα κυκλοδεξτρινών και βιοδραστικών ενώσεων όπου επιτυγχάνεται ενθυλάκωση λόγω των φυσικοχημικών αλληλεπιδράσεων της εσωτερικής κοιλότητας της κυκλοδεξτρίνης και της βιοδραστικής ένωσης. Η συγκεκριμένη τεχνική δεν παρουσιάζει υψηλή απόδοση συμπλοκοποίησης.
- **Μέθοδος Συγκαταβύθισης:** Η βιοδραστική ένωση διαλύεται σε κατάλληλο διαλύτη και το διάλυμα προστίθεται σε υδατικό διάλυμα κυκλοδεξτρίνης υπό ανάδευση. Το προϊόν ανάμιξης ψύχεται και οι κρύσταλλοι που λαμβάνονται είτε εκπλένονται με πτητικό οργανικό

διαλύτη ή φιλτράρονται και στη συνέχεια ξηραίνονται. Τα σύμπλοκα που προκύπτουν λαμβάνονται σε μορφή πούδρας. Η συγκεκριμένη τεχνική συνήθως χρησιμοποιείται σε περιπτώσεις ενθυλάκωσης λιπόφιλων βιοδραστικών ενώσεων.

- **Μέθοδος Ξήρανσης με Ψεκάσμο (SprayDrying):** Παρασκευάζεται διάλυμα που περιέχει κυκλοδεξτρίνη και τη βιοδραστική ένωση και έπειτα τοποθετείται σε θάλαμο ξήρανσης. Δεν είναι κατάλληλη μέθοδος για συμπλοκοποίηση θερμοευαίσθητων μορίων καθώς οι θερμοκρασίες φθάνουν τους 70°C. Είναι μια διαδομένη τεχνική η οποία οδηγεί στην παραγωγή συμπλόκων σε μορφή πούδρας.
- **Λυοφιλοποίηση (FreezeDrying):** Η βιοδραστική ένωση και η κυκλοδεξτρίνη διαλύονται σε νερό παρουσία αμμωνίας υπό ανάδευση. Το διάλυμα λυοφιλιώνεται και το προϊόν που προκύπτει μοιάζει με άμορφη πούδρα. Η διαδικασία αυτή ενισχύει την διαλυτότητα των ενθυλακούμενων μορίων. Η τεχνική αυτή θεωρείται κατάλληλη για υδατοδιαλυτά, θερμοευαίσθητα μόρια, όπως για παράδειγμα η βιταμίνη C. Επιπλέον, αποδίδει υψηλή απόδοση σχηματισμού συμπλόκων και προτείνεται σε διεργασίες μεγάλης κλίμακας.
- **Τεχνολογία Υπεκρίσιμων ρευστών (SupercriticalFluidTechnology):** Μίγμα CO₂ και αιθανόλης χρησιμοποιείται ως εναλλακτικός διαλύτης έναντι οργανικών διαλυτών. Πιο συγκεκριμένα, το CO₂ συμπεριφέρεται ως υπερκρίσιμο ρευστό σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 30°C και πίεση μεγαλύτερη από 73 atm, διαστέλλεται ούτως ώστε να καλύψει τον όγκο του δοχείου που βρίσκεται αλλά με πυκνότητα αντίστοιχη με την πυκνότητα ενός υγρού. Η επιλογή της τεχνικής αυτής πλεονεκτεί λόγω της σχετικά χαμηλής τοξικότητας του CO₂ αλλά και για τις μικρές περιβαλλοντικές επιπτώσεις της [87].

4.1.3 Εφαρμογές κυκλοδεξτρινών σε τρόφιμα και διατροφικά συμπληρώματα

Τα τελευταία χρόνια αυξάνεται όλο και περισσότερο η ζήτηση προϊόντων με μηδενική περιεκτικότητα σε ζάχαρη ή γλυτένη ή ακόμα και προϊόντων με χαμηλή περιεκτικότητα σε χοληστερόλη. Επιπλέον, οι δυσάρεστες γεύσεις ή αρώματα μπορούν να μειωθούν με την προσθήκη κυκλοδεξτρινών. Πολλά πρόσθετα τροφίμων αλλά και αρώματα δύνανται να αλλάζουν το οργανοληπτικό προφίλ του προϊόντος και η χρήση κυκλοδεξτρινών βοηθά στην διατήρηση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων του τροφίμου. Η χρήση κυκλοδεξτρινών ως μέσα ενθυλάκωσης

βιοδραστικών ενώσεων φαίνεται να έχει θετικά αποτελέσματα στην σταθερότητα και αύξηση της διαλυτότητας τους αλλά και στην μείωση της επίγευσης που ενδεχομένως διαθέτουν τα πρόσθετα σε συνδυασμό με τυχόν δυσάρεστες οσμές. Χαρακτηριστικά παραδείγματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα, όπου μπορούμε να δούμε εφαρμοσμένα παραδείγματα κυκλοδεξτρινών στα οποία έχει γίνει εγκλεισμός αρωματικών υλών.

Πίνακας 2. Ενδεικτικά παραδείγματα ενθυλάκωσης βιοδραστικών ενώσεων σε κυκλοδεξτρίνες για χρήση σε τρόφιμα και διατροφικά συμπληρώματα.

Βιοδραστική ένωση	Τύπος κυκλοδεξτρίνης	Εφαρμογή	Βιβλιογραφική αναφορά
Καφεΐνη	α-κυκλοδεξτρίνη β-κυκλοδεξτρίνη	Βελτίωση διαλυτότητας και αντιοξειδωτικής δράσης της καφεΐνης	[88]
φυτοστερόλες, βιταμίνες, φλαβονοειδή	β-κυκλοδεξτρίνη	Βελτίωση της γεύσης σε προϊόντα σοκολάτας και εξάλειψη της πικρής αίσθησης	[89]
Γεύση λεμονιού	β-κυκλοδεξτρίνη	Προστασία και διατήρηση της αρωματικής ουσίας	[90]
Αιθέριο έλαιο περγαμόντου	β-κυκλοδεξτρίνη	Προστασία και διατήρηση της αρωματικής ουσίας	[91]
Ginseng	β-κυκλοδεξτρίνη γ-κυκλοδεξτρίνη	Απομάκρυνση της πικρής γεύσης	[92]
Q-10, Βιταμίνη E	β-κυκλοδεξτρίνη	Βελτίωση σταθερότητας	[93]
β-καροτένιο	β-κυκλοδεξτρίνη	Βελτίωση σταθερότητας, Προστασία από περιβαλλοντικούς παράγοντες	[94]
Κατεχίνες	β-κυκλοδεξτρίνη	Βελτίωση σταθερότητας και αντιοξειδωτικής	[95]

		ικανότητας	
--	--	------------	--

Λόγω των ιδιαίτερων φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους (εσωτερική υδρόφοβη κοιλότητα, εξωτερική υδρόφιλη επιφάνεια), οι κυκλοδεξτρίνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν και έναντι γαλακτωματοποιητών κατά την παρασκευή γαλακτωμάτων. Για παράδειγμα, διάφορες μελέτες περιγράφουν την παρασκευή γαλακτωμάτων Pickering με ελαιόλαδο/νερό και σογιέλαιο/νερό και χρήση κυκλοδεξτρινών για τη σταθεροποίησή τους και την εφαρμογή σε τρόφιμα [96, 97].

4.2 Υδρογέλες

Ως υδρογέλες χαρακτηρίζονται τα τρισδιάστατα δίκτυα από πολυμερή που έχουν την ικανότητα να απορροφούν και να συγκρατούν μεγάλες ποσότητες νερού ή υδατικού διαλύματος. Οι υδρογέλες παρασκευάζονται από υδρόφιλα πολυμερή που αποδίδουν στις υδρογέλες μοναδικές ιδιότητες όπως η ικανότητα ενσωμάτωσης μεγάλων ποσοτήτων νερού, η ελαστικότητα, η βιοσυμβατότητα αλλά και η ικανότητα ενθυλάκωσης πληθώρας βιοδραστικών ενώσεων. Οι υδρογέλες σχηματίζονται είτε από φυσικά ή από συνθετικά υδρόφιλα πολυμερή όπως η ζελατίνη, η χιτοζάνη, το κόμμι ξανθάνης, διάφορα παράγωγα κυτταρίνης, πολύ (N-ισοπροπυλακρυλαμίδιο)(pNiPAAM), πολύ(υδροξυαιθυλο-μεθακρυλικό) (pHEMA), κολλαγόνο (CLN) και αλγινικό (AG) [96]. Λόγω των ιδιοτήτων τους, οι υδρογέλες είναι ιδιαίτερα διαδεδομένα μέσα μεταφοράς βιοδραστικών ενώσεων σε πολλές βιοϊατρικές εφαρμογές, όπως η χορήγηση φαρμακευτικών ουσιών, αλλά και στη βιομηχανία τροφίμων.

Οι υδρογέλες που παρασκευάζονται από συνθετικά πολυμερή πλεονεκτούν σε ένα βαθμό επειδή έχουν ακριβή χημική δομή και μπορούν να σχεδιαστούν σε μοριακό επίπεδο. Στον αντίποδα, οι υδρογέλες που παρασκευάζονται από συνθετικά πολυμερή δεν είναι βιοαποικοδομήσιμες και συχνά εμφανίζουν τοξικότητα. Ως εκ τούτου, η χρήση τους σε τρόφιμα, συμπληρώματα διατροφής αλλά σε βιοϊατρικές εφαρμογές είναι περιορισμένη. Οι υδρογέλες από φυτικά ή ζωικά πολυμερή, είναι στην πλειοψηφία τους βιοαποικοδομήσιμες, καθώς είναι ευπαθείς στα ανθρώπινα ένζυμα. Παράλληλα, πολυμερή όπως η χιτοζάνη, το υαλουρονικό, η πηκτίνη κ.λπ. συνοδεύονται από πολλές εφαρμογές ασφαλούς χρήσης και πολλαπλές έρευνες τεκμηριώνουν τη βιοσυμβατότητα, τη βιοαποικοδομησιμότητα και τη χαμηλή τοξικότητα τους [98].

Οι υδρογέλες στην πλειοψηφία τους παρασκευάζονται από υλικά χαμηλού κόστους, είναι εύκολες στο χειρισμό και σε πολλές περιπτώσεις έχουν συσχετιστεί με ελεγχόμενη ή και στοχευμένη αποδέσμευση των ενθυλακωμένων βιοδραστικών ενώσεων. Παρά τα πλεονεκτήματά

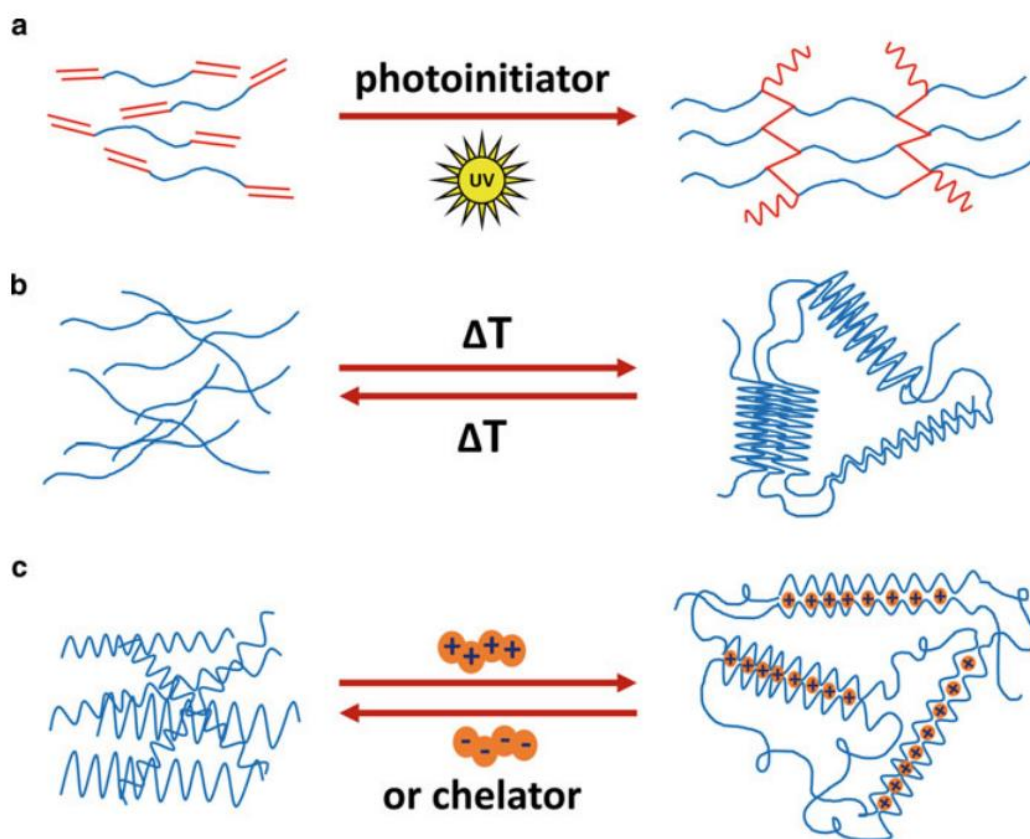
τους, οι υδρογέλες δεν χρησιμοποιούνται συχνά σε περιπτώσεις ενθυλάκωσης λιπόφιλων ενώσεων. Για αυτόν τον λόγο, οι υδρογέλες είναι δυνατόν συνδυαστούν και με μικρο- και νανο-γαλακτώματα καθώς αυτά μπορούν να ενσωματωθούν σε υδρογέλες ως μέρος της υδατικής φάσης ή αντί σπυής για την ενθυλάκωση λιπόφιλων βιοδραστικών ενώσεων [99]. Τα μικρο- και νανο-γαλακτώματα από την άλλη πλευρά παρουσιάζουν ορισμένους περιορισμούς, όπως χαμηλό ιξώδες, οι νομοθετικοί περιορισμοί στη χρήση επιφανειοενεργών ενώσεων αλλά και το κόστος παρασκευής. Ως εκ τούτου, λόγω των περιορισμών των δύο κολλοειδών συστημάτων, παρατηρείται αυξανόμενο ενδιαφέρον για τον συνδυασμό τους με αποτέλεσμα το σχηματισμό νέων υβριδικών συστημάτων [100]. Τα συστήματα που προκύπτουν, διαθέτουν διαφορετικές ιδιότητες σε σύγκριση με τα αρχικά κολλοειδή συστήματα, όπως βελτιωμένη σταθερότητα, διαφορετική υφή ενώ παράλληλα μπορούν να ενθυλακώσουν τόσο λιπόφιλες όσο και υδρόφιλες βιοδραστικές ενώσεις, να παρέχουν δυνατότητα ελεγχόμενης απελευθέρωσης της βιοδραστικής ένωσης, αυξάνουν τη βιοσυμβατότητα και βελτιώνουν το προφίλ απορρόφησης των ενθυλακούμενων ενώσεων [101].

4.2.1 Μέθοδοι παρασκευής υδρογελών

Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι κατασκευής για υδρογέλες και σε αυτό το σημείο αξίζει να σημειωθεί ότι οι διαφορετικές μέθοδοι κατασκευής προσφέρουν πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα όσον αφορά στον έλεγχο των ιδιοτήτων της γέλης και τη βιοσυμβατότητα της. Η επιλογή της μεθόδου εξαρτάται από παράγοντες όπως τα επιθυμητά χαρακτηριστικά υδρογέλης, η προβλεπόμενη χρήση και το είδος της εφαρμογής.

Οι υδρογέλες μπορούν να σχηματιστούν με μεθόδους φυσικής ζελατινοποίησης είτε με αύξηση της θερμοκρασίας ή παρουσία ιόντων. Κατά τη θερμική ζελατινοποίηση, οι αλλαγές θερμοκρασίας προκαλούν τον σχηματισμό της γέλης. Πιο συγκεκριμένα, σε χαμηλές θερμοκρασίες, το διάλυμα υδρογέλης παραμένει σε υγρή κατάσταση και καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία, οι αλυσίδες του πολυμερούς υφίστανται αλλαγές στη διαμόρφωσή τους, οδηγώντας σε σχηματισμό γέλης. Επιπλέον, η σύνδεση των πολυμερικών αλυσίδων μπορεί να επιτευχθεί μέσω της αλληλεπίδρασης μεταξύ αντίθετα φορτισμένων ιόντων. Τα πολυμερή με φορτισμένες ομάδες αναμειγνύονται με ένα διάλυμα που περιέχει ιόντα αντίθετου φορτίου, με αποτέλεσμα τη δημιουργία πηκτώματος. Επιπλέον, μπορεί να επιτευχθεί φυσική ζελατινοποίηση, δηλαδή ο σχηματισμός υδρογέλης μέσω φυσικών αλληλεπιδράσεων, όπως δεσμούς υδρογόνου και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις [102].

Παράλληλα, οι υδρογέλες μπορούν να σχηματιστούν και μέσω κλασικών αντιδράσεων πολυμερισμού. Μια πολύ συνήθης τεχνική είναι ο πολυμερισμός ελεύθερων ριζών. Αυτή η μέθοδος περιλαμβάνει τη χρήση ενός μορίου σύνδεσης (cross-linker) και ενός μορίου εκκινήτη της αντίδρασης πολυμερισμού για τον σχηματισμό ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ των πολυμερών αλυσίδων. Δημιουργούνται ελεύθερες ρίζες, που οδηγούν στη σύνδεση των πολυμερών αλυσίδων και τελικά μέσω διαδοχικών αντιδράσεων στο σχηματισμό μιας υδρογέλης. Τέλος, διάφορα ένζυμα, όπως η τρανσγλουταμινάση, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να καταλύσουν αντιδράσεις σύνδεσης μεταξύ συγκεκριμένων αμινοξέων σε υδρογέλες με βάση πεπτίδια [103].



Εικόνα 10. Ενδεικτικές μέθοδοι παρασκευής υδρογελών: α) πολυμερισμός (με εφαρμογή UV), β) αλλαγή θερμοκρασίας, γ) αλληλεπίδραση με ιόντα [104].

4.2.3 Εφαρμογές υδρογελών σε τρόφιμα και διατροφικά συμπληρώματα

Οι υδρογέλες γίνονται όλο και περισσότερο δημοφιλείς ως μέσα μεταφοράς βιοδραστικών ενώσεων. Χρησιμοποιούνται για την ενθυλάκωση τόσο υδρόφιλων όσο και λιπόφιλων ενώσεων (σε συνδυασμό με νανογαλακτώματα) και στη βιλιογραφία αναφέρονται μελέτες ενθυλάκωσης

αντιοξειδωτικών, βιταμινών, ενζύμων κ.α. Η ενθυλάκωση σε υδρογέλες έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει την απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών σε σχέση με τα αντίστοιχα όταν είναι διαλυτοποιημένα σε υδατικά διαλύματα. Ειδικότερα, πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η ενθυλάκωση κερσετίνης σε υδρογέλη πραγματοποιείται με ποσοστό επιτυχίας 90,3%. Η ποσότητα της κερσετίνης που απελευθερώνεται από το σύστημα φαίνεται ότι ήταν υψηλότερη σε σύγκριση με την ποσότητα μη ενθυλακωμένης κερσετίνης, όπως αναδείχθηκε σε *in vitro* μελέτη που βιομιμείται τη λειτουργία του λεπτού εντέρου [105]. Παρόμοια μελέτη έχει δείξει την αποτελεσματικότερη εποίκηση προβιοτικών στο λεπτό έντερο, όταν αυτά ενθυλακώθηκαν σε υδρογέλες με καρβοξυ-μεθυλοκυτταρίνη και κ-καραγεννάνη [106].

Οι βιταμίνες αποτελούν μια κατηγορία θρεπτικών συστατικών που πέραν την αντιοξειδωτική τους δράση που μπορεί να επηρεαστεί από παράγοντες όπως το pH, η θερμοκρασία κλπ, είναι ιδιαίτερα ευπαθή μόρια. Το β-καροτένιο, πρόδρομη ένωση της βιταμίνης A, έχει ενθυλακωθεί σε διάφορα συστήματα μεταφοράς, συμπεριλαμβανομένων των υδρογελών. Συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκε ενθυλάκωση σε υδρογέλη με βάση το άμυλο, ενώ παράλληλα έχει πραγματοποιηθεί εκτεταμένη έρευνα για την ελεγχόμενη αποδέσμευση αντίστοιχων λιπόφιλων ουσιών μέσα στο γαστρεντερικό σωλήνα, γεγονός που καταδεικνύει την απήχηση των υδρογελών στο πεδίο αυτό [107, 108]. Υδρογέλες από συνδυασμό κ-καρραγεννάνης και γαλακτομαννάνης παρασκευάστηκαν με σκοπό τη βελτίωση της σταθερότητας του β-καροτένιου και την καλύτερη απελευθέρωση στο λεπτό έντερο [109]. Είναι γεγονός ότι η βιταμίνη D είναι ιδιαίτερα ασταθής ένωση και εύκολα οξειδώνεται και αποικοδομείται. Για ενίσχυση της σταθερότητας της βιταμίνης D οι Jannasari et.al., ανέπτυξαν υδρογέλη με συνδυασμό ζελατίνης και σπόρους κάρδαμου για την ενθυλάκωση της βιταμίνης D. Η απόδοση ενθυλάκωσης ήταν ιδιαίτερα ικανοποιητική και επιπλέον, η ενθυλακωμένη βιταμίνη D παρουσίασε χαμηλό ποσοστό απελευθέρωσης (28%) σε προσομοιωμένο μοντέλο στομάχου και υψηλό ποσοστό απελευθέρωσης (70%) σε προσομοιωμένο μοντέλο λεπτού εντέρου. Και τα δύο πειράματα έδειξαν ότι αυτό το σύστημα μεταφοράς θα μπορούσε να βρει εφαρμογή σε τρόφιμα και ποτά για την ενίσχυση της απορρόφησης της βιταμίνης D [110]. Αντίστοιχα αποτελέσματα έχουν καταγραφεί σε ενθυλάκωση της βιταμίνης C σε υδρογέλες με βάση το κόμμι χανθάνης και το άμυλο [111].

Η κουρκουμίνη αποτελεί μια δημοφιλή βιοδραστική ουσία που έχει μελετηθεί ιδιαίτερα λόγω της χαμηλής απορρόφησης και βιοδιαθεσιμότητάς της στο γαστρεντερικό σωλήνα. Παράλληλα, εμφανίζει αντιμικροβιακές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και για αυτό το λόγο χρησιμοποιείται συχνά ως συστατικό σε διατροφικά συμπληρώματα. Οι Demislietal. ανέπτυξαν

υδρογέλες στις οποίες ενσωμάτωσαν νανογαλάκτωμα για την ενθυλάκωση της κουρκουμίνης και βιταμίνης D με σκοπό τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητάς τους σε *peros* λήψη [112]. Παράλληλα, έχει μελετηθεί η χημική σταθερότητα της κουρκουμίνης όταν αποθηκεύεται είτε σε ουδέτερες ή σε όξινες συνθήκες έτσι ώστε να αντιπροσωπεύει διαφορετικές καταστάσεις αποθήκευσης και διαφορετικά είδη τροφίμων και διατροφικών συμπληρωμάτων. Διερευνήθηκαν συμβατικά γαλακτώματα και υδρογέλες με ενθυλακωμένη κουρκουμίνη και η αποτελεσματικότητά τους ως προς την απελευθέρωση της κουρκουμίνης διαπιστώθηκε συγκρίνοντάς τα με κουρκουμίνη διεσπαρμένη σε υδατικό διάλυμα [113].

Στην πρόσφατη βιβλιογραφία, έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες σχετικά με την ανάπτυξη υδρογελών για τον εγκλεισμό αντιοξειδωτικών ενώσεων. Βιοσυμβατές υδρογέλες με βάση το πολυ-(N-ισοπροπυλακρυλαμίδιο) (PNIPAM) αναπτύχθηκαν για την ενθυλάκωση υδροξυτυροσόλης και φερούλικού οξέος με στόχο την αξιολόγηση της στοχευμένης αποδέσμευσής τους αλλά και την αντιοξειδωτική τους ικανότητα [114]. Παρόμοιες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί και για άλλες αντιοξειδωτικές ουσίες, όπως το εκχύλισμα βατόμουρου σε υδρογέλη με βάση την πρωτεΐνη ορού γάλακτος. Σε όλες τις περιπτώσεις παρατηρήθηκε ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα των ενθυλακωμένων ενώσεων παρέμεινε ίδια ή βελτιώθηκε σημαντικά σε σχέση με την αντιοξειδωτική ικανότητα των αντίστοιχων ενώσεων σε υδατικό διάλυμα. Επιπλέον, η αποδέσμευση των βιοδραστικών ενώσεων ήταν πιο βραδεία συγκριτικά με την αποδέσμευσή τους από το υδατικό διάλυμα [115].

Κεφάλαιο 5. Συμπεράσματα

Ως νανοτρόφιμο ορίζεται από την Ευρωπαϊκή επιτροπή το τρόφιμο που έχει παραχθεί, έχει υποστεί επεξεργασία ή έχει συσκευαστεί με χρήση νανοτεχνολογίας ή περιέχει συνθετικά νανοϋλικά. Τέτοιου είδους τρόφιμα μπορούν να βελτιώσουν τη χημική σταθερότητα, την απορρόφηση και τη βιοδιαθεσιμότητα βιοδραστικών θρεπτικών ενώσεων πάντα σε σύγκριση με τα συμβατικά τρόφιμα. Τα τελευταία χρόνια, οι απαιτήσεις των καταναλωτών εστιάζονται κυρίως σε θέματα ποιότητας των τροφίμων χωρίς όμως αυτά να υστερούν σε γεύση, άρωμα ή υφή. Συνεπώς, η όποια παρέμβαση θα πρέπει να διασφαλίζει τη διατήρηση της ποιότητας του τροφίμου ή του διατροφικού συμπληρώματος. Ολοένα και περισσότερα νανοτρόφιμα βρίσκουν ήδη τη θέση τους στα ράφια των αγορών με σημαντικά παραδείγματα μεγάλων εταιριών να έχουν ενσωματώσει ήδη στην παραγωγή τους τη νανοτεχνολογία.

Υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για την έρευνα στα συστήματα μεταφοράς βιοδραστικών ενώσεων, ειδικά στην περίπτωση των τροφίμων και των διατροφικών συμπληρωμάτων. Παράλληλα, αναδεικνύονται καινοτόμες στρατηγικές στον τομέα αυτό σε σύγκριση με τα συμβατικά τρόφιμα. Οι νανοφορείς, λόγω της δομής τους, επιτρέπουν την ενθυλάκωση και προστασία βιοδραστικών ενώσεων και ξεπερνούν βιολογικούς φραγμούς, όπως το επιθήλιο του λεπτού εντέρου. Ειδικότερα, η αποτελεσματική χορήγηση λιπόφιλων ουσιών αποτελεί μείζον πρόβλημα κυρίως λόγω της μείωσης της υδατοδιαλυτότητάς τους και της περιορισμένης βιοδιαθεσιμότητάς τους. Οι νανοφορείς που μελετήθηκαν σε αυτή την εργασία, θα μπορούσαν να συμβάλουν στην αντιμετώπιση προβλημάτων που σχετίζονται με την μειωμένη απορρόφηση και βιοδιαθεσιμότητα μέσω του λεπτού εντέρου και της χαμηλής υδατοδιαλυτότητας των βιοδραστικών ενώσεων.

Παράλληλα, οι νανοφορείς αυτοί παρουσιάζουν πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα, τα οποία ποικίλλουν ανάλογα με την εκάστοτε εφαρμογή. Η προσοχή και το ενδιαφέρον των ερευνητών φαίνεται να στρέφεται κυρίως στις βιταμίνες και τις αντιοξειδωτικές ενώσεις κυρίως λόγω της μεγαλύτερης πιθανότητας για χημική ή ενζυμική αλλοίωση κατά την επεξεργασία ή την αποθήκευση του τροφίμου. Πολυάριθμες μελέτες φαίνεται να εστιάζουν κυρίως στις λιπόφιλες ενώσεις, γεγονός που σε μεγάλο βαθμό δικαιολογείται από την μειωμένη απορρόφηση τους από το λεπτό έντερο λόγω της μικρής διαλυτότητάς τους στο νερό. Συμπερασματικά, η βιβλιογραφική ανασκόπηση έδειξε ότι η ενθυλάκωση των βιοδραστικών ενώσεων στους προτεινόμενους νανοφορείς βελτίωσε σημαντικά την βιοδιαθεσιμότητά τους και ενίσχυσε ιδιότητες όπως η


αντιοξειδωτική ικανότητα. Τέλος, στις περισσότερες μελέτες αναδείχθηκε η δυνατότητα στοχευμένης αποδέσμευσης των βιοδραστικών ενώσεων από τους νανοφορείς.



Παρόλο που η νανοτεχνολογία στον τομέα των τροφίμων εξελίσσεται και ολοένα και περισσότερες μελέτες επιβεβαιώνουν τα επιστημονικά αποτελέσματα, υπάρχουν ορισμένα ζητήματα που απαιτούν περαιτέρω έρευνα. Ειδικότερα, η απαίτηση για σαφή και κατάλληλο ορισμό των νανοϋλικών και των σχετιζόμενων τεχνολογιών, τίθενται ζητήματα στο πλαίσιο της αναδιατύπωσης των νόμων για τα τρόφιμα στην Ευρώπη. Επιπλέον, έχουν υιοθετηθεί ορισμοί για διάφορους όρους που σχετίζονται με την νανοτεχνολογία με σκοπό την ευθυγράμμιση των φορέων FAO/WHO/CODEX. Παράλληλα, υπάρχει απαίτηση για διαθέσιμες επικυρωμένες μεθόδους ανίχνευσης και χαρακτηρισμού των νανοϋλικών σε τρόφιμα ακόμα και αν αυτά είναι πολύπλοκα. Επιπλέον, είναι ιδιαίτερα σημαντικό να μελετάται κάθε φορά και ανά τακτικά χρονικά διαστήματα η ασφάλεια αλλά και το προφίλ ADME των νανοϋλικών καθώς αυτά αποτελούν κομμάτι νέων τεχνολογιών. Σημαντικό είναι να προσδιοριστούν οι ενδεχόμενες μακροπρόθεσμες συνέπειες στην υγεία λόγω της πρόσληψης νανοσωματιδίων μέσω των τροφίμων και των διατροφικών συμπληρωμάτων [116].

Τα τελευταία χρόνια, και ιδιαίτερα την τελευταία δεκαετία, έχουν ιδρυθεί πολλές εταιρείες που δραστηριοποιούνται στην αξιοποίηση της νανοτεχνολογίας στον κλάδο των τροφίμων και των συμπληρωμάτων διατροφής. Παραδείγματος χάριν, η AquaNova (<https://aquanova.de/>) είναι μια γερμανική εταιρεία που χρησιμοποιεί την τεχνολογία NovaSOL® με την οποία ενθυλακώνει βιοδραστικές ουσίες όπως βιταμίνες, ένζυμα, Ω-3 λιπαρά οξέα και αντιοξειδωτικά σε μικκύλια για την παραγωγή συμπληρωμάτων διατροφής. Η NutraLease™ Ltd (www.nanotechproject.tech/cpi/products/nano-sized-self-assembled-liquid-structures-nssl-supplements/) είναι εταιρεία που δραστηριοποιείται στο Ισραήλ και χρησιμοποιεί την ενθυλάκωση σε νανογαλακτώματα και άλλα κολλοειδή συστήματα με σκοπό την αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας βιοδραστικών συστατικών. Η NutraLease™ έχει αναπτύξει λιπικούς νανοφορείς που ενσωματώνονται σε τρόφιμα και σκευάσματα καλλυντικών, αυξάνοντας τη βιοδιαθεσιμότητα της επιθυμητής βιοδραστικής ουσίας. Μερικά από τα συστατικά που ενσωματώνονται στους φορείς είναι το λυκοπένιο, το β-καροτένιο, η λουτεΐνη, οι φυτοστερόλες, το συνένζυμο Q10, το λιποϊκό οξύ και τα Ω-3 λιπαρά οξέα. Παράλληλα, στην κατεύθυνση αξιοποίησης της νανοτεχνολογίας για την παρασκευή τροφίμων και συμπληρωμάτων διατροφής έχουν στραφεί και εταιρείες που μέχρι πρότινος δεν είχαν κινηθεί προς αυτή την κατεύθυνση. Για παράδειγμα η Lanes (www.laneshealth.gr), η Solgar (www.solgar.gr) και η Doctor'sFormulas (www.doctorsformulas.com)

έχουν ήδη λανσάρι στην αγορά συμπληρώματα διατροφής, βασισμένα σε λιποσωμιακές συνθέσεις, για την ενθυλάκωση κυρίως των βιταμινών C, D και βιταμινών του συμπλέγματος B, του συνένζυμου Q10 και διαφόρων αντιοξειδωτικών όπως κερσετίνη, λυκοπένιο κλπ, με στόχο την αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας αυτών των βιοδραστικών συστατικών. Ενδεικτικά, παρουσιάζονται μερικές από τις εταιρείες που έχουν ενσωματώσει τη σύνθεση τέτοιων συμπληρωμάτων διατροφής στην παραγωγική τους διαδικασία, καθώς και ορισμένα από τα αντίστοιχα προϊόντα.

Εταιρεία	Προϊον	Περιγραφή	Φωτογραφία Προϊόντος
Doctor Formula's	Magnesium Gluconate 100mg	Συμπλήρωμα διατροφής που περιέχει γλυκονικό μαγνήσιο και δυγλυκινικό μαγνήσιο, σε λιποσωμιακη φόρμουλα υγρής μορφής	
Doctor Formula's	Vitamin C 1000mg	Συμπλήρωμα διατροφής που περιέχει βιταμίνη C, σε λιποσωμιακη φόρμουλα υγρής μορφής	
Doctor Formula's	Co Q10 100mg	Συμπλήρωμα διατροφής που περιέχει συνένζυμο Q10 σε λιποσωμιακη φόρμουλα υγρής μορφής	

Doctor Formula's	B - Complex	Συμπλήρωμα διατροφής που περιέχει βιταμίνες του συμπλέγματος Β σε λιποσωματική φόρμουλα υγρής μορφής	
Doctor Formula's	Vitamin B12 Spray	Συμπλήρωμα διατροφής που περιέχει βιταμίνη Β12 σε λιποσωματική φόρμουλα -σε μορφή spray	
Lanes	Lanes Liposomal Vitamin C 1000mg (10x10ml)	Βιταμίνη C σε λιποσωματική μορφή	
Solgar	Liposomal melatonin Sleep spray	Συμπλήρωμα διατροφής με μελατονίνη σε λιποσωματική φόρμουλα – σε μορφή spray	
BioCare	MicroCell CoQ10 200	Συμπλήρωμα διατροφής με συνένζυμο Q10ενθυλακωμένο σε νανογαλακτωμα – Το νανογαλάκτωμα εισάγεται σε κάψουλα	
BioCare	MicroCellCurcumin Tumeric Complex	Συμπλήρωμα διατροφής με κουρκουμίνη ενθυλακωμένη σε νανογαλακτωμα – Το νανογαλάκτωμα εισάγεται σε κάψουλα	

BioCare	Nutrisorb®BioMulsion® D 15ml	Συμπλήρωμα διατροφής με βιταμίνη D ενθυλακωμένη σε νανογαλακτωμα	
Hubner	SiliceaGastrointestinal Gel	Υδρογέλη με κύριο συστατικό το οξείδιο πυριτίου για την αντιμετώπιση γαστρεντερικών διαταραχών	

Από τα παραπάνω παραδείγματα φαίνεται ότι η τάση της αγοράς των συμπληρωμάτων διατροφής κινείται προς την κατεύθυνση της αξιοποίησης της νανοτεχνολογίας. Ιδιαίτερα δημοφιλή είναι τα συμπληρώματα διατροφής με λιποσωματική σύνθεση, τα νανογαλακτώματα και οι υδρογέλες. Στις περισσότερες περιπτώσεις οι εταιρείες αξιοποιούν αυτές τις συνθέσεις είτε για αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας των ενθυλακωμένων βιοδραστικών συστατικών ή για προστασία αυτών από την οξείδωση ή την χημική/ενζυμική αλλοίωση και συνεπώς, την επιμήκυνση χρόνου ζωής του εκάστοτε προϊόντος.

Βιβλιογραφία

- [1] M. Rawat, D. Singh, S. Saraf, S. Saraf, Nanocarriers: Promising Vehicle for Bioactive Drugs, *Biol. Pharm. Bull.* 29 (2006) 1790–1798.
- [2] B. Mishra, B.B. Patel, S. Tiwari, Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery, *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* 6 (2010) 9–24.
- [3] H.R. Dhanasekaran, P. Haridoss, *Drug delivery nanosystems—An introduction*, Elsevier Inc., 2018.
- [4] Demisli, S., Chatzidaki, M. D., Xenakis, A., & Papadimitriou, V. (2022). Recent progress on nanocarriers fabrication for food applications with special reference to olive oil-based systems. *Current Opinion in Food Science*, 43, 146-154.
- [5] Bilia, A. R., Isacchi, B., Righeschi, C., Guccione, C., & Bergonzi, M. C. (2014). Flavonoids loaded in nanocarriers: an opportunity to increase oral bioavailability and bioefficacy. *Food and Nutrition Sciences*, 2014.
- [6] Deutch-Kolevzon, R., Aserin, A., & Garti, N. (2011). Synergistic cosolubilization of omega-3 fatty acid esters and CoQ10 in dilutable microemulsions. *Chemistry and physics of lipids*, 164(7), 654-663.
- [7] Narang, A. S., Delmarre, D., & Gao, D. (2007). Stable drug encapsulation in micelles and microemulsions. *International journal of pharmaceutics*, 345(1-2), 9-25.
- [8] Zhou, H., & McClements, D. J. (2022). Recent advances in the gastrointestinal fate of organic and inorganic nanoparticles in foods. *Nanomaterials*, 12(7), 1099.
- [9] Shinoda, K., & Lindman, B. (1987). Organized surfactant systems: microemulsions. *Langmuir*, 3(2), 135-149.
- [10] Papadimitriou, V., Pispas, S., Syriou, S., Pournara, A., Zoumpanioti, M., Sotiroudis, T. G., & Xenakis, A. (2008). Biocompatible microemulsions based on limonene: Formulation, structure, and applications. *Langmuir*, 24(7), 3380-3386.
- [11] Stoeckenius, W., Schulman, J. H., & Prince, L. M. (1960). The structure of myelin figures and microemulsions as observed with the electron microscope. *Kolloid-Zeitschrift*, 169, 170-180.
- [12] Flanagan, J., & Singh, H. (2006). Microemulsions: a potential delivery system for bioactives in

food. *Critical reviews in food science and nutrition*, 46(3), 221-237.

[13] McClements, D. J., & Rao, J. (2011). Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(4), 285-330.

[14] Santana, R. C., Perrechil, F. A., & Cunha, R. L. (2013). High-and low-energy emulsifications for food applications: a focus on process parameters. *Food Engineering Reviews*, 5, 107-122.

[15] McClements, D. J. (2012). Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *Soft matter*, 8(6), 1719-1729.

[16] Koroleva, M. Y., & Yurtov, E. V. (2012). Nanoemulsions: the properties, methods of preparation and promising applications. *Russian Chemical Reviews*, 81(1), 21.

[17] Wang, L., Li, X., Zhang, G., Dong, J., & Eastoe, J. (2007). Oil-in-water nanoemulsions for pesticide formulations. *Journal of colloid and interface science*, 314(1), 230-235.

[18] Hines, J. D., Thomas, R. K., Garrett, P. R., Rennie, G. K., & Penfold, J. (1997). Investigation of mixing in binary surfactant solutions by surface tension and neutron reflection: anionic/nonionic and zwitterionic/nonionic mixtures. *The Journal of Physical Chemistry B*, 101(45), 9215-9223.

[19] Von Rybinski, W., Guckenbiehl, B., & Tesmann, H. (1998). Influence of co-surfactants on microemulsions with alkyl polyglycosides. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 142(2-3), 333-342.

[20] Katouzian, I., & Jafari, S. M. (2016). Nano-encapsulation as a promising approach for targeted delivery and controlled release of vitamins. *Trends in Food Science & Technology*, 53, 34-48.

[21] Ezhilarasi, P. N., Karthik, P., Chhanwal, N., & Anandharamakrishnan, C. (2013). Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and bioprocess technology*, 6, 628-647.

[22] McClements, D. J., & Rao, J. (2011). Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(4), 285-330.

[23] Qian, C., & McClements, D. J. (2011). Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size. *Food hydrocolloids*, 25(5), 1000-1008.

[24] Delmas, T., Piraux, H., Couffin, A. C., Texier, I., Vinet, F., Poulin, P. & Bibette, J. (2011). How to prepare and stabilize very small nanoemulsions. *Langmuir*, 27(5), 1683-1692.

[25] Loureiro, A., G Azoia, N., C Gomes, A., & Cavaco-Paulo, A. (2016). Albumin-based nanodevices as

drug carriers. *Current pharmaceutical design*, 22(10), 1371-1390.

[26] Lee, L., & Norton, I. T. (2013). Comparing droplet breakup for a high-pressure valve homogeniser and a microfluidizer for the potential production of food-grade nanoemulsions. *Journal of food engineering*, 114(2), 158-163.

[27] Abbas, S., Hayat, K., Karangwa, E., Bashari, M., & Zhang, X. (2013). An overview of ultrasound-assisted food-grade nanoemulsions. *Food Engineering Reviews*, 5, 139-157.

[28] Modarres-Gheisari, S. M. M., Gavagsaz-Ghoachani, R., Malaki, M., Safarpour, P., & Zandi, M. (2019). Ultrasonic nano-emulsification—A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 52, 88-105.

[29] Solans, C., & Solé, I. (2012). Nano-emulsions: formation by low-energy methods. *Current opinion in colloid & interface science*, 17(5), 246-254.

[30] Komaiko, J. S., & McClements, D. J. (2016). Formation of food-grade nanoemulsions using low-energy preparation methods: A review of available methods. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 15(2), 331-352..

[31] Gupta, A., Eral, H. B., Hatton, T. A., & Doyle, P. S. (2016). Nanoemulsions: formation, properties and applications. *Soft matter*, 12(11), 2826-2841.

[32] Ye, D., Shen, L., Sun, Y., Zhang, D., Tan, X., Jing, P. & Tian, Q. (2021). Formulation and evaluation of a α -linolenic acid and vitamin E succinate microemulsion with low surfactant content and free of co-surfactant for use as a nutritional supplement. *Food Chemistry*, 364, 130433.

[33] Garavand, F., Jalai-Jivan, M., Assadpour, E., & Jafari, S. M. (2021). Encapsulation of phenolic compounds within nano/microemulsion systems: A review. *Food Chemistry*, 364, 130376.

[34] Ho, M. J., Im, S. H., Jeong, H. T., Kim, H. T., Lee, J. E., Won, D. H. & Kang, M. J. (2020). Preparation and in vivo pharmacokinetic evaluation of stable microemulsion system of cholecalciferol. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 41(11), 1589-1595.

[35] Demisli, S., Theochari, I., Christodoulou, P., Zervou, M., Xenakis, A., & Papadimitriou, V. (2020). Structure, activity and dynamics of extra virgin olive oil-in-water nanoemulsions loaded with vitamin D3 and calcium citrate. *Journal of Molecular Liquids*, 306, 112908.

[36] Golfomitsou, I., Mitsou, E., Xenakis, A., & Papadimitriou, V. (2018). Development of food grade O/W nanoemulsions as carriers of vitamin D for the fortification of emulsion based food matrices: A structural and activity study. *Journal of Molecular Liquids*, 268, 734-742.

[37] Inapurapu, S. P., Ibrahim, A., Kona, S. R., Pawar, S. C., Bodiga, S., & Bodiga, V. L. (2020). Development and characterization of ω -3 fatty acid nanoemulsions with improved physicochemical stability and bioaccessibility. *Colloids and Surfaces a: Physicochemical and Engineering Aspects*, 606,

125515.

- [38] Gumus, C. E., & Gharibzahedi, S. M. T. (2021). Yogurts supplemented with lipid emulsions rich in omega-3 fatty acids: New insights into the fortification, microencapsulation, quality properties, and health-promoting effects. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 267-279.
- [39] Mondal, S., Ghosh, S., & Moulik, S. P. (2016). Stability of curcumin in different solvent and solution media: UV-visible and steady-state fluorescence spectral study. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 158, 212-218.
- [40] Liu, W., Pan, N., Han, Y., Li, D., & Chai, J. (2021). Solubilization, stability and antioxidant activity of curcumin in a novel surfactant-free microemulsion system. *LWT*, 147, 111583.
- [41] Smułek, W., & Jarzębski, M. (2023). Hemp seed oil nanoemulsion with *Sapindus saponins* as a potential carrier for iron supplement and vitamin D. *Reviews on Advanced Materials Science*, 62(1), 20220317.
- [42] Maherani, B., Arab-Tehrany, E., R Mozafari, M., Gaiani, C., & Linder, M. (2011). Liposomes: a review of manufacturing techniques and targeting strategies. *Current nanoscience*, 7(3), 436-452.
- [43] Laouini, A., Jaafar-Maalej, C., Limayem-Blouza, I., Sfar, S., Charcosset, C., & Fessi, H. (2012). Preparation, characterization and applications of liposomes: state of the art. *Journal of Colloid Science and Biotechnology*, 1(2), 147-168.
- [44] Gopi, S., & Balakrishnan, P. (2021). Evaluation and clinical comparison studies on liposomal and non-liposomal ascorbic acid (vitamin C) and their enhanced bioavailability. *Journal of liposome research*, 31(4), 356-364.
- [45] Li, Z. L., Peng, S. F., Chen, X., Zhu, Y. Q., Zou, L. Q., Liu, W., & Liu, C. M. (2018). Pluronic modified liposomes for curcumin encapsulation: Sustained release, stability and bioaccessibility. *Food research international*, 108, 246-253.
- [46] Hosseini, S. F., Ansari, B., & Gharsallaoui, A. (2022). Polyelectrolytes-stabilized liposomes for efficient encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* and improvement of its survivability under adverse conditions. *Food Chemistry*, 372, 131358.
- [47] Rasti, B., Erfanian, A., & Selamat, J. (2017). Novel nanoliposomal encapsulated omega-3 fatty acids and their applications in food. *Food Chemistry*, 230, 690-696.
- [48] Zimovina, L. V., & Gorshkov, G. I. (2015). Influence of silymarin in liposomal form on the quality of boiler meat. *Polythematic Online Scientific Journal of Kuban State Agrarian University*.
- [49] Abbina, S., & Parambath, A. (2018). PEGylation and its alternatives: A summary. In *Engineering of biomaterials for drug delivery systems* (pp. 363-376). Woodhead Publishing.

- [50] Nakhaei, P., Margiana, R., Bokov, D. O., Abdelbasset, W. K., Jadidi Kouhbanani, M. A., Varma, R. S. & Beheshtkhoo, N. (2021). Liposomes: structure, biomedical applications, and stability parameters with emphasis on cholesterol. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 748.
- [51] Euliss, L. E., DuPont, J. A., Gratton, S., & DeSimone, J. (2006). Imparting size, shape, and composition control of materials for nanomedicine. *Chemical Society Reviews*, 35(11), 1095-1104.
- [52] Bozzuto, G., & Molinari, A. (2015). Liposomes as nanomedical devices. *International journal of nanomedicine*, 10, 975.
- [53] Fan, Y., & Zhang, Q. (2013). Development of liposomal formulations: From concept to clinical investigations. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8(2), 81-87.
- [54] Gonzalez Gomez, A., & Hosseinidoust, Z. (2020). Liposomes for antibiotic encapsulation and delivery. *ACS infectious diseases*, 6(5), 896-908.
- [55] Sharma, A., & Sharma, U. S. (1997). Liposomes in drug delivery: progress and limitations. *International journal of pharmaceutics*, 154(2), 123-140.
- [56] Theochari, I., Xenakis, A., & Papadimitriou, V. (2020). Nanocarriers for effective drug delivery. In *Smart Nanocontainers* (pp. 315-341). Elsevier.
- [57] Zhang, H. (2017). Thin-film hydration followed by extrusion method for liposome preparation. *Liposomes: Methods and protocols*, 17-22.
- [58] Shah, S., Dhawan, V., Holm, R., Nagarsenker, M.S. and Perrie, Y., 2020. Liposomes: Advancements and innovation in the manufacturing process. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 154, pp.102-122.
- [59] Jaradat, E., Weaver, E., Meziane, A., & Lamprou, D. A. (2021). Microfluidics technology for the design and formulation of nanomedicines. *Nanomaterials*, 11(12), 3440.
- [60] Pidgeon, C., McNeely, S., Schmidt, T. and Johnson, J.E., 1987. Multilayered vesicles prepared by reverse-phase evaporation: liposome structure and optimum solute entrapment. *Biochemistry*, 26(1), pp.17-29.
- [61] Li, C., & Deng, Y. (2004). A novel method for the preparation of liposomes: freeze drying of monophasic solutions. *Journal of pharmaceutical sciences*, 93(6), 1403-1414.
- [62] Uhumwangho, M. U., & Okor, R. S. (2005). Current trends in the production and biomedical applications of liposomes: a review. *J. Med. Biomed. Res*, 4, 9-21.
- [63] Mohammadi, A., Jafari, S. M., Mahoonak, A. S., & Ghorbani, M. (2021). Liposomal/nanoliposomal encapsulation of food-relevant enzymes and their application in the food industry. *Food and Bioprocess Technology*, 14, 23-38.

- [64] Raveendran, S., Parameswaran, B., Beevi Ummalyima, S., Abraham, A., Kuruvilla Mathew, A., Madhavan, A., Rebello, S., & Pandey, A. (2018). Applications of microbial enzymes in food industry. *Food Technology and Biotechnology*, 56(1), 16–30.
- [65] Whitehurst, R. J., & Law, B. A. (2002). *Enzymes in food technology*, Wiley Online Library.
- [66] Hsieh, Y. F., Chen, T. L., Wang, Y. T., Chang, J. H., & Chang, H. M. (2002). Properties of liposomes prepared with various lipids, *Journal of Food Science*, 67(8), 2808–2813.
- [67] Rodríguez-Nogales, J. M., & López, A. D. (2006). A novel approach to develop β -galactosidase entrapped in liposomes in order to prevent an immediate hydrolysis of lactose in milk. *International Dairy Journal*, 16(4), 354–360.
- [68] Macario, A., Verri, F., Diaz, U., Corma, A., & Giordano, G. (2013). Pure silica nanoparticles for liposome/lipase system encapsulation: application in biodiesel production. *Catalysis Today*, 204, 148–155.
- [69] Dalmoro, A., Bochicchio, S., Lamberti, G., Bertocin, P., Janssens, B., Barba, A.A., (2019), Micronutrients encapsulation in enhanced nanoliposomal carriers by a novel preparative technology. *RSC Adv.*, 9, 19800–19812.
- [70] Banville, C., Vuilleumard, J. C., & Lacroix, C. (2000). Comparison of different methods for fortifying Cheddar cheese with vitamin D. *International Dairy Journal*, 10(5-6), 375-382.
- [71] Wechtersbach, L., Ulrich, N. P., & Cigić, B. (2012). Liposomal stabilization of ascorbic acid in model systems and in food matrices. *LWT-food science and technology*, 45(1), 43-49.
- [72] Liu, X., Wang, P., Zou, Y. X., Luo, Z. G., & Tamer, T. M. (2020). Co-encapsulation of Vitamin C and β -Carotene in liposomes: Storage stability, antioxidant activity, and in vitro gastrointestinal digestion. *Food Research International*, 136, 109587.
- [73] Imani, S., Alizadeh, A., Tabibiazar, M., Hamishehkar, H., & Roufegarinejad, L. (2022). Nanoliposomal co-encapsulation of cinnamon extract and zein hydrolysates with synergistic antioxidant activity for nutraceutical applications. *Chemical Papers*, 76(4), 2059-2069.
- [74] Feng, S., Sun, Y., Wang, P., Sun, P., Ritzoulis, C., & Shao, P. (2020). Co-encapsulation of resveratrol and epigallocatechin gallate in low methoxyl pectin-coated liposomes with great stability in orange juice. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(5), 1872-1880.
- [75] Vellido-Perez, J. A., Ochando-Pulido, J. M., Brito-de la Fuente, E., & Martinez-Ferez, A. (2021). Novel emulsions-based technological approaches for the protection of omega-3 polyunsaturated fatty acids against oxidation processes—A comprehensive review. *Food Structure*, 27, 100175.
- [76] Choudhary, P., Dutta, S., Moses, J. A., & Anandharamakrishnan, C. (2022). Liposomal

encapsulation of omega-3 fatty acid and α -lipoic acid conjugate for cow milk fortification. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(9), e16082.

[77] Idrees, H., Zaidi, S. Z. J., Sabir, A., Khan, R. U., Zhang, X., & Hassan, S. U. (2020). A review of biodegradable natural polymer-based nanoparticles for drug delivery applications. *Nanomaterials*, 10(10), 1970.

[78] Del Valle, E. M. (2004). Cyclodextrins and their uses: a review. *Process biochemistry*, 39(9), 1033-1046.

[79] Zielenkiewicz, W., Terekhova, I., Marcinowicz, A., Koźbial, M., & Poznanski, J. (2008). Interactions of native and modified cyclodextrins with some B-vitamins. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 93(2), 365-372.

[80] Zhou, J., Jia, J., He, J., Li, J., & Cai, J. (2022). Cyclodextrin Inclusion Complexes and Their Application in Food Safety Analysis: Recent Developments and Future Prospects. *Foods*, 11(23), 3871.

[81] Marques, H. M. C. (2010). A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. *Flavour and fragrance journal*, 25(5), 313-326.

[82] Dodziuk, H. (2006). *Cyclodextrins and their complexes: chemistry, analytical methods, applications*: John Wiley & Sons.

[83] Liu, L., & Guo, Q.-X. (2004). Use of quantum chemical methods to study cyclodextrin chemistry. *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, 50(1-2), 95-103.

[84] Szente, L., & Szejtli, J. (2004). Cyclodextrins as food ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 15(3-4), 137-142.

[85] de Vos, P., Faas, M. M., Spasojevic, M., & Sikkema, J. (2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International dairy journal*, 20(4), 292-302.

[86] Charoenchaitrakool, M., Dehghani, F., & Foster, N. R. (2002). Utilization of supercritical carbon dioxide for complex formation of ibuprofen and methyl- β -cyclodextrin. *International journal of pharmaceuticals*, 239(1-2), 103-112.

[87] Shiozawa, R., Inoue, Y., Murata, I., & Kanamoto, I. (2017). Effect of antioxidant activity of caffeic acid with cyclodextrins using ground mixture method. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*.

[88] McKee, D., & Karwic, A. (2009). Product and method for oral administration of nutraceuticals. In: Google Patents.

[89] Byun, Y., Kim, Y. T., Desai, K. G. H., & Park, H. J. (2010). Microencapsulation techniques for food

flavour. The chemistry and biology of volatiles. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 307-332

[90] Shanmei, Y. X. D. H. X., & Jiaoying, Y. Y. Q. (2003). Preparation for β -Cyclodextrin Inclusion Compound of Volatile Oil of Jinhua Bergamot [J]. *Journal of Jinhua College of Profession and Technology*, 1, 012.

[91] Tamamoto, L. C., Schmidt, S. J., & Lee, S. Y. (2010). Sensory properties of ginseng solutions modified by masking agents. *Journal of food science*, 75(7).

[92] Encina, C., Vergara, C., Giménez, B., Oyarzún-Ampuero, F., & Robert, P. (2016). Conventional spray-drying and future trends for the microencapsulation of fish oil. *Trends in Food Science & Technology*, 56, 46-60.

[93] Polyakov, N. E., & Kispert, L. D. (2015). Water soluble biocompatible vesicles based on polysaccharides and oligosaccharides inclusion complexes for carotenoid delivery. *Carbohydrate Polymers*, 128, 207-219.

[94] Gaudette, N. J., & Pickering, G. J. (2012). The efficacy of bitter blockers on health-relevant bitterants. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 177-184.

[95] Moriyama, H., Saito, Y., & Bagchi, D. (2013). Characterization of cyclodextrin nanoparticles as emulsifiers. In *Bio-nanotechnology* (pp. 476–486). John Wiley & Sons, Ltd.)

[96] Inoue, M., Hashizaki, K., Taguchi, H., & Saito, Y. (2010). Emulsifying ability of β -cyclodextrins for common oils. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 31(12), 1648–1651

[97] (Lai, W.F.; Rogach, A.L. Hydrogel-based materials for delivery of herbal medicines. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2017, 9, 11309–11320 & Peppas, N.A.; Hilt, J.Z.; Khademhosseini, A.; Langer, R. Hydrogels in biology and medicine: from molecular principles to bionanotechnology. *Adv. Mater.* 2006, 18, 1345–1360).

[98] Hoffman, A.S. Hydrogels for biomedical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2002, 43, 3–12).

[99] Komaiko, J.; McClements, D.J. Food-grade nanoemulsion filled hydrogels formed by spontaneous emulsification and gelation: Optical properties, rheology, and stability

[100] (Rostamia, H.; Nikoo, A.M.; Rajabzadeh, G.; Niknia, N.; Salehi, S. Development of cumin essential oil nanoemulsions and its emulsion filled hydrogels. *Food Biosci.* 2018, 26, 126–132.)

[101] Demisli, S., Galani, E., Goulielmaki, M., Kyrilidis, F. L., Ilić, T., Hamdi, F. & Papadimitriou, V. (2023). Encapsulation of cannabidiol in oil-in-water nanoemulsions and nanoemulsion-filled hydrogels: A structure and biological assessment study. *Journal of Colloid and Interface Science*, 634, 300-313).

[102] Zhang, H., Zhang, F., & Yuan, R. (2020). Applications of natural polymer-based hydrogels in the food industry. In *Hydrogels based on natural polymers* (pp. 357-410). Elsevier.

- [103] Gulrez, S. K., Al-Assaf, S., & Phillips, G. O. (2011). Hydrogels: methods of preparation, characterisation and applications. Progress in molecular and environmental bioengineering-from analysis and modeling to technology applications, 117150.
- [104] Arumugasaamy, N., Baker, H. B., Kaplan, D. S., Kim, P. C. W., & Fisher, J. P. (2016). Fabrication and printing of multi-material hydrogels. *3D Printing and Biofabrication*; Ovsianikov, A., Yoo, J., Mironov, V., Eds, 1-34
- [105] Ibrahim, S. M., Yin, T. Y., & Misran, M. (2020). Arabic gum grafted PEGDMA hydrogels: synthesis, physico-chemical characterization and in-vitro release of hydrophobic drug. *Macromolecular Research*, 28, 1220-1231.
- [106] Dafe, A., Etemadi, H., Zarredar, H., Mahdavinia, G.R. (2017), Development of novel carboxymethyl cellulose/k-carrageenan blends as an enteric delivery vehicle for probiotic bacteria. *Int. J. Biol. Macromol.* 2017, 97, 299–307.
- [107] Mun, S., Kim, Y.-R., McClements D.J. (2015) Control of β -carotene bioaccessibility using starch-based filled hydrogels. *Food Chem.*, 173, 454–461.
- [108] Zhang, Z., Zhang, R., Chen, L., Tong, Q., McClements, D.J. (2015) Designing hydrogel particles for controlled or targeted release of lipophilic bioactive agents in the gastrointestinal tract. *Eur. Polym. J.*, 72, 698–716.
- [109] Soares, P.A.G., de Seixas, J.R.P., Albuquerque, P.B.S., Santos, G.R.C., Mourao, P.A.S., Barros, W., Jr., Correia, M.T.S., Carneiro-da Cunha, M.G. (2015) Development and characterization of a new hydrogel based on galactomannan and kappa-carrageenan. *Carbohydr.Polym.*, 134, 673–67.
- [110] Jannasari, N., Fathi, M., Moshtaghian, S. J., & Abbaspourrad, A. (2019). Microencapsulation of vitamin D using gelatin and cress seed mucilage: Production, characterization and in vivo study. *International journal of biological macromolecules*, 129, 972-979.
- [111] Jiang, G. L., & Zhu, M. J. (2019). Preparation of astaxanthin-encapsulated complex with zein and oligochitosan and its application in food processing. *Lwt*, 106, 179-185.
- [112] Demisli, S., Mitsou, E., Pletsas, V., Xenakis, A., & Papadimitriou, V. (2020). Development and study of nanoemulsions and nanoemulsion-based hydrogels for the encapsulation of lipophilic compounds. *Nanomaterials*, 10(12), 2464.
- [113] Zheng, B., Zhang, Z., Chen, F., Luo, X., & McClements, D. J. (2017). Impact of delivery system type on curcumin stability: Comparison of curcumin degradation in aqueous solutions, emulsions, and hydrogel beads. *Food Hydrocolloids*, 71, 187-197.
- [114] Casadey, R., Broglia, M., Barbero, C., Criado, S., & Rivarola, C. (2020). Controlled release

systems of natural phenolic antioxidants encapsulated inside biocompatible hydrogels. *Reactive and Functional Polymers*, 156, 104729.

[115] Betz, M., Steiner, B., Schantz, M., Oidtmann, J., Mäder, K., Richling, E., & Kulozik, U. (2012). Antioxidant capacity of bilberry extract microencapsulated in whey protein hydrogels. *Food Research International*, 47(1), 51-57.

[116] Sekhon, B. S. (2010). Food nanotechnology—an overview. *Nanotechnology, science and applications*, 3, 1.

Ηλεκτρονικές Πηγές

<https://www.creative-biostructure.com/mempro-liposome-preparation-by-reverse-phase-evaporation-516.htm>

<https://www.genizer.com/art/liposome-extruder.html>

<https://biotecnologiasi.tumblr.com/post/124853665403/la-arqueobacteria-que-convirti%C3%B3-una-patata-en-el>

<https://aquanova.de/>

www.nanotechproject.tech/cpi/products/nano-sized-self-assembled-liquid-structures-nssl-supplements/

www.laneshealth.gr

www.solgar.gr

www.doctorsformulas.com

Πίνακας περιεχομένων εικόνων

Εικόνα 1. Τύποι μικρογαλακτωμάτων: (α) μικρογαλακτώματα ελαίου-σε-νερό (o/w), (β) δισυνεχείς διασπορές, (γ) μικρογαλακτώματα νερού-σε-έλαιο (w/o) [14].	16
Εικόνα 2. Σχηματική απεικόνιση επιφανειενεργού μορίου (αριστερά) και μικκυλίου (δεξιά) [18].	19
Εικόνα 3. Σχηματισμός νανογαλακτωμάτων με την εφαρμογή μεθόδου ομογενοποίησης υψηλής ενέργειας [25].	21
Εικόνα 4. Σχηματική απεικόνιση ομογενοποίησης νανογαλακτώματος με χρήση υπερήχων [28].	22
Εικόνα 5. Σχηματικό διάγραμμα του προτεινόμενου μηχανισμού σχηματισμού νανογαλακτωμάτων με τη μέθοδο αναστροφής φάσης. Το νερό προστίθεται σε μείγμα επιφανειοδραστικής ουσίας-ελαίου με συνεχή ανάδευση [30].	23
Εικόνα 6. Σχηματική αναπαράσταση της δομής ενός μικκυλίου (αριστερά), ενός λιποσώματος (κέντρο) και μιας λιπιδικής διπλοστιβάδας (δεξιά) [51].	28
Εικόνα 7. Σχηματική αναπαράσταση της μεθόδου εξάτμισης διαλύτη [58].	31
Εικόνα 8. Σχηματική αναπαράσταση της μεθόδου εξάτμισης διαλύτη με αναστροφή φάσης. (https://www.creative-biostructure.com/mempro-liposome-preparation-by-reverse-phase-evaporation-516.htm)	32
Εικόνα 9. Δομές των α-, β- και γ-κυκλοδεξτρινών (https://biotechnologias.tumblr.com/post/124853665403/la-arqueobacteria-que-convirti%C3%B3-una-patata-en-el)	37
Εικόνα 10. Ενδεικτικές μέθοδοι παρασκευής υδρογελών: α) πολυμερισμός (με εφαρμογή UV), β) αλλαγή θερμοκρασίας, γ) αλληλεπίδραση με ιόντα [103].	43

Πίνακας περιεχομένων πινάκων

Πίνακας 1. Διαφορές μικρογαλακτωμάτων, νανογαλακτωμάτων και συμβατικών γαλακτωμάτων [15].	17
Πίνακας 2. Ενδεικτικά παραδείγματα ενθυλάκωσης βιοδραστικών ενώσεων σε κυκλοδεξτρίνες για χρήση σε τρόφιμα και διατροφικά συμπληρώματα.	40