

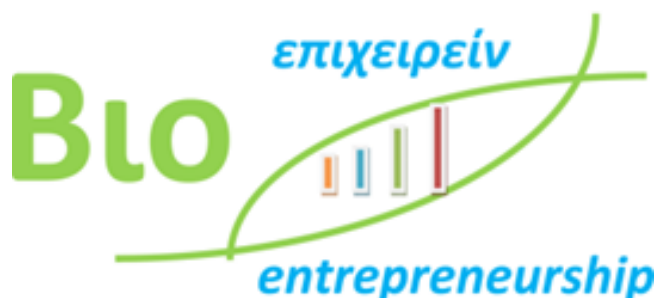


ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ



ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΕΡΕΥΝΩΝ
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΧΗΜΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

**ΔΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΒΙΟΕΠΙΧΕΙΡΕΙΝ**



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Διπλά γαλακτώματα ως μέσα μεταφοράς βιοδραστικών ουσιών.
Εφαρμογές στον τομέα των τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών»**

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: Δρ. Βασιλική Παπαδημητρίου, Ερευνήτρια Β

Παυλίνα Προύσκα

A.M.: 00133

Αθήνα, 2024

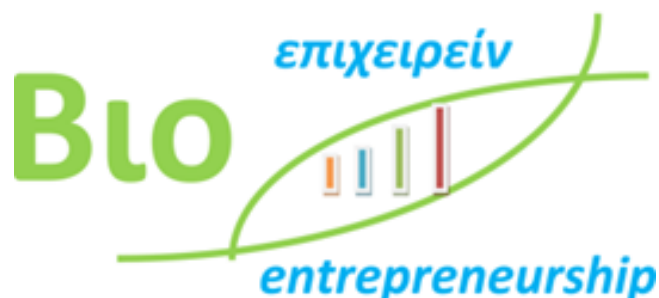


UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY AND
BIOTECHNOLOGY



NATIONAL HELLENIC RESEARCH FOUNDATION
INSTITUTE OF CHEMICAL BIOLOGY

INTERSTITUTIONAL PROGRAM OF POSTGRADUATE STUDIES
IN
BIOENTREPRENEURSHIP



MASTER THESIS

**“Double emulsions as carriers of bioactive substances.
Applications in the field of food, medicine and cosmetics”**

SUPERVISOR: Dr. Vassiliki Papadimitriou, Researcher B

Pavlina Prouska

A.M.: 00133

Athens, 2024

Ευχαριστίες

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών «Βιοεπιχειρείν» του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας – Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας σε συνεργασία με το Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών και υπό την επίβλεψη της Δρ. Παπαδημητρίου Βασιλικής, Κύρια Ερευνήτρια στο Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Επιβλέπουσα Καθηγήτριά μου κυρία Παπαδημητρίου Βασιλική για όλη την καθοδήγηση και στήριξή της. Θα ήθελα ακόμα να ευχαριστήσω και όλους τους υπόλοιπους συντελεστές του παρόντος μεταπτυχιακού προγράμματος.

Θα ήθελα ακόμα να ευχαριστήσω την Δρ. Πλέτσα Βασιλική, Κύρια Ερευνήτρια στο Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών και την Επίκουρη Καθηγήτρια Σκαμνάκη Βασιλική του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας που μου έκαναν την τιμή να είναι μέλη της Τριμελούς Επιτροπής μου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου που είναι πάντα δίπλα μου και με στηρίζει σε ό,τι κάνω.

Πίνακας Περιεχομένων

Ευχαριστίες.....	3
Πίνακας Περιεχομένων	4
Περίληψη	6
Λέξεις-κλειδιά:	7
Summary.....	8
Key words:.....	8
Σκοπός.....	9
1.0 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
1.1 Διπλά Γαλακτώματα: Ορισμός – Προέλευση.....	10
1.2 Μέθοδοι Παρασκευής και Σταθερότητα Διπλών Γαλακτωμάτων.....	12
1.2.1 Γαλακτωματοποιητές.....	12
1.2.2 Γαλακτωματοποίηση Δύο Σταδίων.....	14
1.2.3 Επιπλέον Τεχνικές Γαλακτωματοποίησης.....	16
1.2.3.1 Μέθοδος Αναστροφής Φάσης.....	16
1.2.3.2 Γαλακτωματοποίηση Μεμβράνης.....	16
1.2.3.3 Ομογενοποίηση Υψηλής Πίεσης.....	16
1.2.3.4 Χρήση Υπερήχων.....	17
1.2.3.5 Εξάτμιση Ελαίου.....	17
1.2.3.6 Μεταφορά Σταγονιδίων.....	17
1.2.4 Σταθερότητα Διπλών Γαλακτωμάτων.....	17
1.3 Πλεονεκτήματα Χρήσης Διπλών Γαλακτωμάτων – Μεταφορά Βιοδραστικών Ουσιών.....	21
2.0 ΚΥΡΙΟ ΜΕΡΟΣ.....	23
2.1 Εφαρμογές Διπλών Γαλακτωμάτων στα Τρόφιμα.....	23
2.1.1 Εμπλουτισμός Τροφίμων.....	24
2.1.2 Συντήρηση Τροφίμων.....	25
2.1.3 Διπλά Γαλακτώματα με εκχύλισμα φύλλων ελιάς ως υποκατάστατα λίπους.....	28
2.1.4 Ενθυλάκωση Πικρών Πεπτιδίων.....	28
2.1.5 Διπλά Γαλακτώματα Pickering στα Τρόφιμα.....	29
2.2 Εφαρμογές Διπλών Γαλακτωμάτων στα Φάρμακα.....	32
2.2.1 Ελεγχόμενη αποδέσμευση χορηγούμενων φαρμάκων.....	36
2.2.2 SDEDDSs – το παράδειγμα του Clofazimine.....	38
2.2.3 Ενθυλάκωση Κροκίνης για αντιμετώπιση Κατάθλιψης.....	40
2.3 Εφαρμογές Διπλών Γαλακτωμάτων στα Καλλυντικά.....	41

2.3.1	W/O/W Γαλακτώματα και Καλλυντικά.....	42
2.3.1.1	Μικροκάψουλες με λεπτό κέλυφος για Καλλυντικές Εφαρμογές.....	43
2.3.2	O/W/O Γαλακτώματα.....	45
3.0	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	46
3.1	Το Μέλλον των Διπλών Γαλακτωμάτων – Τρόποι Βελτίωσης.....	46
3.1.1	Τα O/W/O Γαλακτώματα στο Προσκήνιο.....	48
3.1.2	Διπλά Γαλακτώματα Μονού Πυρήνα (SCDEs).....	49
4.0	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	51

Περίληψη

Τα διπλά γαλακτώματα διαθέτουν χαρακτηριστική πολυστρωματική δομή, η οποία τα καθιστά κατάλληλο μέσο για την ενθυσιακή, μεταφορά και ενίσχυση της σταθερότητας βιοδραστικών ουσιών. Τα τελευταία χρόνια έχουν αναδειχθεί πολλά υποσχόμενο μέσο για την παροχή υδρόφιλων και υδρόφοβων βιοδραστικών ουσιών σε πολλούς τομείς συμπεριλαμβανομένων των τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών. Πρόκειται για πολύπλοκα συστήματα υγρών που περιλαμβάνουν διαφορετικές φάσεις και δυο ξεχωριστά στάδια γαλακτωματοποίησης. Αποτελούν ειδικά σκευάσματα που δρουν ως προστατευτικά μικροπεριβάλλοντα και μπορούν να προσαρμοστούν ανάλογα με τις εκάστοτε ανάγκες των βιοδραστικών ουσιών που ενθυσιακώνουν.

Από τη βελτίωση των γεύσεων στη βιομηχανία τροφίμων έως τη βελτιστοποίηση της παραγωγής φαρμάκων και της σύνθεσης των καλλυντικών, τα διπλά γαλακτώματα προσφέρουν εφαρμογές σε πολλούς τομείς και αποτελούν πλέον αναπόσπαστο κομμάτι της καθημερινότητας. Στη βιομηχανία τροφίμων ενθυσιακώνουν γευστικούς και αρωματικούς παράγοντες, θρεπτικά και λειτουργικά συστατικά συμβάλλοντας με αυτόν τον τρόπο στην ανάπτυξη νέων καινοτόμων και σταθερών προϊόντων με ενισχυμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, μειωμένη περιεκτικότητα σε λιπαρά και αυξημένη σε θρεπτικά, ενώ ταυτόχρονα έχουν αυξημένη διάρκεια ζωής. Ως προς τα φαρμακευτικά προϊόντα, τα διπλά γαλακτώματα μπορούν να διαδραματίσουν κρίσιμο ρόλο καθώς λειτουργούν ως συστήματα χορήγησης φαρμάκων με βελτιωμένη διαλυτότητα και βιοδιαθεσιμότητα, παρέχοντας παράλληλα στοχευμένη απελευθέρωση των βιοδραστικών παραγόντων που έχουν ενθυσιακώσει. Τέλος, τα διπλά γαλακτώματα βρίσκουν εφαρμογές και στη βιομηχανία των καλλυντικών για τη σύνθεση προϊόντων περιποίησης με στοχευμένη δράση, βελτιωμένη υφή και ενισχυμένη αποτελεσματικότητα.

Εξετάζοντας τις διαφορετικές εφαρμογές και τα πλεονεκτήματα των διπλών γαλακτωμάτων, προκύπτουν διαρκώς νέες δυνατότητες και τρόποι αξιοποίησής τους για τη βελτίωση των ήδη υπαρχόντων αλλά και τη δημιουργία νέων καινοτόμων προϊόντων. Στο πλαίσιο αυτό, εξετάζονται και οι μελλοντικές προοπτικές που υπάρχουν ώστε τα διπλά γαλακτώματα να συμβαδίζουν με τις συνεχώς εξελισσόμενες απαιτήσεις των καταναλωτών, την εξέλιξη της τεχνολογίας και την προώθηση της καινοτομίας στους τομείς των τροφίμων, των φαρμάκων και των καλλυντικών.

Λέξεις-κλειδιά:

Διπλά γαλακτώματα, βιοδραστικές ουσίες, τρόφιμα, φάρμακα, καλλυντικά.

Summary

Double emulsions have a characteristic multilayer structure, which makes them a suitable medium for encapsulating, transporting and enhancing the stability of bioactive substances. In recent years, they have emerged as a promising medium for the delivery of hydrophilic and hydrophobic bioactive substances in many fields including food, medicine and cosmetics. These are complex liquid systems that include different phases and two separate emulsification stages. They are special formulations that act as protective microenvironments and can be adapted according to the needs of the bioactive substances they encapsulate.

From improving flavours in the food industry to optimizing drug production and cosmetics formulation, double emulsions offer numerous applications in various fields being an integral part of everyday life. In the food industry they encapsulate flavours, nutrients and functional ingredients thus contributing to the development of new innovative and stable products with enhanced organoleptic characteristics, reduced fat content and increased nutrients, while at the same time having an increased shelf life. In terms of pharmaceuticals, double emulsions could play a critical role as they act as drug delivery systems with improved solubility and bioavailability while providing targeted release of the encapsulated bioactive agents. Finally, double emulsions could also be used by the cosmetics industry to formulate care products with targeted action, improved texture and enhanced effectiveness.

Examining the different applications and advantages of double emulsions, new possibilities and ways of utilizing them for the improvement of the existing ones as well as the creation of new innovative products are constantly emerging. In this context, the future prospects that exist for double emulsions to keep up with the constantly evolving demands of consumers, the development of technology and the promotion of innovation in the fields of food, medicine and cosmetics are also examined.

Key words:

Double emulsions, bioactive substances, food, medicine, cosmetics.

Σκοπός

Η παρούσα διπλωματική εργασία μελετά τις εφαρμογές των διπλών γαλακτωμάτων στη βιομηχανία τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών, καθώς και τις μελλοντικές τους δυνατότητες για καινοτομία και πρόοδο. Τα διπλά γαλακτώματα χαρακτηρίζονται από μοναδική πολυεπίπεδη δομή και προσφέρουν μια σειρά πλεονεκτημάτων σε κάθε έναν από τους προαναφερθέντες τομείς. Στη βιομηχανία τροφίμων, συμβάλλουν στην ενθυλάκωση γευστικών παραγόντων, την παροχή θρεπτικών συστατικών, την τροποποίηση της υφής και μείωση του λίπους, ενισχύοντας ταυτόχρονα τις αισθητηριακές ιδιότητες και τη θρεπτική αξία των τροφίμων. Επιπλέον, τα διπλά γαλακτώματα διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στα συστήματα χορήγησης φαρμάκων καθώς βελτιώνουν τη διαλυτότητα, προσφέρουν στοχευμένη παροχή των δραστικών ουσιών και ως εκ τούτου ενισχύουν τη θεραπευτική τους αποτελεσματικότητα. Τέλος, μελετάται και η χρήση τους από τη βιομηχανία καλλυντικών όπου συμβάλλουν στην παρασκευή προϊόντων με βελτιωμένη υφή, στοχευμένη παράδοση και ενισχυμένη αποτελεσματικότητα. Εξετάζοντας τις διαφορετικές εφαρμογές και τα πλεονεκτήματα των διπλών γαλακτωμάτων, παρέχονται πληροφορίες για την τρέχουσα χρήση τους και τις μελλοντικές προοπτικές που υπάρχουν για βελτίωσή τους και αξιοποίηση των συνεχώς αναπτυσσόμενων τεχνολογιών δημιουργίας τους.

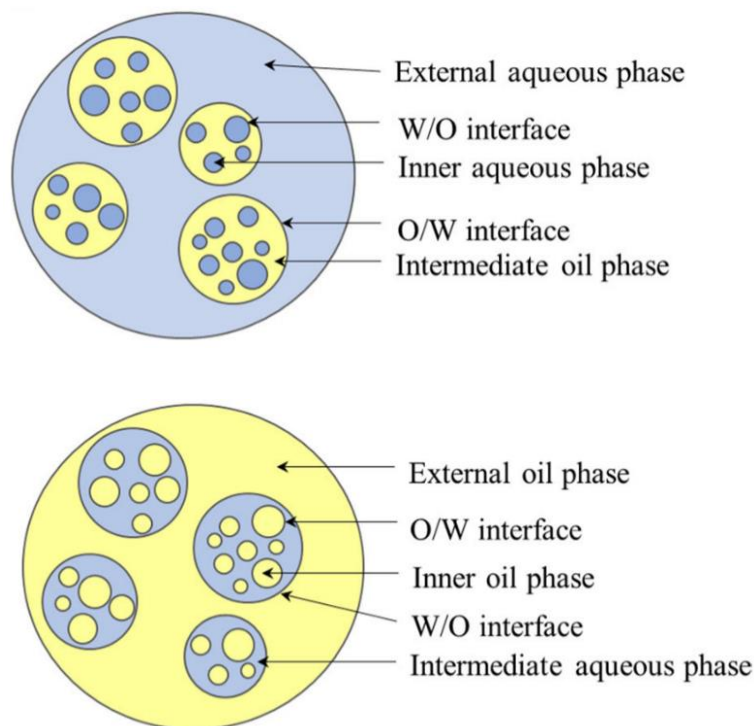
1.0 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Διπλά Γαλακτώματα: Ορισμός – Προέλευση

Τα γαλακτώματα, συμπεριλαμβανομένων και των διπλών, εξελίσσονται διαρκώς κατά την πάροδο των χρόνων αποτελώντας σήμερα αντικείμενο εκτεταμένης μελέτης από πολλές ερευνητικές ομάδες, διεθνώς. Η εμφάνιση των πρώτων γαλακτωμάτων είχε γίνει ήδη από την αρχαιότητα, όταν οι άνθρωποι άρχισαν να χρησιμοποιούν μείγματα λαδιού και νερού για την παρασκευή τροφίμων και καλλυντικών. Κατά τον 19^ο αιώνα άρχισε η πιο συστηματική μελέτη με στόχο την κατανόησή τους, ώστε να φτάσουν στα τέλη του 20^{ου} αιώνα να χρησιμοποιούνται από τη βιομηχανία των φαρμάκων και των καλλυντικών ως φορείς δραστικών ουσιών, θρεπτικών στοιχείων και ενεργών συστατικών (Lissant, 1988). Τα διπλά γαλακτώματα παρουσιάστηκαν πρώτη φορά το 1925 από τον William Seifriz, όταν δημιούργησε το πρώτο μοντέλο διπλών γαλακτωμάτων (Seifriz, 1925). Στα τέλη του 1960, 35 χρόνια μετά την αρχική τους ανακάλυψη, χρησιμοποιήθηκαν ως φορείς φαρμάκου για την ενθυλάκωση ινσουλίνης (Engel et al., 1968). Το 1976 οι Matsumoto et al. χρησιμοποίησαν για πρώτη φορά την τυπική διαδικασία γαλακτωματοποίησης δυο σταδίων για την παρασκευή διπλών γαλακτωμάτων (Matsumoto et al., 1976). Πλέον, ο 21^{ος} αιώνας γνωρίζει μια έκρηξη στην έρευνα και τις εφαρμογές που σχετίζονται με τα διπλά γαλακτώματα. Η πρόοδος της Νανοτεχνολογίας και της Επιστήμης των Υλικών επέτρεψε τον ακριβέστερο χειρισμό και έλεγχο της δημιουργίας διπλών γαλακτωμάτων.

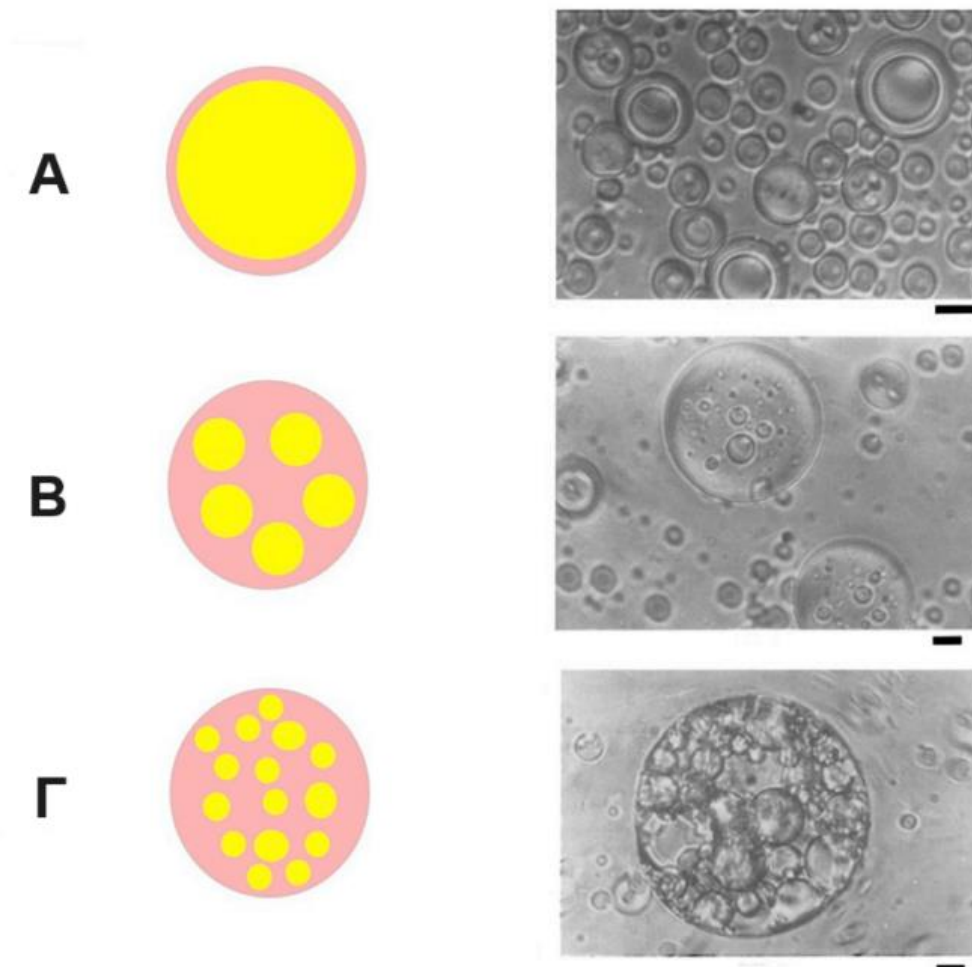
Ο όρος γαλάκτωμα αναφέρεται σε ασταθείς κολλοειδείς διασπορές δυο μη αναμείξιμων υγρών όπου το ένα βρίσκεται σε διασπορά μέσα στο άλλο με τη μορφή σταγονιδίων μεγέθους 0.1 με 4000 μm. Τα **διπλά γαλακτώματα** αποτελούν ειδική κατηγορία γαλακτωμάτων, όπου παρατηρείται η ύπαρξη ενός γαλακτώματος μέσα σε ένα άλλο γαλάκτωμα (Ding et al., 2019). Ουσιαστικά, τα σταγονίδια ενός διασκορπισμένου υγρού διασπείρονται περαιτέρω εντός ενός άλλου υγρού. Οι δύο κύριοι τύποι διπλών γαλακτωμάτων είναι νερό σε έλαιο σε νερό (water-in-oil-in-water, W/O/W) και έλαιο σε νερό σε έλαιο (oil-in-water-in-oil, O/W/O), όπως διαφαίνονται παρακάτω σχηματικά (Εικόνα 1), με τα W/O/W γαλακτώματα να είναι τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα και να εφαρμόζονται κυρίως για την ενθυλάκωση υδατοδιαλυτών βιοδραστικών ενώσεων (Ding et al., 2019). Έχουν αναπτυχθεί διαφορετικοί τύποι διπλών γαλακτωμάτων όπως τα διπλά γαλακτώματα με βάση ελαίου, τα πολυμερή μικροσωματίδια, τα νανοσωματίδια, οι νανοκάψουλες κ.ά. Ο σχεδιασμός τους

ποικίλλει και τροποποιείται ανάλογα με τις προδιαγραφές των εφαρμογών-στόχων, με κοινό τους ωστόσο χαρακτηριστικό να έχουν το γεγονός ότι παρασκευάζονται μέσω διαδικασίας γαλακτωματοποίησης δύο σταδίων (Ding et al., 2019).



Εικόνα 1. Οι δύο κυριότεροι τύποι διπλών γαλακτωμάτων: (α) W/O/W και (β) O/W/O. Τα γαλακτώματα αποτελούνται από πολική φάση (υδατική) και μη πολική φάση (έλαιο) (Zhi et al., 2023).

Με βάση τον αριθμό των σταγονιδίων νερού που περιέχουν, τα διπλά γαλακτώματα ταξινομούνται στα εξής υποείδη: α) μικροκάψουλες, το σταγονίδιο λαδιού περιλαμβάνει μόνο ένα εσωτερικό υδατικό σταγονίδιο, β) πολυκυστικά, σταγονίδια για τη δημιουργία των οποίων σταγονίδια ελαίου ενθυλακώνουν πολυάριθμα υδατικά σταγονίδια στο εσωτερικό τους και γ) μικροσφαιρίδια, διπλά σταγονίδια με πολύπλοκη δομή στο εσωτερικό του ελαίου (Εικόνα 2) (Ding et al., 2019).



Εικόνα 2. Σχηματική αναπαράσταση των τριών κύριων τύπων διπλών γαλακτωμάτων (αριστερά): Α) μικροκάψουλες, Β) πολυκυστικά, Γ) μικροσφαιρίδια και η εικόνα τους με χρήση οπτικού μικροσκοπίου (δεξιά) [scale bar 10 μm]. (Ding et al., 2019).

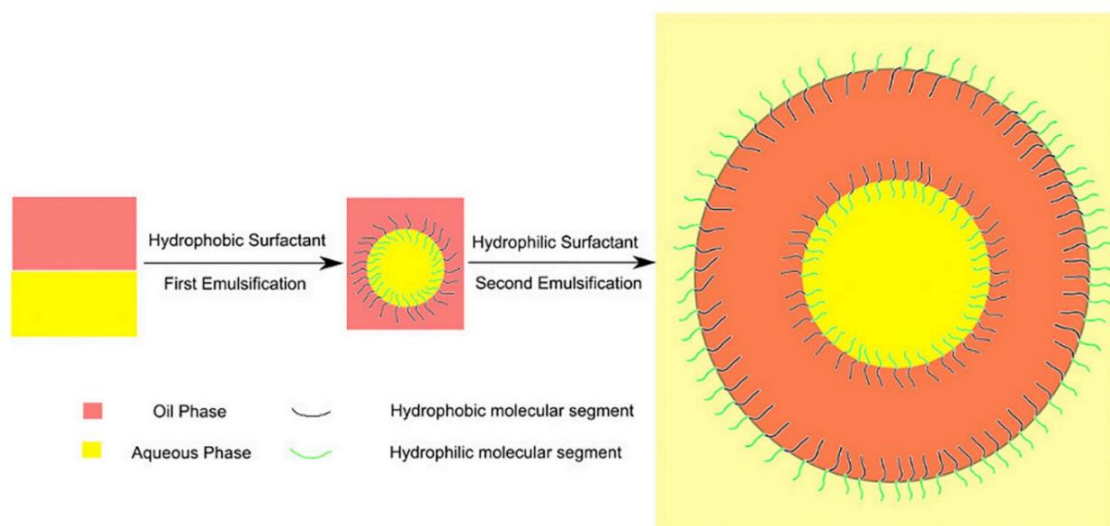
1.2. Μέθοδοι Παρασκευής και Σταθερότητα Διπλών Γαλακτωμάτων

1.2.1. Γαλακτωματοποιητές

Ένα από τα βασικότερα συστατικά κατά την παρασκευή των γαλακτωμάτων εν γένει και επομένως και των διπλών εν προκειμένω, είναι οι γαλακτωματοποιητές (emulsifiers). Με τον όρο γαλακτωματοποιητής περιγράφεται οποιαδήποτε επιφανειοδραστική ουσία μπορεί να προσροφηθεί στη διεπιφάνεια ελαίου-ύδατος και να αναστείλει την αποσταθεροποίηση του γαλακτώματος. Ουσιαστικά, οι γαλακτωματοποιητές αποτρέπουν τη συσσωμάτωση των σταγονιδίων κατά την ομογενοποίηση και σταθεροποιούν τα γαλακτώματα (Leister and Karbstein, 2020). Το μέγεθος και η κατανομή των σταγονιδίων μπορεί να διαφέρουν ανάλογα την τεχνική που θα χρησιμοποιηθεί κατά την επεξεργασία τους. Τυχόν ανισορροπίες μεταξύ των

αναλογιών των φάσεων μπορεί να οδηγήσουν σε διαχωρισμό φάσεων ή συνένωση σταγονιδίων και ως εκ τούτου να επηρεάσουν τη σταθερότητα του διπλού γαλακτώματος στο σύνολό του.

Παρόλα τα πλεονεκτήματά τους, τα διπλά γαλακτώματα είναι ευαίσθητα και εγγενώς ασταθή λόγω της πολυπλοκότητας της δομής τους. Παράγοντες όπως η επιλογή των κατάλληλων γαλακτωματοποιητών, η αναλογία των διαφορετικών φάσεων και οι μέθοδοι επεξεργασίας που χρησιμοποιούνται κατά το σχηματισμό τους, επηρεάζουν τη σταθερότητά τους (Leister and Karbstein, 2020). Σε αντίθεση με τα συμβατικά γαλακτώματα όπου χρησιμοποιείται ένας γαλακτωματοποιητής, τα διπλά γαλακτώματα απαιτούν τουλάχιστον δυο γαλακτωματοποιητές: έναν λιπόφιλο, ο οποίος είναι απαραίτητος για τη σταθεροποίηση των εσωτερικών σταγονιδίων νερού και έναν υδρόφιλο που χρησιμοποιείται για την προστασία των σταγονιδίων ελαίου από τη συνένωση (Leister and Karbstein, 2020).



Εικόνα 3. Σχηματική αναπαράσταση της γαλακτωματοποίησης δύο σταδίων για τη δημιουργία διπλών γαλακτωμάτων (Ding et al., 2019).

Μπορούν να παρασκευαστούν με μεθόδους γαλακτωματοποίησης ενός ή/και δύο σταδίων (Ding et al., 2019; Heidari et al., 2022). Για την επιλογή της κατάλληλης μεθόδου χρειάζεται να ληφθεί υπόψιν το μέγεθος των σωματιδίων, η σταθερότητα και η εφαρμογή για την οποία προορίζονται. Στην πρώτη μέθοδο, ο σχηματισμός τους γίνεται αυθόρμητα. Αρχικά σχηματίζεται ένα πρωτογενές γαλάκτωμα το οποίο ενσωματώνεται σε μια δεύτερη συνεχή φάση. Παρόλο που υπάρχουν κάποιοι περιορισμοί όπως η χαμηλή απόδοση ενθυλάκωσης, το κύριο πλεονέκτημα της μεθόδου είναι η απλότητα της διαδικασίας γαλακτωματοποίησης (Heidari et al., 2022). Η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική προετοιμασίας διπλών

γαλακτωμάτων είναι η μέθοδος δύο σταδίων (Ding et al., 2019). Εκτός από αυτή υπάρχουν και άλλες μέθοδοι όπως η μέθοδος αντιστροφής φάσης, η γαλακτωματοποίηση μεμβράνης, η ομογενοποίηση υψηλής πίεσης, η χρήση υπερήχων, η εξάτμιση διαλύτη και η μεταφορά σταγονιδίων (Heidari et al., 2022).

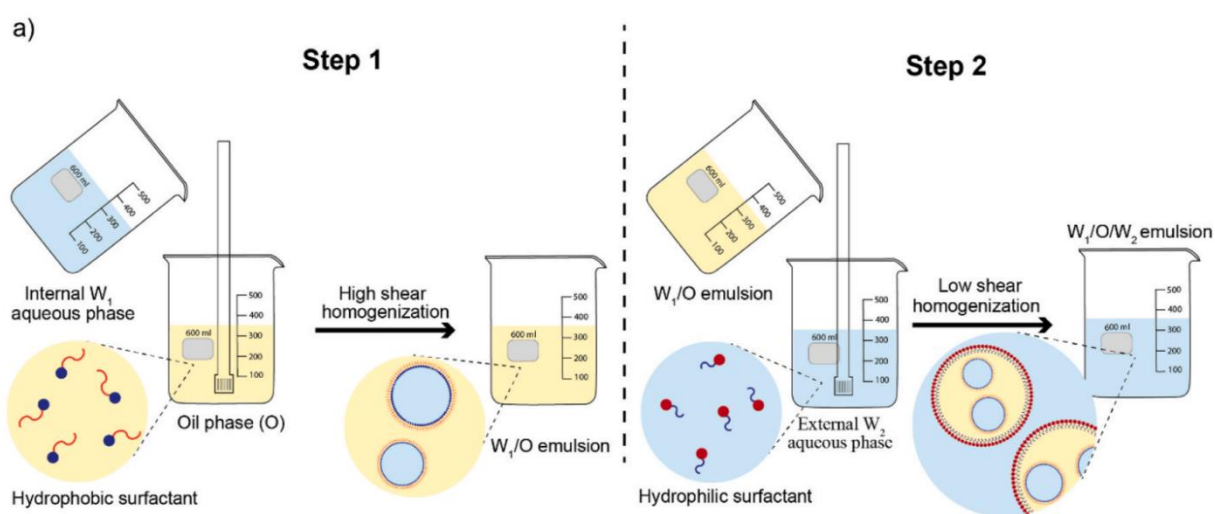
1.2.2. Γαλακτωματοποίηση Δύο Σταδίων

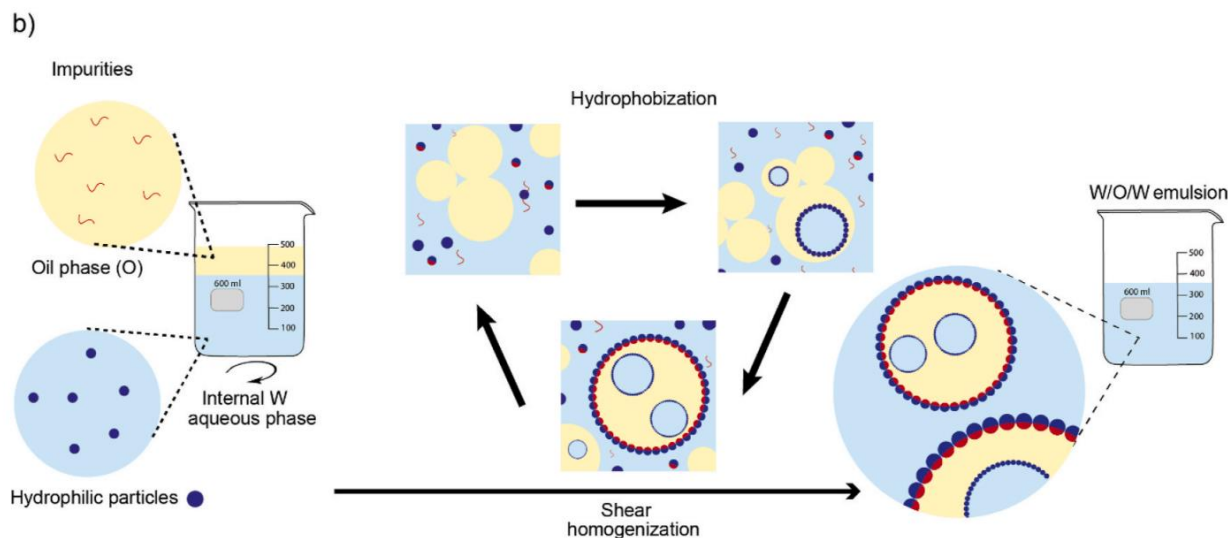
Η πιο διαδεδομένη και συχνά χρησιμοποιούμενη τεχνική δημιουργίας διπλών γαλακτωμάτων, ιδίως στις περιπτώσεις εγκλεισμού υδρόφιλων ουσιών, είναι η γαλακτωματοποίηση δύο σταδίων καθώς είναι εύκολη και υψηλής αποδοτικότητας. Συνίσταται από την παρασκευή ενός πρωτογενούς γαλακτώματος παρουσία υψηλής ενέργειας, το οποίο στη συνέχεια διασπείρεται σε εξωτερική φάση παρουσία χαμηλών επιπέδων ενέργειας, οδηγώντας στην παραγωγή μεγαλύτερων εξωτερικών σταγονιδίων (Ding et al., 2019). Κατά το πρώτο στάδιο πραγματοποιείται η σύνθεση των πρωτογενών O/W ή W/O, τα οποία στη συνέχεια επαναγαλακτωματοποιούνται με περίσσεια υδατικής ή ελαιώδους φάσης και παρουσία ενός δεύτερου γαλακτωματοποιητή σε μια άλλη συνεχή φάση. Πιο αναλυτικά, η δραστική ουσία διαλύεται σε μια εσωτερική φάση (W1) και έπειτα γαλακτωματοποιείται στην οργανική φάση (O) και προκύπτει τελικά το πρώτο γαλάκτωμα (W1/O). Στη συνέχεια, τα πρωτογενή γαλακτώματα επαναγαλακτωματοποιούνται, με τη βοήθεια των κατάλληλων παραγόντων γαλακτωματοποίησης και έπειτα με χρήση υψηλής ενέργειας διασπείρονται σε εξωτερική φάση κάτω από χαμηλά επίπεδα ενέργειας, οπότε και παράγονται τα μεγαλύτερα εξωτερικά σταγονίδια (Heidari et al., 2022). Το βήμα αυτό πραγματοποιείται σε συσκευές υψηλής διατμητικής φάσης ώστε τα σωματίδια που θα παραχθούν να είναι λεπτά. Για παράδειγμα, στην περίπτωση ενός W/O/W γαλακτώματος αρχικά η εσωτερική υδατική φάση διασπείρεται σε ελαιώδη φάση η οποία περιέχει λιπόφιλο γαλακτωματοποιητή και στη συνέχεια ακολουθεί διασπορά του αρχικού γαλακτώματος στην εξωτερική υδατική φάση που περιέχει υδρόφιλο γαλακτωματοποιητή. Η διαδικασία αυτή επιτρέπει τον καλύτερο έλεγχο του μεγέθους και της κατανομής των σταγονιδίων (Εικόνα 3) (Ding et al., 2019).

Κατά τη γαλακτωματοποίηση δύο σταδίων, η επιλογή του κατάλληλου επιφανειοδραστικού μορίου είναι βασική για τη διασφάλιση της σταθερότητας των επιμέρους γαλακτωμάτων και της αποτελεσματικότητας της ενθυλάκωσης. Συνήθως επιλέγονται λιπόφιλα/υδρόφιλα επιφανειοδραστικά τα οποία χαρακτηρίζονται από χαμηλή τιμή HLB (Hydrophilic Lipophilic Balance) (Ding et al., 2019). Πρόκειται για μια τιμή που εκφράζει την ισορροπία μεταξύ μεγέθους και ισχύος των υδρόφιλων και

λιπόφιλων τμημάτων επιφανειοδραστικών ουσιών όπως οι γαλακτωματοποιητές. Σε ένα σύστημα γαλακτώματος συνυπάρχουν λιπόφιλες και υδρόφιλες ομάδες (λιποδιαλυτές και υδατοδιαλυτές ουσίες). Καθώς στην επιφάνεια απαιτείται μια ισορροπία μεταξύ υδρόφιλης και λιπόφιλης ομάδας, η επιφανειοδραστική ουσία θα πρέπει να παίρνει κατάλληλη τιμή για την επίτευξη της ισορροπίας. Για τη δημιουργία των πρωτογενών W/O γαλακτωμάτων χρησιμοποιούνται επιφανειοδραστικά με τιμές HLB μικρότερες του επτά (περίπου 3-4). Χαμηλές τιμές HLB προτιμώνται για την αποτροπή της αποσταθεροποίησης των εσωτερικών σταγονιδίων. Από την άλλη, τα υδρόφιλα επιφανειοδραστικά (υψηλές τιμές HLB) είναι απαραίτητα για τη σταθεροποίηση της εξωτερικής επιφάνειας των διπλών σφαιριδίων, δηλαδή μετά τη δεύτερη γαλακτωματοποίηση (Ding et al., 2019).

Συνοψίζοντας, η επιλογή των κατάλληλων επιφανειοδραστικών μορίων διαμορφώνεται ως εξής: για τη σταθεροποίηση των W/O γαλακτωμάτων απαιτείται χαμηλό HLB, επιφανειοδραστική ουσία υψηλής ακαμψίας και ομοιότητα μεταξύ της φύσης του ελαίου και του αλειφατικού μέρους της επιφανειοδραστικής ουσίας. Αύξηση της συγκέντρωσης του υδρόφοβου οδηγεί σε διπλό γαλάκτωμα μεγαλύτερης σταθερότητας, υψηλότερη απόδοση της ενθυλάκωσης και σε πιο σύνθετη δομή του διπλού γαλακτώματος. Για τη δημιουργία της δομής των διπλών γαλακτωμάτων W/O/W, οι κύριες παράμετροι που επηρεάζουν τη σταθερότητά του είναι το υψηλό HLB και η συγκέντρωση και το είδος των επιφανειοδραστικών μορίων (Ding et al., 2019).





Εικόνα 4. Σχηματική αναπαράσταση των διαφορετικών μεθοδολογιών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή διπλών γαλακτωμάτων: a) γαλακτωματοποίηση δύο σταδίων και b) γαλακτωματοποίηση ενός σταδίου (Tenorio-Garcia et al., 2022).

1.2.3. Επιπλέον Τεχνικές Γαλακτωματοποίησης

1.2.3.1. Μέθοδος Αναστροφής Φάσης

Ρυθμίζοντας τη θερμοκρασία του συστήματος μπορεί να προκληθεί αναστροφή φάσης και να αλλάξει ο τύπος του γαλακτώματος από W/O σε O/W ή αντίστροφα. Αναστροφή φάσης μπορεί επίσης να προκληθεί αλλάζοντας τη σύνθεση των συστατικών του γαλακτώματος, όπως για παράδειγμα τη συγκέντρωση του τασιενεργού, η οποία θα οδηγήσει στον σχηματισμό διπλών γαλακτωμάτων (Tenorio-Garcia et al., 2022).

1.2.3.2. Γαλακτωματοποίηση Μembrάνης

Η τεχνική αυτή περιλαμβάνει τη χρήση μεμβράνης με ελεγχόμενα μεγέθη πόρων για τη δημιουργία γαλακτώματος με σταγονίδια συγκεκριμένων μεγεθών. Με τη χρήση αυτής της μεθόδου μπορούν να δημιουργηθούν διπλά γαλακτώματα στα οποία έχει γίνει ακριβής έλεγχος του μεγέθους των σταγονιδίων (Ding et al., 2019).

1.2.3.3. Ομογενοποίηση Υψηλής Πίεσης

Η ομογενοποίηση υψηλής πίεσης περιλαμβάνει τη διέλευση του γαλακτώματος μέσω ενός ομογενοποιητή υψηλής πίεσης που οδηγεί στη διασπορά σταγονιδίων μεγαλύτερου μεγέθους σε μικρότερα. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται όσες

φορές χρειαστεί ώστε να επιτευχθεί το επιθυμητό μέγεθος σταγονιδίων και να δημιουργηθούν σταθερά διπλά γαλακτώματα (Schultz et al., 2004).

1.2.3.4. Χρήση Υπερήχων

Η χρήση υπερηχητικών κυμάτων προκειμένου τα μεγαλύτερα σωματίδια του γαλακτώματος να διασπαστούν σε μικρότερα. Η τεχνική αυτή είναι αποτελεσματική για τη δημιουργία λεπτών γαλακτωμάτων (Maghamian and Najarian, 2021).

1.2.3.5. Εξάτμιση Ελαίου

Πραγματοποιείται διάλυση ενός πολυμερούς ή άλλου υλικού σε έναν πτητικό διαλύτη, γαλακτωματοποίησή του σε ένα άλλο υγρό για τη δημιουργία γαλακτώματος και στη συνέχεια εξάτμιση του διαλύτη ώστε αυτό που θα παραμείνει να είναι το διπλό γαλάκτωμα (Iqbal et al., 2015).

1.2.3.6. Μεταφορά Σταγονιδίων

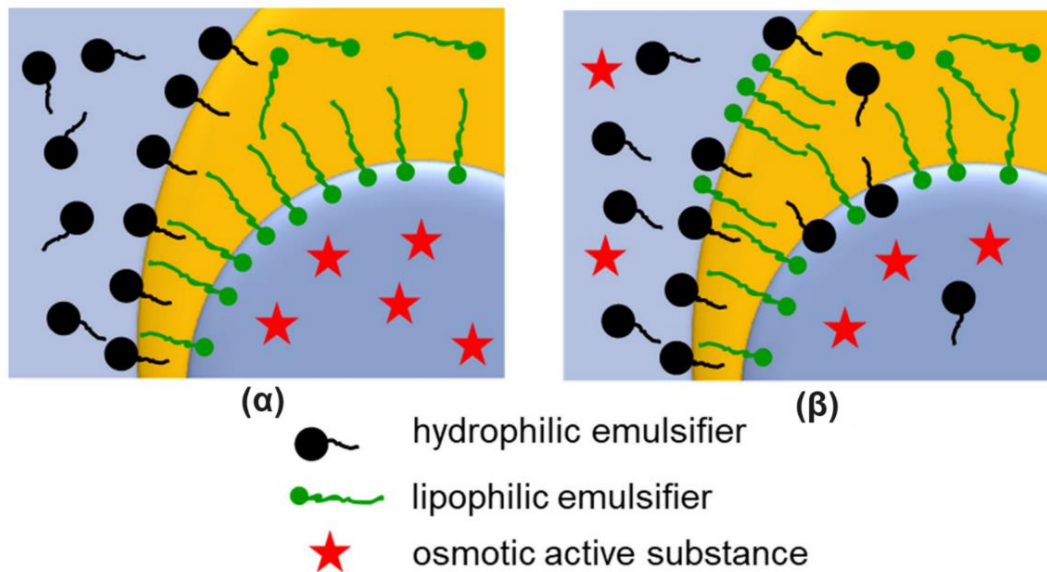
Οι μέθοδοι μεταφοράς σταγονιδίων περιλαμβάνουν τη μεταφορά σταγονιδίων από το ένα γαλάκτωμα στο άλλο. Για παράδειγμα, υπάρχει τεχνική ηλεκτροσυνένωσης κατά την οποία προκαλείται συνένωση των σταγονιδίων και στη συνέχεια μεταφορά σε άλλη φάση ώστε να δημιουργηθούν εν τέλει τα διπλά γαλακτώματα (Wang et al., 2011).

1.2.4. Σταθερότητα Διπλών Γαλακτωμάτων

Με τον όρο σταθερότητα ενός γαλακτώματος εννοείται η ικανότητά του να αντιστέκεται στη μεταβολή των ιδιοτήτων του με την πάροδο του χρόνου: όσο πιο σταθερό είναι ένα γαλάκτωμα, τόσο πιο αργά μεταβάλλονται οι ιδιότητές του. Η σταθερότητα των γαλακτωμάτων εξαρτάται από τα συστατικά που τα αποτελούν, τη συγκέντρωσή τους, αλλά και από φυσικές συνθήκες όπως θερμοκρασία, ανάδευση, κλπ. Μια σειρά από φυσικούς μηχανισμούς οι οποίοι λαμβάνουν χώρα μεταξύ εσωτερικής και εξωτερικής φάσης, αποτελούν αποσταθεροποιητικούς παράγοντες για τα γαλακτώματα. Αυτοί είναι η κρεμοποίηση, η καθίζηση, η κροκίδωση, η διάχυση και η συνένωση των διάσπαρτων σταγονιδίων. Κατά την κρεμοποίηση τα σταγονίδια κινούνται προς τα επάνω, στην καθίζηση προς τα κάτω, κατά την κροκίδωση σχηματίζουν συσσωματώματα χωρίς ωστόσο να χάνουν τη δομή τους και κατά τη συνένωση τα σταγονίδια ενώνονται και σχηματίζουν μεγαλύτερες σταγόνες (Zhi et al., 2023).

Τα διπλά γαλακτώματα χαρακτηρίζονται από θερμοδυναμική αστάθεια, δηλαδή γρήγορη συνένωση και διαχωρισμό των φάσεων σε περιπτώσεις παρατεταμένης αποθήκευσης. Συνίστανται από μεμονωμένα γαλακτώματα τα οποία συνδέονται μέσω της ίδιας φάσης με τέτοιο τρόπο ώστε γαλακτωματοποιητές, ενεργά συστατικά και μόρια νερού να είναι σε θέση να διαχέονται από τη μια φάση στην άλλη και να αλληλοεπιδρούν στα σημεία διεπαφής. Ως εκ τούτου, τα διπλά γαλακτώματα είναι ευαίσθητα κατά τη διάσπαση και αποθήκευση ή ακόμα και όταν εκτίθενται σε περιβαλλοντικό στρες (Leister and Karbstein, 2020). Μόλις παραχθούν υποβάλλονται σε φαινόμενα συνένωσης και διάχυσης, γεγονός που επηρεάζει ιδιότητες όπως την υφή και την ικανότητα ενθυλάκωσης (αλλαγή υφής, απουσία δραστικής ουσίας) του εκάστοτε προϊόντος. Ειδικά για τα O/W/O, η διαμόρφωση μιας σταθερής δομής είναι δύσκολη καθώς τα γαλακτώματα αυτά είναι θερμοδυναμικά ασταθή και επιρρεπή σε ρήξη κατά την αποθήκευση ή κατά την έκθεση σε περιβαλλοντικό στρες (Leister and Karbstein, 2020).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, για τη σταθεροποίηση των διπλών γαλακτωμάτων δρουν δύο διαφορετικοί τύποι γαλακτωματοποιητών. Σε ένα W/O/W, ο λιπόφιλος ελαιοδιαλυτός γαλακτωματοποιητής σταθεροποιεί τα εσωτερικά σταγονίδια νερού στο γαλάκτωμα W/O, ενώ ο υδρόφιλος σταθεροποιεί τα γεμάτα σταγονίδια ελαίου προκειμένου να αποτρέψει τη μεταξύ τους συνένωση (Zhi et al., 2023). Θεωρητικά, ο λιπόφιλος γαλακτωματοποιητής καταλαμβάνει την εσωτερική διεπιφάνεια, ενώ τα υδρόφιλα μόρια προσροφώνται στο εσωτερικό. Λιπόφιλα και υδρόφιλα μόρια δεν αλληλοεπιδρούν ούτε επηρεάζει το ένα τη λειτουργία του άλλου (Εικόνα 5α) (Leister & Karbstein, 2020). Ωστόσο, τα μόρια των γαλακτωματοποιητών είναι αμφίφιλα, γεγονός που συνεπάγεται ότι είναι διαλυτά και επομένως στην πραγματικότητα δεν κατανέμονται ομοιόμορφα μεταξύ φάσεων και διεπαφών. Τα λιπόφιλα μόρια προσροφώνται σε ένα βαθμό στην εξωτερική διεπαφή, ακολουθεί διάχυση και αλληλοεπίδραση με τα λιπόφιλα μόρια του γαλακτωματοποιητή στο εσωτερικό. Τα λιπόφιλα μόρια θα προσροφηθούν, σε ένα βαθμό, στην εξωτερική διεπαφή. Όταν διαφορετικοί γαλακτωματοποιητές απορροφώνται από μια διεπαφή, αλληλοεπιδρούν μεταξύ τους, επηρεάζοντας τη σταθερότητα του διπλού γαλακτώματος (Εικόνα 5β) (Leister and Karbstein, 2020).



Εικόνα 5. Σχηματική αναπαράσταση της κατανομής των γαλακτωματοποιητών μεταξύ των διεπαφών διπλών γαλακτωμάτων W/O/W. (α) Εξιδανικευμένη κατανομή: οι λιπόφιλοι γαλακτωματοποιητές καταλαμβάνουν την εσωτερική διεπιφάνεια, ενώ οι υδρόφιλοι προσροφώνται στο εσωτερικό. Η ωσμωτική δραστική ουσία διαλύεται στην εσωτερική υδατική φάση. (β) Ρεαλιστική κατανομή: οι γαλακτωματοποιητές κατανέμονται μεταξύ όλων των φάσεων και διεπαφών και αλληλοεπιδρούν μεταξύ τους στις διεπαφές. Η ωσμωτική δραστική ουσία εντοπίζεται και στις δυο υδατικές φάσεις (Leister & Karbstein, 2020).

Ένας επιπλέον παράγοντας που επηρεάζει την αποτελεσματικότητα της ενθυλάκωσης και κατ' επέκταση τη σταθερότητα των διπλών γαλακτωμάτων είναι το μοριακό βάρος του υδρόφοβου επιφανειοδραστικού μορίου. Όσο μεγαλύτερο το μοριακό βάρος, τόσο υψηλότερη η απόδοση της ενθυλάκωσης και αυτό γιατί το μεγαλύτερο μοριακό βάρος οδηγεί σε υψηλότερη-αποτελεσματικότερη συγκέντρωση στο έλαιο λόγω των χαμηλότερων ρυθμών μετανάστευσης προς την εξωτερική διεπαφή και φάση (Ding et al., 2019).

Τα φαινόμενα διάχυσης και συνένωσης επηρεάζουν τη δομή, την υφή και την ικανότητα ενθυλάκωσης των γαλακτωμάτων (Zhi et al., 2023). Η αποδοτικότητα της ενθυλάκωσης μειώνεται, αλλάζει το ιξώδες και οι φάσεις διαχωρίζονται. Οι μετρήσεις εντοπίζουν τις μεταβολές στα γαλακτώματα αφότου έχουν γίνει και δεν υπάρχει κάποιος σαφής μηχανισμός αστάθειας που να έχει διαπιστωθεί ότι είναι υπεύθυνος για αυτές τις αλλαγές. Όταν σκευάσματα διπλών γαλακτωμάτων αποτυγχάνουν, το γεγονός αυτό αποδίδεται σε ένα σύνολο μηχανισμών οι οποίοι δρουν ταυτόχρονα (Leister and Karbstein, 2020). Αλληλοεπιδράσεις μεταξύ διάχυσης και συνένωσης έχουν περιγραφεί στη βιβλιογραφία για αρκετά σκευάσματα, καθώς όταν τα εσωτερικά σταγονίδια νερού συνενώνονται και ως εκ τούτου αυξάνουν το μέγεθός τους, αυξάνεται και απελευθέρωση. Οι Khadem και Sheibat-Othman (2019) μίλησαν για την αυτόματη διάσπαση της δομής των διπλών γαλακτωμάτων μετά από

συγκεκριμένο βαθμό ωσμωτικής διόγκωσης των εσωτερικών σταγονιδίων νερού. Τα παραδείγματα αυτά καταδεικνύουν το γεγονός ότι ο αρχικός μηχανισμός αστάθειας μπορεί να είναι διαφορετικός από το παρατηρούμενο αποτέλεσμα. Είναι επομένως δύσκολη η εύρεση των κατάλληλων τρόπων αντιμετώπισης αυτής της αστάθειας που παρατηρείται στα διπλά γαλακτώματα και ως εκ τούτου οι περισσότερες μελέτες εστιάζουν στις αλλαγές που παρατηρούνται ως προς τις ιδιότητές τους. Παρά τις εκτεταμένες έρευνες γύρω από τα διπλά γαλακτώματα και τις προοπτικές που παρουσιάζουν ως προς τον τομέα των φαρμάκων, των τροφίμων και των καλλυντικών, ο αριθμός των προϊόντων που έχουν καταφέρει να κυκλοφορήσουν τελικά στην αγορά είναι μικρός λόγω των προβλημάτων σταθερότητας κατά την περαιτέρω επεξεργασία και αποθήκευση των γαλακτωμάτων (Leister and Karbstein, 2020).

Προκειμένου να ενισχυθεί η σταθερότητα των διπλών γαλακτωμάτων ακολουθούνται κάποιες βασικές προσεγγίσεις όπως η επιλογή των κατάλληλων γαλακτωματοποιητών/σταθεροποιητών. Όπως έχει προαναφερθεί, ο ρόλος τους είναι ζωτικής σημασίας για τη σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων. Αυτά τα αμφίφιλα μόρια απορροφώνται στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού, μειώνοντας τη διεπιφανειακή τάση και αποτρέποντας τη συνένωση των σταγονιδίων των γαλακτωμάτων. Η επιλογή του κατάλληλου τύπου γαλακτωματοποιητή/σταθεροποιητή, της συγκέντρωσης αυτού και της συμβατότητάς του με τα υπόλοιπα συστατικά, είναι στοιχεία απαραίτητα για την επίτευξη σταθερότητας (Zhi et al., 2023). Επιπλέον, ο έλεγχος του μεγέθους και της κατανομής των σταγονιδίων έχουν εξίσου βασικό ρόλο. Όσο πιο μικρό μέγεθος και ομοιόμορφη κατανομή έχουν τα σταγονίδια, τόσο μειώνεται η πιθανότητα να συνενωθούν και να προκαλέσουν αστάθεια στο γαλάκτωμα (Verma and Mishra, 2019). Τεχνικές όπως η ομογενοποίηση υψηλής πίεσης και η γαλακτωματοποίηση μεμβράνης προσφέρουν ακριβή έλεγχο του μεγέθους και της κατανομής των σταγονιδίων. Δεδομένου του ότι το pH και η ιοντική ισχύς μπορούν να επηρεάσουν το φορτίο και τη διαμόρφωση των γαλακτωματοποιητών και συνεπώς τη σταθερότητα του γαλακτώματος, η διατήρηση των κατάλληλων συνθηκών pH και ιοντικής ισχύος συμβάλλει στη βελτιστοποίηση της σταθερότητας και στην αποφυγή της αποσταθεροποίησης (Verma and Mishra, 2019). Οι ακατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης μπορεί να οδηγήσουν σε αποσταθεροποίηση των διπλών γαλακτωμάτων. Ως εκ τούτου, η διατήρηση κατάλληλων συνθηκών αποθήκευσης, θερμοκρασίας, έκθεσης στο φως και η χρήση κατάλληλων υλικών συσκευασίας, είναι απαραίτητες για τη διατήρηση της σταθερότητάς τους με την πάροδο του χρόνου (Verma and Mishra, 2019).

1.3. Πλεονεκτήματα Χρήσης Διπλών Γαλακτωμάτων – Μεταφορά Βιοδραστικών Ουσιών

Χάρη στη μοναδική δομή και τις ιδιότητές τους, τα διπλά γαλακτώματα μπορούν να κατασκευαστούν με τέτοιο τρόπο ώστε να ρυθμίζουν την ενσωμάτωση βιολογικά ενεργών ενώσεων και θρεπτικών ουσιών. Το γεγονός αυτό τα καθιστά κατάλληλα μέσα μεταφοράς βιοδραστικών ουσιών με εφαρμογές σε πολλούς βιομηχανικούς τομείς όπως των τροφίμων, των φαρμάκων και των καλλυντικών (Huynh Mai et al., 2020). Η δομή τους -ένα σταγονίδιο γαλακτώματος ενθυλακωμένο μέσα σε ένα άλλο- παρέχει ένα αποτελεσματικό μέσο προστασίας και κατανομής των δραστικών ουσιών. Ουσιαστικά, επιτρέπουν την ελεγχόμενη και παρατεταμένη απελευθέρωσή τους, την ενίσχυση της διαλυτότητάς τους και τη στοχευμένη παράδοση σε συγκεκριμένους ιστούς ή κύτταρα, ενώ παράλληλα αποτελούν ένα μέσο με ιδιαίτερη ευελιξία στη σύνθεσή του (Zhi et al., 2023).

Εμφανίζουν ευρεία εφαρμογή σε διαφορετικούς τομείς, με κυριότερη τη χρήση τους ως οχήματα μεταφοράς για παρατεταμένη και ελεγχόμενη απελευθέρωση βιοδραστικών μορίων. Παρέχουν ένα προστατευτικό μικροπεριβάλλον, κατάλληλο για ενθυλάκωση και μεταφορά ουσιών όπως φάρμακα, βιταμίνες, γεύσεις και αρώματα. Με αυτόν τον τρόπο, προστατεύουν τις ευαίσθητες ενώσεις από την αποικοδόμηση, ενισχύοντας παράλληλα τη σταθερότητά τους κατά την αποθήκευση και την επεξεργασία. Η χαρακτηριστική πολυστρωματική δομή των διπλών γαλακτωμάτων είναι αυτή που επιτρέπει την ελεγχόμενη και παρατεταμένη απελευθέρωση των συστατικών που έχουν ενθυλακώσει, γεγονός που τα καθιστά κατάλληλα για χρήση σε φαρμακευτικά προϊόντα, καλλυντικά και εν γένει όπου απαιτείται στοχευμένη χορήγηση με παρατεταμένη αποτελεσματικότητα. Επιπλέον, μπορούν να κατασκευαστούν με τέτοιο τρόπο ώστε να έχουν στοχευμένη δράση και άρα παροχή των συστατικών τους σε συγκεκριμένα σημεία ή ιστούς του σώματος. Αυτή η στοχευμένη χορήγηση ελαχιστοποιεί τις συστημικές παρενέργειες και μεγιστοποιεί τα θεραπευτικά αποτελέσματα. Τα παραπάνω, σε συνδυασμό με την ικανότητά τους να ενισχύουν τη βιοδιαθεσιμότητα φαρμάκων με μειωμένη υδατοδιαλυτότητα και να διευκολύνουν την απορρόφησή τους, τα καθιστά κατάλληλα για χρήση από τη βιομηχανία φαρμάκων (Heidari et al., 2022; Zhi et al., 2023).

Ένα ακόμα χαρακτηριστικό των διπλών γαλακτωμάτων είναι η βελτιωμένη σταθερότητα σε σύγκριση με τα απλά γαλακτώματα λόγω της δομής τους και της χρήσης γαλακτωματοποιητών/σταθεροποιητών. Έτσι, αποτρέπεται ο διαχωρισμός των φάσεων, η συνένωση σταγονιδίων και η αποικοδόμηση των ενθυλακωμένων

συστατικών, διασφαλίζοντας την ποιότητα και διάρκεια ζωής του εκάστοτε προϊόντος. Τα χαρακτηριστικά τους μπορούν να προσαρμοστούν ώστε να ικανοποιούν τις εκάστοτε απαιτήσεις. Τα διπλά γαλακτώματα επιτρέπουν την ανάπτυξη καινοτόμων προϊόντων και σκευασμάτων. Τα υλικά που χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση των διπλών γαλακτωμάτων χαρακτηρίζονται από βιοσυμβατότητα και ασφάλεια. Η έρευνα επικεντρώνεται όλο και περισσότερο στη βελτίωση του σχεδιασμού και της απόδοσης των διπλών γαλακτωμάτων, μέσα από τη χρήση καινοτόμων υλικών, τη βελτιστοποίηση των τεχνικών παρασκευής και την κατανόηση της συμπεριφορά τους. Οι μοναδικές τους ιδιότητες ανοίγουν νέες δυνατότητες για το σχεδιασμό, τη διαφοροποίηση και βελτίωση προϊόντων, ενισχύοντας την καινοτομία και την ανταγωνιστικότητα της αγοράς (Ding et al., 2019).

2.0 ΚΥΡΙΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Εφαρμογές Διπλών Γαλακτωμάτων στα Τρόφιμα

Τα συστήματα διπλών γαλακτωμάτων ξεκίνησαν να χρησιμοποιούνται από τη βιομηχανία τροφίμων κυρίως για την κατασκευή αλειμμάτων (Gaonkar 1994) και παρουσίασαν εκτεταμένο ενδιαφέρον λόγω της ικανότητάς τους να ενσωματώνουν βιοδραστικές ενώσεις στα τρόφιμα. Ως εκ τούτου, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη δημιουργία καινοτόμων προϊόντων, τη βελτίωση των αισθητηριακών ιδιοτήτων προϊόντων που ήδη κυκλοφορούν στην αγορά, την προστασία των συστατικών που εμφανίζουν αστάθεια, τη βελτίωση της συντήρησης των τροφίμων, την ελεγχόμενη απελευθέρωση των δραστικών ενώσεων και τη ρύθμιση της σταθερότητας (Micanquer et al., 2017).

Τα συστήματα τύπου W/O/W είναι αυτά που παρουσιάζουν το μεγαλύτερο ενδιαφέρον για τον κλάδο των τροφίμων. Αρχικά, παρέχουν τη δυνατότητα παρασκευής προϊόντων μειωμένων λιπαρών, καθώς τα συμβατικά γαλακτώματα O/W αντικαθίστανται από τα ισοδύναμα W/O/W τα οποία είναι χαμηλότερης περιεκτικότητας σε λάδι αλλά με παρόμοια υφή (Öye et al., 2023). Παράλληλα μπορούν να εγκλωβίζουν και να προστατεύουν ευαίσθητα υδατοδιαλυτά συστατικά - όπως βιοδραστικά θρεπτικά συστατικά και ενώσεις που προσδίδουν γεύση- και στη συνέχεια να τα απελευθερώνουν κατά τη διάρκεια της λήψης τροφής ή της πέψης (Muschliolik and Dickinson, 2017). Πιο συγκεκριμένα, όπως προκύπτει από μελέτες των τελευταίων ετών σε υγρά και αποξηραμένα τρόφιμα, τα διπλά γαλακτώματα έχουν χρησιμοποιηθεί ως υποκατάστατα λίπους σε γαλακτοκομικά και προϊόντα κρέατος, ως γεμίσεις ζαχαροπλαστικής με υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα, κάψουλες με θρεπτικά συστατικά (ασκορβικό νάτριο σε γάλα, CaCl_2 σε προϊόντα σόγιας, MgCl_2 σε τόφου) και δομές για τον εμπλουτισμό γαλακτοκομικών προϊόντων με βιταμίνες (Muschliolik and Dickinson, 2017). Μερικές ακόμα εφαρμογές τους στοχεύουν στην παρατεταμένη απελευθέρωση συστατικών των τροφίμων όπως για παράδειγμα οι γλυκαντικές ουσίες στις τσίχλες, στην κατασκευή βρώσιμων μεμβρανών με ενισχυμένη διαπερατότητα στο νερό και στην εκτεταμένη παροχή προστασίας σε ευαίσθητα συστατικά (π.χ. φυσικές χρωστικές σε προϊόντα ζαχαροπλαστικής, παγωτό και προϊόντα με βάση φρούτα) (Muschliolik and Dickinson, 2017). Τα O/W/O γαλακτώματα χρησιμοποιούνται και αυτά λόγω της μειωμένης τους περιεκτικότητας σε trans- και κορεσμένα λιπαρά, της δυνατότητάς τους να παρέχουν

καλύτερη προστασία σε συστατικά που είναι ευαίσθητα στο οξυγόνο και την ελεγχόμενη απελευθέρωση των λειτουργικών συστατικών (Zhi et al., 2023). Τέλος, η τεχνολογία των διπλών γαλακτωμάτων προσφέρει τη δυνατότητα παρασκευής λειτουργικών υλικών σε αποξηραμένη μορφή τα οποία ενσωματώνουν υλικά που μετέπειτα χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα σε μεγάλη ποικιλία προϊόντων διατροφής (ιχθυέλαιο, εκχύλισμα σαφράν, ρεσβερατρόλη, γλυκαντικά, κ.ά.). Πέραν αυτών, οι ουσίες που παρουσιάζουν εν γένει ενδιαφέρον για ενθυλάκωση από τα συστήματα διπλών γαλακτωμάτων είναι ενώσεις όπως η ρεσβερατρόλη, οι ανθοκυανίνες, το σαφράν, η φυτοστερόλη και διάφορες βιταμίνες (B, C και D) τα προβιοτικά, αλλά και παράγοντες φυσικού χρωματισμού (Muschiolik and Dickinson, 2017).

2.1.1 Εμπλουτισμός Τροφίμων

Τα W/O/W συμβάλλουν στον εμπλουτισμό των τροφίμων μέσω της ενθυλάκωσης, της στοχευμένης παράδοσης, της ελεγχόμενης απελευθέρωσης και της βελτιωμένης βιοδιαθεσιμότητας ευαίσθητων υδρόφιλων θρεπτικών συστατικών όπως βιταμίνες, πολυφαινόλες, χρωστικές, αρώματα, κ.ά. Η παγίδευση υδρόφιλων ενώσεων εντός της εσωτερικής υδατικής φάσης προστατεύει τις ενώσεις αυτές από πιθανή χημική αποικοδόμηση κατά την επεξεργασία και αποθήκευση (π.χ. αποικοδόμηση των βιταμινών λόγω θερμότητας), αποτρέποντας ταυτόχρονα πιθανές αντιδράσεις με άλλα υδατοδιαλυτά συστατικά (Artiga-Artigas et al., 2019).

Η παραγωγή διατροφικά εμπλουτισμένων τροφίμων παρουσιάζει όλο και μεγαλύτερη σημασία λόγω της αυξανόμενης ζήτησης για υγιεινά τρόφιμα. Ωστόσο, ορισμένα συστατικά υψηλής διατροφικής σημασίας όπως βιταμίνες, μέταλλα και πολυφαινόλες είναι ευαίσθητα στις περιβαλλοντικές συνθήκες (pH, φως, οξυγόνο, θερμότητα κ.λπ.), γεγονός που καθιστά δύσκολη την απευθείας προσθήκη τους στα τρόφιμα (Muschiolik and Dickinson, 2017). Τα διπλά γαλακτώματα αποτελούν τους κατάλληλους φορείς καθώς όχι μόνο τα προστατεύουν από την αποικοδόμηση, αλλά παρέχουν και τη δυνατότητα ταυτόχρονης ενθυλάκωσης υδρόφιλων και υδρόφοβων ενώσεων για την παραγωγή ενισχυμένων και με οφέλη για την υγεία τροφών (Yu et al., 2022). Η βιοδιαθεσιμότητά τους αυξάνεται χωρίς σημαντικές επιπτώσεις στις αισθητηριακές ιδιότητες των τροφίμων (Ghiasi et al., 2024).

2.1.2 Συντήρηση Τροφίμων

Οι φυσικές ενώσεις με αντιμικροβιακά χαρακτηριστικά, όπως αιθέρια έλαια, φυσικά εκχυλίσματα και πεππίδια, είναι πολύ σημαντικές για τη βιομηχανία τροφίμων καθώς είναι άρρηκτα συνδεδεμένες με την υγεία των καταναλωτών. Η ενθυλάκωση τέτοιων ενώσεων σε διπλά γαλακτώματα θεωρείται σημαντική για την ενίσχυση της φυσικοχημικής και μικροβιολογικής τους σταθερότητας καθώς και για την ελεγχόμενη απελευθέρωσή τους εντός των τροφίμων (Ghiasi et al., 2024). Μελέτες έχουν δείξει ότι η αυξημένη ειδική επιφάνεια των σταγονιδίων του διπλού γαλακτώματος συμβάλλει στη βελτίωση της βιολογικής δράσης των αιθέριων ελαίων και των φυσικών εκχυλισμάτων, μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο τις απαιτούμενες συγκεντρώσεις. Μελέτη των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων της γύρης έναντι του *Streptococcus pyogenes* έδειξε ότι η ενθυλακωμένη της σύνθεση είχε βελτιωμένη αντιβακτηριακή δράση (Valdivia-Olivares et al., 2023). Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι μετά από καταστροφή των διπλών γαλακτωμάτων με χρήση αιθανόλης, αυξήθηκε η αντιβακτηριακή δράση λόγω υψηλότερης απελευθέρωσης της γύρης από τα εσωτερικά στρώματα του γαλακτώματος (Valdivia-Olivares et al., 2023). Η ενθυλάκωση αντιμικροβιακών παραγόντων σε συστήματα διπλών γαλακτωμάτων βελτιώνει την ανασταλτική τους δράση έναντι μικροβιακής ανάπτυξης, αυξάνει τη διάρκεια ζωής των τροφίμων και μειώνει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών μέσω της παρατεταμένης απελευθέρωσης των ενώσεων χωρίς αυτό να επηρεάζει την ποιότητα των τροφίμων (Ghiasi et al., 2024).

Σε τρόφιμα πλούσια σε λιπαρά τοποθετούνται συνθετικά αντιοξειδωτικά προκειμένου να καθυστερήσουν ή ακόμα και να αναστείλουν την οξείδωση των λιπιδίων που περιέχονται σε αυτά. Επειδή τίθεται το ζήτημα της ασφάλειάς τους, υπάρχει ένα συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον από τη βιομηχανία τροφίμων για χρήση φυσικών αντιοξειδωτικών. Ωστόσο, τα συστατικά αυτά έχουν χαμηλή υδατοδιαλυτότητα, είναι ασταθή κατά την επεξεργασία τους και συχνά εμφανίζουν και ανεπιθύμητα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Η χαμηλή τους βιοδιαθεσιμότητα, απορρόφηση και διαπερατότητα καθιστούν δύσκολη τη σύνθεση προϊόντων πλούσιων σε αυτά τα φυσικά αντιοξειδωτικά (Valdivia-Olivares et al., 2023). Τα διπλά γαλακτώματα μπορούν να προστατεύουν υδρόφιλα και υδρόφοβα αντιοξειδωτικά μέσω διαφορετικών μηχανισμών, συμβάλλοντας έτσι στη σύνθεση τροφίμων υψηλής ποιότητας. Σε μια πρόσφατη μελέτη, αναπτύχθηκαν διπλά γαλακτώματα που περιείχαν μείγμα ελαιόλαδου, ελαίου λιναρόσπορου και ιχθυελαίων με σκοπό να χρησιμοποιηθούν για αντικατάσταση των κορεσμένων λιπαρών σε τρόφιμα. Για να αποτραπεί η οξείδωση αυτών των ελαίων, το γαλλικό οξύ και η κουερσετίνη

ενσωματώθηκαν στην εσωτερική και την εξωτερική υδατική φάση αντίστοιχα και παρατηρήθηκε ότι η συνεργική δράση των αντιοξειδωτικών οδήγησε σε χαμηλότερα επίπεδα οξειδωτικών παραγόντων, σε σύγκριση με την παρουσία διπλών γαλακτωμάτων που δεν περιείχαν κάποιο από τα προαναφερθέντα φυσικά αντιοξειδωτικά συστατικά (Silva et al., 2018). Τα διπλά γαλακτώματα μειώνουν τους περιορισμούς που έχει η χρήση των φυσικών αντιοξειδωτικών (π.χ. υψηλό ποσοστό αποικοδόμησης), παρέχοντας υψηλή σταθερότητα οξείδωσης και διευκολύνοντας τη συνεργιστική δράση παραπάνω από έναν αντιοξειδωτικών μέσων (Ghiasi et al., 2024).

Τα ένζυμα, όντας βιολογικά μόρια με πολλαπλές εφαρμογές, χρησιμοποιούνται εκτεταμένα από τη βιομηχανία τροφίμων. Στόχος των εκτεταμένων ερευνών που γίνονται γύρω από αυτά είναι η επίλυση θεμάτων που αφορούν στην ευαισθησία των ενζύμων σε περιβαλλοντικούς παράγοντες και στη χαμηλή βιοδιαθεσιμότητά τους κατά την επεξεργασία, την αποθήκευση και την από του στόματος χορήγηση. Τα διπλά γαλακτώματα θεωρούνται χρήσιμο εργαλείο για την προστασία των ενζύμων καθώς μπορούν να αυξήσουν τη σταθερότητά τους σε διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες, με αποτέλεσμα υψηλότερη βιοδιαθεσιμότητα, παρατεταμένη δράση, ελεγχόμενη απελευθέρωση στόχου καθώς και να παρέχουν τη δυνατότητα ανακύκλωσής τους (Li et al., 2023).

Τα προβιοτικά αποτελούν μια ομάδα ζωντανών βακτηρίων που προσδίδουν ευεργετικά αποτελέσματα στην υγεία του ξενιστή τους. Στον ανθρώπινο οργανισμό, εδράζονται στο εσωτερικό του κόλον και ευρισκόμενα στις κατάλληλες συγκεντρώσεις έχουν θετικό αντίκτυπο στη λειτουργία του εντερικού συστήματος. Ωστόσο, η ευαισθησία των μικροοργανισμών αυτών κατά την επεξεργασία και αποθήκευση σε συνδυασμό με την όξινη φύση πολλών τροφών, καθιστούν δύσκολη την σύνθεση τροφίμων με προβιοτικά (Marefati et al., 2021). Για τη διατήρηση της βιωσιμότητας των προβιοτικών έχει προταθεί η ενθυλάκωσή τους σε διπλά γαλακτώματα W/O/W, καθώς λειτουργούν ως μέσα προστασίας τους από τους περιβαλλοντικές συνθήκες (Marefati et al., 2021; Frakolaki et al., 2020). Οι Frakolaki et al. (2020), ενθυλάκωσαν με επιτυχία το *Bifidobacterium animalis* εντός γαλακτώματος W/O/W. Όταν μετέπειτα εξετάσθηκε η βιωσιμότητα των κυττάρων, παρατηρήθηκε αυξημένο ποσοστό επιβίωσης των κυττάρων εντός του διπλού γαλακτώματος και υψηλή βιωσιμότητα ακόμα και σε διαφορετικές τιμές pH (Frakolaki et al., 2020).

Οι αισθητηριακές ιδιότητες (υφή, εμφάνιση, γεύση) ενός τροφίμου που έχει τη μορφή γαλακτώματος επηρεάζονται από τα χαρακτηριστικά του αρχικού

γαλακτώματος, όπως για παράδειγμα τις ιδιότητες της συνεχούς και της διεσπαρμένης φάσης (Ghiasi et al., 2024). Τα χαρακτηριστικά που θα έχει κατά τη μάσηση είναι αποτέλεσμα αλλαγών που λαμβάνουν χώρα στη δομή και τη σύνθεσή του, λόγω αραίωσης από το σάλιο και το μάσημα. Οι οπτικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων όπως το χρώμα και η αδιαφάνεια επηρεάζονται από τη μικροδομή και τη σύνθεση (μέγεθος σωματιδίων, συγκέντρωση σωματιδίων) (Ghiasi et al., 2024). Οι γευστικές ιδιότητες στο σύνολό τους επηρεάζονται από την κατανομή των μορίων γεύσης εντός των διαφορετικών φάσεων (νερό, έλαιο, μεσεπιφάνεια) και τη συμπεριφορά απελευθέρωσής τους κατά την κατανάλωση. Στα διπλά γαλακτώματα W/O/W, η ενδιάμεση φάση ελαίου έχει ρόλο πλήρωσης του γαλακτώματος και δε συμβάλλει άμεσα στη γεύση αλλά την επηρεάζει με δύο διαφορετικούς τρόπους. Αρχικά, τα σταγονίδια ελαίου αυξάνουν τη συγκέντρωση των συστατικών γεύσης στην εξωτερική υδατική φάση (Ghiasi et al., 2024). Έχοντας σταθερή τη συγκέντρωση μιας γευστικής ένωσης και αυξάνοντας το κλάσμα ελαίου στο διπλό γαλακτώμα, παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης της γευστικής ένωσης. Επιπλέον, το έλαιο όντας φραγμός μεταξύ των δυο υδατικών φάσεων μπορεί να αποτρέψει τη μετανάστευση μιας γευστικής ένωσης από την εσωτερική υδατική φάση στην εξωτερική. Μεταξύ των δυο υδατικών φάσεων, η εξωτερική είναι αυτή που έρχεται σε επαφή με τους γευστικούς κάλυκες της επιφάνειας της γλώσσας. Έτσι, η εσωτερική υδατική φάση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ενθυλάκωση αισθητηριακά δυσάρεστων γευστικών ενώσεων ώστε να τις καλύψει κατά τη διάρκεια εισόδου στο στόμα (Buyukkestelli and El, 2021). Το χρώμα των τροφίμων θεωρείται επίσης σημαντική παράμετρος για την επίτευξη ενός οπτικά ελκυστικού αποτελέσματος ως προς τη βελτίωση της όρεξης και της συνολικής αποδοχής από τους καταναλωτές. Η ενθυλάκωση με χρήση διπλών γαλακτωμάτων βελτιώνει τη σταθερότητα του χρώματος και κατά συνέπεια των βιολογικών ιδιοτήτων των φυσικών χρωστικών (Nunes et al., 2023).

Στα πλαίσια των μέτρων που λαμβάνονται για την προστασία του περιβάλλοντος, οι βρώσιμες μεμβράνες θεωρούνται ιδανικά εναλλακτικά υλικά συσκευασίας για την αντικατάσταση των συνθετικών πλαστικών. Οι μεμβράνες αυτές καταφέρνουν ταυτόχρονα όχι μόνο να δρουν ως προστατευτικά για τα τρόφιμα έναντι μικροβιακών και χημικών παραγόντων, αλλά και να βελτιώνουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και τη διάρκεια ζωής τους (Ghiasi et al., 2024). Λόγω της εξαιρετικά υδρόφιλης φύσης τους οι βρώσιμες μεμβράνες αποτελούν αντικείμενο εκτεταμένης μελέτης. Διαθέτουν καλή λειτουργικότητα όσον αφορά τις μηχανικές ιδιότητες και δρουν ως φραγμός απομακρύνοντας υγρασία και υδατμούς, γεγονός που τις καθιστά κατάλληλες για

την κατασκευή ενεργών συσκευασιών που ενσωματώνουν ευαίσθητες χρωστικές και βιοενεργά συστατικά, διατηρώντας τις ιδιότητές τους για μεγάλο χρονικό διάστημα. Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες πριν την εφαρμογή τους σε πραγματικά προϊόντα διατροφής ώστε να διερευνηθεί πλήρως η αποτελεσματικότητά τους όσον αφορά την παράταση της διάρκειας ζωής των τροφίμων (Ghiasi et al., 2024).

2.1.3 Διπλά Γαλακτώματα με εκχύλισμα φύλλων ελιάς ως υποκατάστατα λίπους

Τα διπλά γαλακτώματα έχουν προταθεί ως μια καλή στρατηγική για την βελτίωση του λιπιδικού προφίλ, αντικαθιστώντας το ζωικό λίπος το οποίο έχει υψηλή περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά. Τα φύλλα της ελιάς περιέχουν ενώσεις όπως οι πολυφαινόλες με ευεργετικές για την υγεία ιδιότητες, όπως αντιοξειδωτικές, καρδιοπροστατευτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιμικροβιακές (Şahin & Bilgin, 2018). Ωστόσο, όταν ενσωματώνονται σε τρόφιμα εκτίθενται σε δυσμενείς συνθήκες - ένζυμα, pH, αλληλεπίδραση με άλλα συστατικά- όπως επίσης και κατά την επεξεργασία των τροφίμων, οπότε και μπορεί να υποβαθμιστούν. Υπό αυτό το πρίσμα, η ενθυλάκωσή τους είναι σημαντική για τη διατήρηση της δραστηριότητας και τον έλεγχο της απελευθέρωσής τους. Παρατηρήθηκε, λοιπόν, από τους Robert et al., 2019 ότι η ενθυλάκωση εκχυλίσματος από φύλλα ελιάς στην εσωτερική υδατική φάση διπλού γαλακτώματος W/O/W το οποίο στη συνέχεια προστέθηκε στο εσωτερικό τροφίμου με βάση το κρέας, βελτίωσε την οξειδωτική σταθερότητα και αντιοξειδωτική ικανότητα του σκευάσματος κρέατος κατά την αποθήκευση στους 4°C για 14 ημέρες. (Robert et al., 2019).

2.1.4 Ενθυλάκωση Πικρών Πεπτιδίων

Η συνεχής ανάγκη για βελτίωση των διατροφικών συνηθειών έχει ως αποτέλεσμα όλο και περισσότερο την αύξηση της χρήσης φυσικών προϊόντων που θα αντικαταστήσουν τα συνθετικά. Οι έρευνες έχουν εστιάσει σε πολυπεπτίδια που απομονώνονται από φυτικές και ζωικές πρωτεΐνες λόγω των ευεργετικών τους ιδιοτήτων, συμπεριλαμβανομένων των αντιοξειδωτικών, αντιφλεγμονωδών, αντιβακτηριακών και αντιυπερτασικών (Sosalagere et al., 2022). Ωστόσο, μερικά από τα πολυπεπτίδια που παράγονται από την ενζυμική υδρόλυση πρωτεϊνών των τροφίμων έχουν πικρή γεύση, η οποία είναι απωθητική για τους καταναλωτές. Επιπλέον, τα πεπτίδια αυτά καταστρέφονται εύκολα στο στομάχι λόγω της υψηλής

οξύτητάς του και της δραστηριότητας της πεψίνης, η οποία μειώνει τη βιολογική τους δράση (Gao et al., 2022). Στόχος, λοιπόν, της βιομηχανίας τροφίμων είναι η συγκάλυψη της πικρής γεύσης και η βελτίωση της γαστρεντερικής σταθερότητάς τους.

Οι μέθοδοι ενθυλάκωσης σε διπλά γαλακτώματα έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την κάλυψη των δυσμενών αισθητηριακών ιδιοτήτων και τη βελτίωση της αποθήκευσης και γαστρεντερικής σταθερότητας των πολυπεπτιδίων (Tan and McClements, 2021), γεγονός που συνεπάγεται ότι τα διπλά γαλακτώματα αποτελούν καλούς μεταφορείς πολυπεπτιδίων. Τα πικρά πολυπεπτίδια έχουν την τάση να διαρρέουν στην εξωτερική υδατική φάση, περιορίζοντας με αυτόν τον τρόπο την κάλυψη της γεύσης και τις προστατευτικές ιδιότητες των διπλών γαλακτωμάτων. Προκειμένου να αντιμετωπιστεί αυτό το πρόβλημα, οι Gao et al., 2022 ενθυλάκωσαν τα πικρά πεπτίδια στην εσωτερική υδατική φάση διπλών γαλακτωμάτων W/O/W (Gao et al., 2022). Τόσο η εξωτερική όσο και η εσωτερική υδατική φάση ενισχύθηκαν με πήκτωμα ζελατίνης. Καθώς τα πεπτίδια βρίσκονται στην εσωτερική υδατική φάση, το ενδιάμεσο λιπιδικό στρώμα έχει προστατευτική δράση και μειώνει την επαφή τους με τους γευστικούς κάλυκες της γλώσσας και τα γαστρικά υγρά του στομάχου (Gao et al., 2022). Τα διπλά γαλακτώματα στα οποία η εσωτερική υδατική φάση είχε πηκτωματοποιηθεί παρουσίασαν υψηλότερη αποτελεσματικότητα ενθυλάκωσης ενώ αυτά που είχαν πηκτωματοποιημένη εξωτερική υδατική φάση είχαν καλύτερη φυσική σταθερότητα. Τέλος, τα διπλά γαλακτώματα όπου και οι δυο υδατικές φάσεις βρίσκονταν σε πήκτωμα, συνδύαζαν και τα δυο πλεονεκτήματα. Η παραπάνω μελέτη αποτελεί παράδειγμα του πώς η τεχνολογία των διπλών γαλακτωμάτων μπορεί να βελτιώσει τη γεύση, τη σταθερότητα και τον έλεγχο την απελευθέρωσης συστατικών των τροφών τα οποία ενδεχομένως να είναι βασικά για την ανάπτυξη πιο λειτουργικών τροφίμων που στοχεύουν στην βελτίωση της ανθρώπινης υγείας (Gao et al., 2022).

2.1.5 Διπλά Γαλακτώματα Pickering στα Τρόφιμα

Όπως έχει ήδη αναλυθεί, τα συμβατικά γαλακτώματα παρασκευάζονται έχοντας επιφανειοδραστικά μόρια ως σταθεροποιητικά μέσα, τα οποία μπορεί να είναι διαφορετικής επιφανειακής υδροφοβικότητας και χρησιμοποιούνται συνδυαστικά. Ωστόσο, αυτού του τύπου τα διπλά γαλακτώματα είναι επιρρεπή στην αποσταθεροποίηση λόγω πιθανής μετανάστευσης των επιφανειοδραστικών μεταξύ των διεπαφών.

Στο πλαίσιο αυτό, τα διπλά γαλακτώματα που σταθεροποιούνται με κολλοειδή σωματίδια συγκεντρώνουν όλο και περισσότερο το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας. Τα γαλακτώματα Pickering είναι γαλακτώματα οποιουδήποτε τύπου και πολυπλοκότητας, τα οποία σταθεροποιούνται από στερεά σωματίδια αντί των επιφανειοδραστικών ουσιών και των γαλακτωματοποιητών (Zhang et al., 2023). Αυτή είναι και η βασική διαφορά τους με τα υπόλοιπα γαλακτώματα, οι σταθεροποιητικοί τους παράγοντες οι οποίοι προσδίδουν μεγαλύτερη σταθερότητα. Τα στερεά σωματίδια στην περίπτωση των Pickering γαλακτωμάτων βρίσκονται στη διεπαφή των μη αναμειγμένων υγρών, όπου σχηματίζεται μια ισχυρή μεμβράνη από κολλοειδή στερεά σωματίδια στο σημείο διεπαφής (Murray, 2019). Η τελική σταθερότητα εξαρτάται από τη σύνθεση και τις ιδιότητες των σωματιδίων (τύπος, σχήμα, μέγεθος κλπ.). Η σταθεροποίηση με στερεά σωματίδια (σωματίδια Pickering) συνεπάγεται συγκεκριμένες ιδιότητες, όπως για παράδειγμα την υψηλότερη αντοχή στη συνένωση (Zhang et al., 2023).

Συνοψίζοντας, τα γαλακτώματα Pickering έχουν πολλά πλεονεκτήματα έναντι των συμβατικών γαλακτωμάτων όπως το γεγονός ότι δεν επηρεάζονται από παράγοντες του εξωτερικού περιβάλλοντος όπως η αλλαγή του pH, η ιοντική ισχύς, η θερμοκρασία και η σύνθεση της ελαιώδους φάσης του συστήματος και απαιτούν λιγότερες ποσότητες σταθεροποιητών κατά την προετοιμασία τους (Zhu, 2019). Δεδομένου του ότι τα στερεά σωματίδια που χρησιμοποιούνται για την σταθεροποίησή τους είναι κυρίως βρώσιμες φυσικές ουσίες, έχουν καλή βιοσυμβατότητα (Matos et al., 2021). Τα σωματίδια αυτά είναι κυρίως οργανικά υλικά όπως σωματίδια πολυσακχαριτών, σωματίδια πρωτεϊνών, λιπιδίων και ασφαλή ανόργανα όπως πυρίτιο, ανθρακικό ασβέστιο και υδροξυαπατίτης. Ως εκ τούτου, τα τελευταία χρόνια, τα Pickering γαλακτώματα αποτελούν σημαντική μέθοδο επεξεργασίας προϊόντων διατροφής. Έχει φανεί από αρκετές μελέτες ότι αυτού του τύπου τα γαλακτώματα είναι κατάλληλα για την ενθυλάκωση βιοδραστικών ενώσεων, όπως προβιοτικά, βιταμίνες, β-καροτένιο και κουρκουμίνη, σε τρόφιμα (Cheon et al., 2023; Zhang et al., 2023).

Ένα παράδειγμα εφαρμογής των γαλακτωμάτων αυτών στον τομέα των τροφίμων είναι η ενθυλάκωση και ελεγχόμενη αποδέσμευση των λειτουργικών τους συστατικών. Πιο αναλυτικά, η νέα τάση της βιομηχανίας τροφίμων είναι η στροφή στην κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν λειτουργικά και ενεργά συστατικά όπως βιταμίνες, φυτικές ίνες, ολιγοσακχαρίτες, πρωτεΐνες, κλπ., καθώς έτσι διευκολύνεται η ρύθμιση των λειτουργιών του σώματος και προλαμβάνονται ασθένειες, λόγω των αντικαρκινικών και αντιφλεγμονωδών χαρακτηριστικών τους (Li et al., 2020). Ωστόσο,

τα συστατικά αυτά ενδέχεται να είναι δύσκολα διαλυτά στο νερό και ασταθή στο εξωτερικό περιβάλλον. Με τη χρήση των Pickering γαλακτωμάτων μπορούν να ενθυλακώνονται αυτά τα ενεργά συστατικά βελτιώνοντας έτσι τη σταθερότητα και τη βιοδιαθεσιμότητά τους. Επιπλέον, επιτυγχάνεται στοχευμένη παράδοση και απελευθέρωση καθώς και αποτελεσματική αποβολή από τον οργανισμό (Chen et al., 2020; Zhang et al., 2023). Ως προς τη μείωση του λίπους που περιέχεται στις τροφές, ένας μεγάλος αριθμός μελετών έχει δείξει ότι απλά γαλακτώματα Pickering (αναφέρονται για λόγους σύγκρισης και ως παράδειγμα των δυνατοτήτων των Pickering γαλακτωμάτων) μπορούν να αντικαταστήσουν την κρυσταλλική τριακυλογλυκερόλη (TAG) -περιέχει υψηλές ποσότητες κορεσμένων λιπαρών οξέων και αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου- μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο την πρόσληψη λίπους προς όφελος των καταναλωτών (Chen et al., 2020).

2.2 Εφαρμογές Διπλών Γαλακτωμάτων στα Φάρμακα

Ένας τομέας όπου τα διπλά γαλακτώματα θα μπορούσαν να βρουν εφαρμογή και να προσφέρουν λύσεις είναι η βιομηχανία φαρμάκων. Η μοναδική δομή και οι ιδιότητές τους τα καθιστούν πολύτιμους φορείς για πληθώρα βιοδραστικών ουσιών. Κατά την παρασκευή των φαρμακευτικών προϊόντων, η χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα, η μικρή σταθερότητα, η πικρή γεύση και η δυσάρεστη οσμή ορισμένων από τους δραστικούς παράγοντες, αποτελούν ζητήματα προς επίλυση. Προκειμένου να αποφευχθούν τα προαναφερθέντα σημαντικά προβλήματα διαδραματίζει η ενθυλάκωση των δραστικών ουσιών σε διπλά γαλακτώματα.

Η μικροενθυλάκωση χρησιμοποιείται ευρέως από τη βιομηχανία φαρμάκων για την παρασκευή σκευασμάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης. Τα διπλά γαλακτώματα παρέχουν ελεγχόμενη αποδέσμευση και ενισχυμένη βιοδιαθεσιμότητα, επιτρέπουν δηλαδή την ελεγχόμενη και παρατεταμένη απελευθέρωση των δραστικών ουσιών που περιέχουν (Iqbal et al., 2015). Η δραστική ουσία ενθυλακώνεται εντός της εσωτερικής φάσης τους και η απελευθέρωσή της ρυθμίζεται με την πάροδο του χρόνου οδηγώντας σε παρατεταμένα θεραπευτικά αποτελέσματα και μειωμένες παρενέργειες. Η ελαιώδης φάση τους μπορεί να ενισχύσει τη διαλυτότητα, βελτιώνοντας τη βιοδιαθεσιμότητα του φαρμάκου και εξασφαλίζοντας με αυτόν τον τρόπο καλύτερη απορρόφηση από τον οργανισμό. Μάλιστα, έχει παρατηρηθεί αυξημένη απορρόφηση μέσω της γαστρεντερικής οδού φαρμάκων μετά από ενθυλάκωσή τους σε διπλά γαλακτώματα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η περίπτωση της ινσουλίνης, όπου όταν χορηγούταν μέσω διπλών γαλακτωμάτων εμφάνιζε μεγαλύτερη απορρόφηση από το ορθό και το κόλον (Ghosh, 2011). Έχει μελετηθεί in vivo η απελευθέρωση υδατοδιαλυτών φαρμάκων από σταθεροποιημένο γαλάκτωμα W/O/W σε επίμυες. Πιο συγκεκριμένα, μετά από ενδοφλέβια χορήγηση γαλακτώματος W/O/W που περιείχε τα αντιβιοτικά cefadroxil και cephadrine, παρατηρήθηκε ότι η συγκέντρωσή τους στο πλάσμα ήταν σημαντικά παρατεταμένη συγκριτικά με όταν χορηγούταν στους επίμυες το αντίστοιχο υδατικό διάλυμα (Vyas and Khar, 2004).

Στα σύγχρονα συστήματα χορήγησης φαρμάκων αποτελεί πρόκληση η χορήγηση υδρόφιλων μορίων όπως οι πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα. Λόγω της υδατοδιαλυτότητάς τους τείνουν να διαχέονται στη συνεχή υδατική φάση κατά τη διαδικασία της γαλακτωματοποίησης. Τα διπλά γαλακτώματα χρησιμοποιούνται για την ενθυλάκωση υψηλά υδατοδιαλυτών ενώσεων συμπεριλαμβανομένων πρωτεϊνών και πεπτιδίων (Ding et al., 2019). Το προστατευτικό περιβάλλον που προκύπτει

αποτρέπει την πρόωρη υποβάθμισή και ευνοεί τη διατήρηση της σταθερότητάς τους. Τα διπλά γαλακτώματα μπορούν να λειτουργήσουν προστατευτικά σε φάρμακα που είναι ευαίσθητα σε οξείδωση και υδρόλυση και έτσι να χρησιμοποιηθούν σε συστήματα από του στόματος χορήγησης φαρμάκων για την προστασία των δραστικών ουσιών κατά τη διέλευσή τους από το όξινο γαστρικό περιβάλλον και την ενίσχυση της απορρόφησής τους στην γαστρεντερική οδό (Sharma et al., 2018). Ακόμα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν κατά την κυτταρική και γονιδιακή θεραπεία προστατεύοντας το εύθραυστο γενετικό υλικό και τα κύτταρα και διασφαλίζοντας με αυτόν τον τρόπο την αποτελεσματικότητα της θεραπείας (Sharma et al., 2018). Θρεπτικά συστατικά όπως υδατάνθρακες, λίπη και βιταμίνες μπορούν να γαλακτωματοποιηθούν και να χορηγηθούν σε κλινήρεις ασθενείς, με τη μορφή στείρων ενδοφλεβίων, ενώ παράλληλα έχουν χρησιμοποιηθεί έως και για το σχεδιασμό συστημάτων που στοχεύουν στην αντιμετώπιση περιστατικών υπερδοσολογίας. Για παράδειγμα, W/O/W γαλακτώμα αφαιρεί όξινα φάρμακα όπως τα βαρβιτουρικά και τα σαλικυλικά από τη γαστρεντερική οδό παγιδεύοντας το μη ιονισμένο φάρμακο που διεισδύει μέσω της μεμβράνης του ελαίου στην εσωτερική φάση όπου μετατρέπεται σε ένα αδιάλυτο στο λάδι ανιόν (Sharma et al., 2018). Τέλος, έχουν μελετηθεί για την ενθυλάκωση και χορήγηση σκιαγραφικών μέσων κατά τη διαγνωστική απεικόνιση αφού η ελεγχόμενη απελευθέρωση παραγόντων απεικόνισης μπορεί να βελτιώσει την ποιότητα και τη διάρκεια της απεικόνισης (Sharma et al., 2018).

Επιπλέον, τα διπλά γαλακτώματα χρησιμοποιούνται για την παρασκευή φαρμάκων όπως αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινικά και αντιβιοτικά. Τα περισσότερα ενεργά μόρια που ενθυλακώνονται αφορούν σε αντικαρκινικά φάρμακα (Markowska-Radomska et al., 2023). Ο σχεδιασμός τους, τους προσδίδει τις επιθυμητές ιδιότητες για στοχευμένη παροχή του εκάστοτε φαρμάκου σε συγκεκριμένους ιστούς ή κύτταρα. Με την στοχευμένη χορήγηση ενισχύεται η θεραπευτική αποτελεσματικότητα ενώ παράλληλα μειώνονται οι παρενέργειες. Υπό αυτό το πρίσμα, τα διπλά γαλακτώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μεταφορά χημειοθεραπευτικών παραγόντων για τη θεραπεία του καρκίνου, αυξάνοντας την αποτελεσματικότητα και μειώνοντας την τοξικότητα, αφού συνδυάζουν τη στοχευμένη χορήγηση και την παρατεταμένη απελευθέρωση (Iqbal et al., 2015). Τα συστήματα αυτά είναι βιοσυμβατά, βιοδιασπώμενα και συμβατά με διαφορετικά είδη ελαίων και γαλακτωματοποιητών, ενώ παράλληλα μπορούν να ενθυλακώσουν τόσο υδρόφιλα όσο και υδρόφοβα είδη φαρμάκων και να τα προστατεύσουν (Ding et al., 2019). Μερικά παραδείγματα φαρμάκων στα οποία τα διπλά γαλακτώματα έχουν

χρησιμοποιηθεί ως μέσα μεταφοράς της δραστηκής ουσίας είναι: το Doxil® (λιποσωμική δοξορουβικίνη) είναι ένα λιποσωμικό σκεύασμα του χημειοθεραπευτικού φαρμάκου doxorubicin (υδρόφιλο) το οποίο χρησιμοποιείται για τη θεραπεία διαφόρων τύπων καρκίνου. Τα λιποσώματα, που αποτελούν τύπο διπλού γαλακτώματος, ενθυλακώνουν το φάρμακο, οδηγώντας σε ελεγχόμενη απελευθέρωση και μειωμένη τοξικότητα σε σύγκριση με το συμβατικό doxorubicin (Tewes et al., 2007). Αντίστοιχα, έχει παρατηρηθεί ότι διπλά γαλακτώματα που περιέχουν Paclitaxel (υδρόφοβο) παρουσιάζουν βελτιωμένη διαλυτότητα και ελεγχόμενη χορήγηση. Έρευνες έχουν δείξει ότι η ενθυλάκωση doxorubicin σε σωματίδια PLGA [πολυ(γαλακτικό-συν-γλυκολικό οξύ)] ένα από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα πολυμερή που χρησιμοποιούνται για την ενθυλάκωση δραστηκών ουσιών, ακολουθώντας τεχνική γαλακτωματοποίησης σε απλά ή διπλά γαλακτώματα οδηγεί σε μείωση του ρυθμού απελευθέρωσης και ως εκ τούτου ελεγχόμενη απελευθέρωση του σκευάσματος [το ποσοστό απελευθέρωσης εξαρτάται από παράγοντες όπως η υδατοδιαλυτότητα, το μέγεθος των σωματιδίων και το πάχος του πολυμερούς της επικάλυψης], ενώ παράλληλα έχει αποδειχθεί ότι η αντικαρκινική του δράση ενισχύεται παρουσία paclitaxel (Tewes et al., 2007).

Ως ανοσοενισχυτικά σε σκευάσματα, τα διπλά γαλακτώματα βελτιώνουν τη σταθερότητα και την ενίσχυση των ανοσολογικών αποκρίσεων, ενθυλακώνουν το αντιγόνο στην εσωτερική φάση του γαλακτώματος, το προστατεύουν από την αποικοδόμηση και ευνοούν την ελεγχόμενη απελευθέρωσή του (Sharma et al., 2018). Αυτό επιτυγχάνεται καθώς τα υδατοδιαλυτά αντιγόνα ενθυλακώνονται στην εσωτερική υδατική φάση η οποία λειτουργεί σαν προστατευτικό μικροπεριβάλλον, αποτρέποντας την αποικοδόμησή τους από παράγοντες όπως ένζυμα, μεταβολές του pH και διακυμάνσεις στη θερμοκρασία, αφού δημιουργεί έναν φυσικό φραγμό μεταξύ αντιγόνων και εξωτερικού περιβάλλοντος (Sharma et al., 2018). Παράλληλα, ελαχιστοποιούνται οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αντιγόνων, γεγονός που συνεπάγεται μειωμένη πιθανότητα δημιουργία συσσωματωμάτων, φαινόμενο που μπορεί οδηγήσει σε απώλεια δραστηκότητας. Επιπλέον, η δομή του διπλού γαλακτώματος επιτρέπει την ελεγχόμενη απελευθέρωση των αντιγόνων, οδηγώντας σε παρατεταμένη έκθεση του ανοσοποιητικού σε αυτά και ως εκ τούτου ενίσχυση της συνολικής ανοσολογικής απόκρισης (Sharma et al., 2018). Η ενσωμάτωση των αντιγόνων εντός των διπλών γαλακτωμάτων διευκολύνει την πρόσληψή τους από κύτταρα του οργανισμού που εμπλέκονται άμεσα στη διαδικασία ανοσοποίησης. Για παράδειγμα, η εύκολη πρόσληψη από τα δενδριτικά (APCs) οδηγεί σε καλύτερη παρουσίαση του αντιγόνου στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και

συνεπώς σε πιο ισχυρή και αποτελεσματικότερη ανοσολογική απόκριση. Το γεγονός αυτό ενισχύεται και από την ίδια την ελαιώδη φάση του γαλακτώματος αφού δρα σαν ανοσοενισχυτικό και ενεργοποιεί-στρατολογεί περισσότερα κύτταρα στην περιοχή εμβολιασμού.

Για τη χορήγηση εμβολίων υπομονάδας, δηλαδή εμβολίων που προκύπτουν από την εισαγωγή ενός τμήματος του επιθυμητού μικροοργανισμού (λ.χ. πρωτεΐνες της επιφάνειας) το οποίο μπορεί να διεγείρει το ανοσοποιητικό σύστημα, χρησιμοποιούνται κυρίως γαλακτώματα W/O/W (Huang et al., 2024). Τα αντιγόνα ενθυλακώνονται στην εσωτερική υδατική φάση, παρέχοντας προστασία και ελεγχόμενη απελευθέρωση. Ακόμα, διπλά γαλακτώματα χρησιμοποιούνται και κατά την παρασκευή μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (ΜΣΑΦ). Τα ΜΣΑΦ αποτελούν κατηγορία φαρμάκων που μειώνει τον πόνο, ελαττώνει τον πυρετό, αποτρέπει τους θρόμβους αίματος και μειώνει τη φλεγμονή (Markowska-Radomska et al., 2023). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το Celecoxib. Όπως και στις προηγούμενες περιπτώσεις, η ενσωμάτωση και αυτού του τύπου φαρμάκου σε διπλά γαλακτώματα οδηγεί σε ελεγχόμενη απελευθέρωση και ενίσχυση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας. Ακόμα, τα διπλά γαλακτώματα χρησιμοποιούνται και σε περιπτώσεις αντιμυκητιασικών φαρμάκων όπως το Amphotericin B, προσφέροντας ενισχυμένη χορήγηση, μειωμένη τοξικότητα και βελτιωμένα θεραπευτικά αποτελέσματα (Silva et al., 2013). Το Bupivacaine είναι τοπικό αναισθητικό που όταν ενθυλακώνεται σε διπλά γαλακτώματα απελευθερώνεται παρατεταμένα, παρέχοντας παρατεταμένη ανακούφιση από τον πόνο. Τέλος, τα διπλά γαλακτώματα μπορούν να ενθυλακώσουν έως και ορμόνες, με χαρακτηριστικό το παράδειγμα της ινσουλίνης, όπου παρατηρείται καλύτερη απορρόφησή της κατά την από του στόματος χορήγηση της ορμόνης όταν αυτή έχει εγκλειστεί σε διπλά γαλακτώματα (Mutaliyeva et al., 2017)).

Η ανάπτυξη παραγόντων για την ταυτόχρονη διάγνωση και θεραπεία διαφόρων ασθενειών (theranostics) αποτελεί τα τελευταία χρόνια αντικείμενο πολλών ερευνών (Ahmed et al., 2012). Πρόκειται για μια τεχνική που συνδυάζει την εξατομικευμένη ιατρική με την πυρηνική, ουσιαστικά χρησιμοποιείται ένα ραδιενεργό φάρμακο για τη διάγνωση και ένα άλλο για τη θεραπεία. Η πλειοψηφία των ερευνών αυτών έχει επικεντρωθεί κυρίως στην ογκολογία, καθώς εκτιμάται ότι θα επιτρέψουν την έγκαιρη και μειωμένου κόστους διαχείριση της νόσου. Στόχος είναι σε αυτή την προσπάθεια να προστεθούν και τα διπλά γαλακτώματα για την ταυτόχρονη ενθυλάκωση διαγνωστικών και θεραπευτικών παραγόντων. Ένα παράδειγμα τέτοιας μεθόδου, αποτελεί η έρευνα των Yang et al. (2010), οι οποίοι κατασκεύασαν νανοσωματίδια

που περιείχαν υπερπαραμαγνητικό οξείδιο του σιδήρου (στοιχείο που χρησιμοποιείται κατά την μαγνητική τομογραφία MRI) μαζί με το αντικαρκινικό φάρμακο δοξορουβικίνη, συνδυάζοντας έτσι διάγνωση και στοχευμένη θεραπεία (Yang et al., 2010). Τα διπλά γαλακτώματα έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για τη δημιουργία σωματιδίων με δυνατότητα διπλής στόχευσης (μαγνητική και μοριακή) και ταυτόχρονη χορήγηση υδρόφιλων και υδρόφοβων φαρμάκων. Οι Su et al. (2014) ενθυλάκωσαν υδρόφιλο doxorubicin και υδρόφοβο paclitaxel σε νανοσωματίδια μαζί με υπερπαραμαγνητικό οξείδιο του σιδήρου, τα οποία συζεύχθηκαν περαιτέρω με μονοκλωνικό αντίσωμα προκειμένου να στοχεύσουν ειδικά τα κύτταρα στόχους (HER-2 positive καρκινικά κύτταρα). Η χορήγηση φαρμάκου με διπλή στόχευση μπορεί προσφέρει πιο στοχευμένη συσσώρευση σωματιδίων που φέρουν τη δραστική ουσία στην περιοχή του όγκου, γεγονός που συνεπάγεται χαμηλότερες δόσεις φαρμάκου και ως εκ τούτου λιγότερες παρενέργειες της θεραπείας κατά του καρκίνου (Su et al., 2014).

2.2.1 Ελεγχόμενη αποδέσμευση χορηγούμενων φαρμάκων

Η λήψη συμβατικών μορφών φαρμάκων (δισκία, κάψουλες, σιρόπια, ταμπλέτες) ακολουθείται για την αντιμετώπιση πολλών ασθενειών. Ωστόσο, εμφανίζουν μειονεκτήματα καθώς υπάρχει ταχεία απελευθέρωση, διάλυση στα υγρά του γαστρεντερικού σωλήνα, απορρόφηση και είσοδος του φαρμάκου στην κυκλοφορία του αίματος. Μέσω της κυκλοφορίας κατανέμεται σε διάφορες περιοχές του σώματος και τελικά μόνο μια μικρή ποσότητα φθάνει στον πάσχοντα ιστό. Συνεπώς, προκειμένου να επιτευχθεί ικανοποιητική δόση, χορηγούνται περισσότερες δόσεις. Η ανάπτυξη συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης των φαρμάκων συμβάλλει σε βελτιστοποίηση του θεραπευτικού αποτελέσματος και σε μείωση των ανεπιθύμητων παρενεργειών. Αυτό το ρόλο αναλαμβάνουν τα διπλά γαλακτώματα, τα οποία διαθέτουν τα επιθυμητά χαρακτηριστικά όπως βιοσυμβατότητα, δυνατότητα εγκλωβισμού δραστικών ουσιών και είναι βιοαποικοδομήσιμα, ενώ παράλληλα προστατεύουν τη δραστική ουσία από τα όξινα υγρά του στομάχου και το αντίστροφο.

Τα βιοδιασπώμενα πολυμερή έχουν χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα στα συστήματα μεταφοράς φαρμάκων για την ενθυλάκωση δραστικών ουσιών, καθώς μπορούν να αποικοδομηθούν σε μη τοξικά συστατικά. Τα πολυμερή αυτά αποτελούνται από ομάδες εστέρα, αιθερικές και αμιδικές. Υπάρχουν διαφορετικά είδη πολυμερών όπως τα PLA, PLGA και PCL τα οποία ερευνώνται για την ενθυλάκωση δραστικών

φαρμάκων με τη χρήση της τεχνικής διπλού γαλακτώματος (Badri et al., 2014). Το PCL (polycaprolactone) είναι ένα μη τοξικό, βιοαποικοδομήσιμο και βιοσυμβατό πολυμερές με χαμηλό σημείο τήξης. Οι μεταβολίτες του αποβάλλονται από το σώμα μέσω μεταβολικών διεργασιών. Έχει μελετηθεί εκτενώς η παρουσία του σε συστήματα χορήγησης φαρμάκων σε διάφορα σκευάσματα λόγω της συμβατότητας που παρουσιάζει με ένα ευρύ φάσμα φαρμάκων και της αργής του αποικοδόμησης, συμβάλλοντας έτσι στην παρατεταμένη απελευθέρωση του φαρμάκου (Iqbal et al., 2014). Το PLGA [πολυ(γαλακτικό-συν-γλυκολικό οξύ)] είναι ένα επίσης βιοσυμβατό και βιοαποικοδομήσιμο πολυμερές που χρησιμοποιείται συνήθως στα διπλά γαλακτώματα (Butreddy et al., 2021). Μετά την έγκριση του FDA για χρήση στον άνθρωπο, αποτελεί αρκετά δημοφιλή επιλογή για τη χορήγηση των δραστικών ουσιών των φαρμάκων. Το PLGA υποβαθμίζεται σταδιακά σε προϊόντα γαλακτικού σε γλυκολικού οξέος μέσω υδρόλυσης και έτσι απελευθερώνει τους ενθυλακωμένους παράγοντες αργά και για μεγάλη χρονική περίοδο (εβδομάδες έως και μήνες). Το πολυμερές PLA [πολυ(γαλακτικό οξύ)] είναι επίσης εγκεκριμένο από τον FDA για χρήση στον άνθρωπο και έχει χρησιμοποιηθεί σε συστήματα διπλών γαλακτωμάτων (Butreddy et al., 2021). Αποτελεί μια από τις πιο πολλά υποσχόμενες κατηγορίες βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών λόγω των μηχανικών τους ιδιοτήτων, της καλής βιοσυμβατότητάς και της χαμηλής τοξικότητάς τους. Ωστόσο, πέραν των πλεονεκτημάτων τους, παρουσιάζουν και ορισμένες ελλείψεις όπως ο κίνδυνος τοξικότητας και ανοσογονικότητας λόγω των όξινων παραπροϊόντων που μπορεί να προκύψουν σε περιπτώσεις που χρησιμοποιούνται για μεγάλο χρονικό διάστημα. Η ανοσογονικότητα αποτελεί μια κοινή παρενέργεια των βιολογικών φαρμάκων κατά την οποία το ανοσοποιητικό σύστημα του ασθενούς αναγνωρίζει το φάρμακο ως «ξένη» πρωτεΐνη και προσπαθεί να το καταστρέψει (Butreddy et al., 2021)..

Τα αντιικά φάρμακα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της εποχικής γρίπης (Young-Xu et al., 2019). Μεταξύ άλλων, το zanamivir αποτελεί ισχυρό αναστολέα των ιών της γρίπης και των αντίστοιχων αναδυόμενων ανθεκτικών στελεχών. Εμφανίζει υψηλή αντιική αποτελεσματικότητα, ωστόσο έχει μικρή εντερική διαπερατότητα και ως εκ τούτου χορηγείται μέσω του αναπνευστικού με τη μορφή εισπνεόμενου. Πειράματα με χρήση διπλών γαλακτωμάτων έχουν δείξει ότι η ενσωμάτωση του ενεργού μορίου σε λιπόφιλο σύστημα χορήγησης βελτιώνει τη διαπερατότητά του ως προς τη βλεννογόνο μεμβράνη και συνεπώς τη βιοδιαθεσιμότητα του κατά την από του στόματος χορήγησή του. Πιο συγκεκριμένα, το υδρόφιλο zanamivir ενθυλακώθηκε μέσα σε εσωτερικές υδατικές φάσεις οι οποίες διασκορπίστηκαν εντός σταγονιδίων ελαίου (Debotton et al., 2022). Τα διπλά

γαλακτώματα W/O/W που προέκυψαν είναι σταθερά και αργού ρυθμού απελευθέρωσης των φαρμάκων. Είναι επομένως εμφανής ο ρόλος των διπλών γαλακτωμάτων ως πολλά υποσχόμενων συστημάτων χορήγησης, τα οποία βελτιώνουν τη βιοδιαθεσιμότητα αντιικών φαρμάκων όπως το zanamivir (Debotton et al., 2022).

2.2.2 SDEDDS – το παράδειγμα του Clofazimine

Η αυτογαλακτωματοποίηση αποτελεί μια τεχνική σύνθεσης γαλακτωμάτων με αποδεδειγμένη ικανότητα βελτίωσης της από του στόματος χορήγησης ελάχιστα υδατοδιαλυτών φαρμάκων, ενισχύοντας τόσο τη διαλυτότητα όσο και τη βιοδιαθεσιμότητα των συγκεκριμένων δραστικών ενώσεων (Salawi, 2022). Τα SEDDSs (self-emulsifying drug delivery systems, αυτογαλακτωματοποιούμενα συστήματα χορήγησης φαρμάκου) και SDEDDSs (self-double-emulsifying drug delivery systems) χρησιμοποιούνται επομένως για τη βελτίωση της χορήγησης λιπόφιλων φαρμάκων (van Staden et al., 2020). Ένα SEDDS ή SDEDDSs όταν βρεθεί σε υδατικό περιβάλλον γαλακτωματοποιείται αυθόρμητα ή υπό συνθήκες ήπιας ανάδευσης, σχηματίζοντας διασπορά ελαίου σε νερό. Η παρούσα εργασία αναφέρεται στα διπλά γαλακτώματα και ως εκ τούτου θα εστιάσει μόνο στα SDEDDSs. Κατά τη μεταφορά λιπόφιλων φαρμάκων με SDEDDSs, μετά την από του στόματος χορήγησή τους, σχηματίζουν αυθόρμητα μικρογαλακτώματα κατά την επαφή τους με τα γαστρεντερικά υγρά. Τα SDEDDSs έχουν δημιουργηθεί με στόχο να αυξήσουν τη σταθερότητα των δραστικών ουσιών που χορηγούνται μέσω της στοματικής κοιλότητας. Παράλληλα, τα SDEDDSs έχουν τη δυνατότητα να διαπερνούν τη βλεννογόνο και το δέρμα (van Staden et al., 2022).

Ένα χαρακτηριστικό των SDEDDSs -και συγκεκριμένα αυτών που προορίζονται για δερματική χρήση-, το οποίο τα καθιστά χρήσιμο εργαλείο για τη βιομηχανία των φαρμάκων, είναι το γεγονός ότι μπορούν να μεταφέρουν συνδυασμό ενεργών συστατικών, καθώς προσφέρουν περισσότερες επιλογές διαλυτοποίησης πολλών φαρμάκων σε ένα και μόνο σκεύασμα (van Staden et al., 2022). Το Clofazimine είναι μια εξαιρετικά λιπόφιλη χρωστική, η οποία δημιουργήθηκε στοχεύοντας στην καταπολέμηση του *Mycobacterium tuberculosis*, βακτηρίου που προκαλεί τη φυματίωση. Τα τελευταία χρόνια έχει σημειωθεί αύξηση των κρουσμάτων φυματίωσης ακόμα και σε ευρωπαϊκές χώρες όπως η Γερμανία και η Ελβετία (Walker et al., 2018). Μάλιστα, η Ευρώπη έχει το μεγαλύτερο ποσοστό μολύνσεων λόγω ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά. Η από του στόματος χρήση του clofazimine είναι

ασταθής και προκαλεί πολλές συστημικές παρενέργειες (O'connor et al., 1995) Από την άλλη, η τοπική χορήγηση του φαρμάκου στην επιφάνεια του σώματος, σε μια εντοπισμένη περιοχή όπως το δέρμα είναι ικανή να προσφέρει ανακούφιση, η οποία περιορίζεται στην περιοχή εφαρμογής και ως εκ τούτου δε δημιουργεί συστημικές παρενέργειες. Ωστόσο, δεδομένου ότι το δέρμα αποτελεί φυσικό φραγμό και έχει ως στόχο του να εμποδίζει την είσοδο εντός του σώματος, η διείσδυση φαρμάκων σε συγκεντρώσεις που να μπορούν να επιφέρουν κλινικά αποτελέσματα, είναι περιορισμένη. Η υψηλή υδροφοβικότητα του clofazimine (και εν γένει μεγάλου ποσοστού των φαρμάκων που κυκλοφορούν στην αγορά), καθιστά τα συστήματα μεταφοράς που βασίζονται σε λιπίδια, ιδιαίτερα σημαντικά για την παροχή τους (O'connor et al., 1995). Η ενθυλάκωση των λιπόφιλων φαρμάκων σε αδρανή λιπιδικά οχήματα όπως τα SDEDDSs διευκολύνει τη στοχευμένη χορήγηση, βελτιώνοντας τα θεραπευτικά αποτελέσματα και μειώνοντας τις παρενέργειες. Υπό αυτό το πρίσμα, τα SDEDDSs είναι κατάλληλα για τη χορήγηση του clofazimine και συνεπώς την καταπολέμηση της φυματίωσης (van Staden et al., 2022).

Πιο αναλυτικά, τα SEDDSs είναι ισοτροπικά και θερμοδυναμικά σταθερά γαλακτώματα που, όπως έχει ήδη αναφερθεί και παραπάνω, μετατρέπονται αυθόρμητα σε γαλακτώματα με την προσθήκη υδατικών μέσων και παρουσία ήπιας ανάδευσης (van Staden et al., 2022). Λαμβάνοντας υπόψιν τα πλεονεκτήματα των SEDDSs όσον αφορά στην ευκολία σύνθεσης και την ικανότητα διαλυτοποίησης για τα λιπόφιλα φάρμακα, τα SDEDDSs έχουν ακόμα περισσότερα οφέλη. Η παροχή του φαρμάκου βελτιστοποιείται καθώς οι πολλαπλές φάσεις βελτιστοποιούν τη διαλυτότητα και τη χορήγηση του φαρμάκου διαμέσου του δέρματος (van Staden et al., 2022). Δεδομένου του ότι η θεραπεία της φυματίωσης απαιτεί συνδυασμούς διαφορετικών φαρμάκων που χορηγούνται για μεγάλες χρονικές περιόδους, τα SDEDDSs αποτελούν ελκυστικά οχήματα για τη δερματική χορήγηση φαρμάκων, επιτρέποντας την ταυτόχρονη ενθυλάκωση πολλών φαρμάκων, εντός των υδρόφιλων και λιπόφιλων φάσεων αυτών των πολλαπλών γαλακτωμάτων (van Staden et al., 2022). Η ανάπτυξη ενός ολοκληρωμένου SDEDDSs συστήματος για τη θεραπεία της φυματίωσης ενδεχομένως να καταφέρει να καταστήσει μειωμένη δόση του φαρμάκου, βιοϊσοδύναμη με την από του στόματος χορήγησή του. Λόγω της φύσης της φυματίωσης αυτό που είθισται να γίνεται είναι να συνίστανται σταθερά υψηλές δόσεις αντιφυματικών φαρμάκων. Η χρήση των SDEDDSs για δερματική χορήγηση του clofazimine συνεπάγεται χαμηλότερες συγκεντρώσεις του φαρμάκου, σταθερά προφίλ χορήγησής του, τα οποία θα είναι κυτταροτοξικά έναντι του βακτηρίου και άρα καταστολή της αντίστασης στα φάρμακα (van Staden et al., 2022).

2.2.3 Ενθυλάκωση Κροκίνης για αντιμετώπιση Κατάθλιψης

Η κατάθλιψη επηρεάζει το 20% του πληθυσμού και αποτελεί μία από τις δέκα κύριες αιτίες θανάτου παγκοσμίως (Nazari and Asili, 2023). Τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της (εκλεκτικοί αναστολείς σεροτονίνης, αναστολείς μονοαμινοξειδάσης), χρειάζονται εκτεταμένη περίοδο θεραπείας προκειμένου να δείξουν τα αποτελέσματά τους και ο κίνδυνος υποτροπής της νόσου εμμένει, επομένως υπάρχει η ανάγκη εύρεσης νέων θεραπευτικών μέσων (Nazari and Asili, 2023). Μελέτες έχουν δείξει ότι υδατικά και αλκοολούχα εκχυλίσματα σαφράν είχαν αντικαταθλιπτική δράση σε αρουραίους (Fan et al., 2023). Η κροκίνη είναι αντιοξειδωτικό που περιέχεται στο σαφράν, και ως βιοδραστική ένωση είναι αποτελεσματική κατά της κατάθλιψης, ωστόσο είναι ευαίσθητη σε παράγοντες όπως θερμοκρασία, pH, οξυγόνο, και η απόδοσή της μειώνεται με την πάροδο του χρόνου. Στο πλαίσιο αυτό, η νανοενθυλάκωσή της με χρήση διπλών γαλακτωμάτων είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται προκειμένου να αυξηθεί η σταθερότητά της. Μέχρι στιγμής, βρίσκεται σε εργαστηριακό στάδιο, ωστόσο η μοντελοποίηση της απελευθέρωσης κροκίνης από διπλά γαλακτώματα έχει δείξει αντικαταθλιπτική δράση

2.3 Εφαρμογές Διπλών Γαλακτωμάτων στα Καλλυντικά

Η βιομηχανία των καλλυντικών αποτελεί έναν ακόμα τομέα που μπορεί να αξιοποιήσει τα διπλά γαλακτώματα, λόγω της ικανότητάς τους να ενθυλακώνουν, να μεταφέρουν ενεργά συστατικά και να ενισχύουν τη σταθερότητα και την απόδοση των προϊόντων. Μπορούν να ενθυλακώνουν υδρόφιλα και υδρόφοβα ενεργά συστατικά ταυτόχρονα στις διαφορετικές φάσεις τους, καθιστώντας εφικτή την ενσωμάτωση μεγάλου φάσματος καλλυντικών ουσιών όπως παράγοντες ενυδάτωσης, βιταμίνες, αντιοξειδωτικά, και παράγοντες λεύκανσης του δέρματος. Έτσι, τα ενεργά συστατικά προστατεύονται από την υποβάθμιση και ταυτόχρονα εξασφαλίζεται η παρατεταμένη αποτελεσματικότητά τους. Η πολυστρωματική δομή των διπλών γαλακτωμάτων ευνοεί την ελεγχόμενη απελευθέρωση των συστατικών που έχουν ενθυλακώσει και με αυτόν τον τρόπο εξασφαλίζεται μια διαρκής και παρατεταμένη παροχή ενεργών συστατικών στο δέρμα και συνεπώς ενισχυμένη αποτελεσματικότητα (Sonchal et al., 2008).

Μέσω των διπλών γαλακτωμάτων, τα ενεργά συστατικά των καλλυντικών διεισδύουν καλύτερα στο δέρμα, διευκολύνοντας την απορρόφησή τους. Αυτό συμβαίνει γιατί το μικρό μέγεθος και η ομοιόμορφη κατανομή των σταγονιδίων τους επιτρέπουν στα ενεργά συστατικά να φτάσουν σε βαθύτερα στρώματα του δέρματος, οδηγώντας σε βέλτιστα αποτελέσματα. Επιπλέον, συμβάλλουν στην προστασία του δέρματος από περιβαλλοντικούς στρεσογόνους παράγοντες όπως η υπεριώδης ακτινοβολία, η ρύπανση και η οξειδωτική βλάβη, αφού μπορούν να ενθυλακώνουν αντιοξειδωτικά, φίλτρα UV και άλλους προστατευτικούς παράγοντες. Ενισχύουν, εν ολίγοις, την ανθεκτικότητα και τους αμυντικούς μηχανισμούς του δέρματος έναντι των εξωτερικών επιβλαβών παραγόντων (Sonchal et al., 2008).

Τα διπλά γαλακτώματα σταθεροποιούν τα καλλυντικά σκευάσματα, ιδίως εκείνα που περιέχουν ευαίσθητα συστατικά. Η ενθυλάκωση των συστατικών αυτών βοηθά στην πρόληψη του διαχωρισμού των φάσεων, βελτιώνει την ομοιογένεια του προϊόντος και παρατείνει τη διάρκεια ζωής του. Ακόμα, μπορούν να βελτιώσουν την απόδοση των καλλυντικών προϊόντων αλλάζοντας την υφή, την ικανότητα επάλειψης και τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά τους (Sonchal et al., 2008). Η δομή και τα χαρακτηριστικά των διπλών γαλακτωμάτων, παρέχουν τη δυνατότητα ανάπτυξης καινοτόμων -έως και εξατομικευμένων- καλλυντικών σκευασμάτων με ιδιαίτερες υφές και συστήματα διανομής, προσαρμοσμένα στις ανάγκες της αγοράς ώστε να προσφέρουν στον καταναλωτή μοναδικές αισθητηριακές εμπειρίες. Μπορούν να ενσωματωθούν σε διάφορους τύπους καλλυντικών προϊόντων όπως κρέμες, λοσιόν,

ορούς, μάσκες ακόμα και αντιηλιακά. Η ευελιξία τους επιτρέπει τη δημιουργία μεγάλης γκάμας προϊόντων περιποίησης δέρματος, μαλλιών και μακιγιάζ, καλύπτοντας πληθώρα αναγκών.

2.3.1 W/O/W Γαλακτώματα και Καλλυντικά

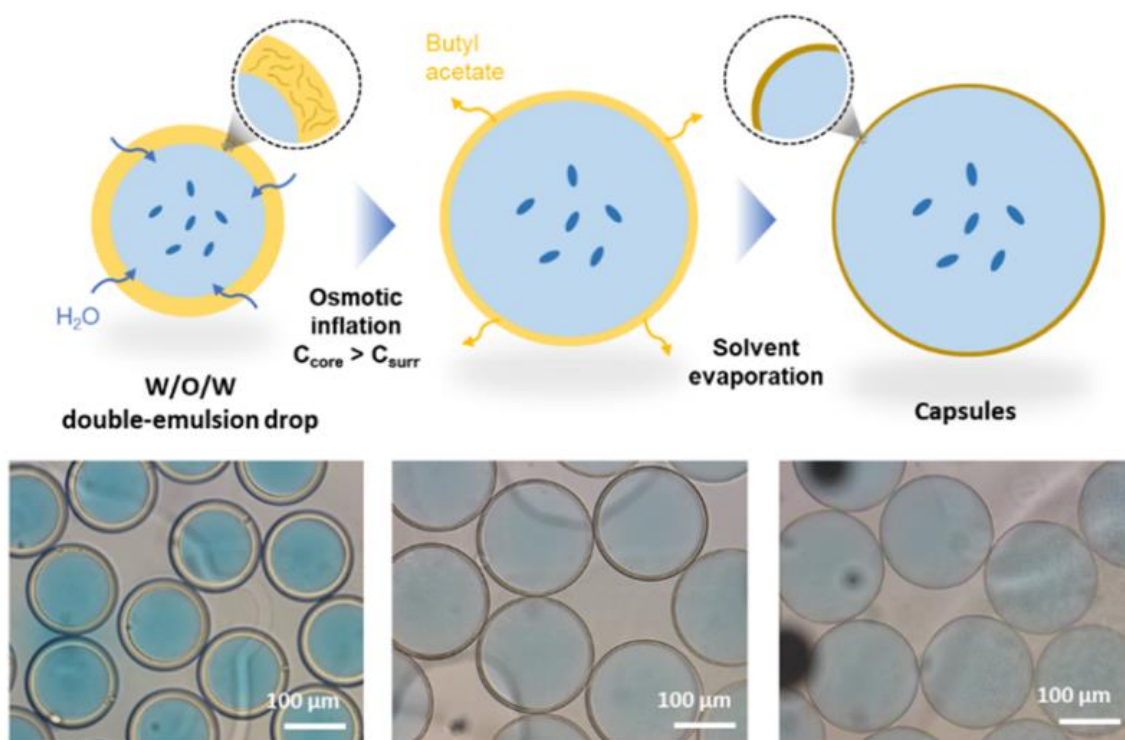
Τα απλά γαλακτώματα W/O και O/W έχουν χρησιμοποιηθεί ως βασικές μορφές για διάφορα προϊόντα ιδιαίτερα στην παραγωγή καλλυντικών όπως κρέμες και λοσιόν. Τα συστήματα διπλών γαλακτωμάτων W/O/W αποτελούν ένα επόμενο στάδιο στην εξέλιξη των καλλυντικών και προσφέρουν χαρακτηριστικά όπως παρατεταμένη απελευθέρωση αρώματος και ενυδάτωση του δέρματος, ενώ παράλληλα προστατεύουν τις ευαίσθητες δραστικές ουσίες και αποτρέπουν την αλληλεπίδραση άλλων. Αρχικά, οι καλλυντικές κρέμες τύπου W/O παρά την λεία τους εμφάνιση και την καλή καθαριστική τους δράση, αφήνουν μια κολλώδη και λιπαρή αίσθηση καθώς κατά την εφαρμογή έρχεται σε επαφή με το δέρμα η εξωτερική ελαιώδης φάση τους. Από την άλλη, τα καλλυντικά γαλακτώματα τύπου O/W, παρέχουν εξαιρετική αίσθηση ανανέωσης όταν εφαρμόζονται στο δέρμα, αλλά είναι λιγότερο αποτελεσματικά ως προς τον καθαρισμό και την απαλότητα που προσφέρουν συγκριτικά με τις W/O (Cizauskaite and Bernatoniene, 2018).

Τα διπλά γαλακτώματα W/O/W καταφέρνουν να εξαλείψουν τα μειονεκτήματα που έχει κάθε ένας τύπος ξεχωριστά, παρέχοντας ταυτόχρονα λεπτή υφή και λεία αίσθηση κατά την εφαρμογή στο δέρμα. Λόγω της ελαιώδους ή υδάτινης μεμβράνης που σχηματίζουν, τα πολλαπλά γαλακτώματα εξασφαλίζουν την πλήρη προστασία του δραστικού συστατικού που έχουν παγιδεύσει στο εσωτερικό τους και την ελεγχόμενη απελευθέρωσή του από την εσωτερική στην εξωτερική φάση. Αυτά, σε συνδυασμό με το συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον για φυσικά καλλυντικά οδήγησε τους Cizauskaite και Bernatoniene στη δημιουργία καινοτόμου W/O/W γαλακτώματος το οποίο περιέχει εκχυλίσματα βοτάνων (Cizauskaite and Bernatoniene, 2018). Πιο αναλυτικά, παρασκευάστηκε από αιθανολικό εκχύλισμα δενδρολίβανου και σταθεροποιήθηκε χρησιμοποιώντας φυτικά πηκτώματα. Η συγκεκριμένη προσέγγιση απλοποιεί την παρασκευαστική διαδικασία καθώς παρακάμπτει όλα τα τεχνικά στάδια πλην τα λιγότερο χρονοβόρα και επιπλέον δεν απαιτεί πρόσθετα επιφανειοδραστικά (Cizauskaite and Bernatoniene, 2018). Καθώς η παρουσία δενδρολίβανου έχει πιθανώς προστατευτική δράση έναντι της ερεθιστικής δερματίτιδας, λόγω της εκτεταμένης παρουσίας εκχυλισμάτων βοτάνων και αλκοόλης, ελέγχθηκε η πιθανότητα να προκαλέσουν ερεθισμό ή ξηρότητα στο δέρμα, μέσω 3D in vitro

μοντέλων προσομοίωσης της επιδερμίδας. Παράλληλα, αξιολογήθηκε η *in vivo* επίδρασή τους στην υγρασία, την περιεκτικότητα σε σμήγμα και τη μελάγχρωση του ανθρώπινου δέρματος, με χρήση δερματοσκοπικής κάμερας και κερατομέτρου. Έχει, λοιπόν, διαπιστωθεί ότι το συγκεκριμένο γαλάκτωμα δεν εμφανίζει ερεθιστική ούτε φωτοτοξική δράση στα κερατινοκύτταρα του ανθρώπινου δέρματος. Το παρόν γαλάκτωμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προϊόν παρατεταμένης επαφής με το δέρμα ("leave-on" product) λόγω της θετικής του επίδρασης και της ικανότητας της δομής του να ενθυλακώνει πληθώρα δραστικών ενώσεων (Cizauskaite and Bernatoniene, 2018).

2.3.1.1 Μικροκάψουλες με λεπτό κέλυφος για Καλλυντικές Εφαρμογές

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει αυξημένη ζήτηση από τη βιομηχανία καλλυντικών για κάψουλες μικρού μεγέθους και εξαιρετικά λεπτού κελύφους. Ωστόσο, οι συμβατικές μέθοδοι δημιουργίας μικροκαψουλών επιτυγχάνουν μόνο χαμηλή αποτελεσματικότητα ενθυλάκωσης και περιορισμένο έλεγχο του μεγέθους τους. Μια μικροκάψουλα περικλείεται από συμπαγή μεμβράνη με τις ιδιότητές της να καθορίζουν τις ιδιότητες της μικροκάψουλας. Τη δυνατότητα για ευκολότερο έλεγχο των ιδιοτήτων των μεμβρανών την παρέχει η εγγενής γεωμετρία πυρήνα-κελύφους των διπλών γαλακτωμάτων (Hamonangan et al., 2022). Ωστόσο τέτοιου τύπου κάψουλες δεν μπορούν να παραχθούν απευθείας με ελεγχόμενο τρόπο. Για το σκοπό αυτό, ο Hamonangan και οι συνεργάτες του, στηριζόμενοι στις πρόσφατες εξελίξεις στον τομέα των μικρορευστών, παρασκεύασαν κάψουλες πολύ μικρού μεγέθους -της τάξεως των μm-, μεγάλης χωρητικότητας και με εξαιρετικά λεπτό βιοδιασπώμενο κέλυφος μέσω ωσμωτικής διόγκωσης σταγονιδίων διπλού γαλακτώματος W/O/W. Παρουσία εξωτερικής δύναμης, οι κάψουλες αυτές απελευθερώνουν τις ενώσεις που έχουν ενθυλακώσει και καθώς χάνουν τον όγκο τους, αφήνουν υπολείμματα κελυφών τα οποία είναι εξαιρετικά λεπτά. Είναι, επομένως, σημαντικές για χρήση από τη βιομηχανία καλλυντικών καθώς τα ελάχιστα υπολείμματα που αφήνουν καθιστούν το τελικό προϊόν ευχάριστο για τον καταναλωτή, ακόμα και μετά την εφαρμογή του, (Hamonangan et al., 2022).



Εικόνα 6. Σχηματική αναπαράσταση των σταγόνων διπλών γαλακτωμάτων κατά την προετοιμασία τους (αριστερά), μετά από ωσμωτική πίεση (μεσαία) και έχοντας σχηματιστεί το κέλυφος ελαίου, συνοδευόμενες και από τις αντίστοιχες εικόνες οπτικού μικροσκοπίου (Hamonangan et al., 2022).

Προκειμένου να αυξηθεί το μέγεθος των σταγονιδίων παράλληλα με τη μείωση του πάχους του κελύφους, σταγόνες διπλού γαλακτώματος διογκώνονται ωσμωτικά μέσα από ροή σε υποτονικές συνθήκες. Έτσι παράγονται μικροκάψουλες με εξαιρετικά λεπτή μεμβράνη. Ωστόσο, μέχρι στιγμής, δεν έχει πραγματοποιηθεί κάποια συστηματική μελέτη για τον ακριβή έλεγχο μέσω της ώσμωσης του μεγέθους της μικροκάψουλας και του πάχους της μεμβράνης. Επιπλέον, χρησιμοποιούνται στο κέλυφος τοξικοί οργανικοί διαλύτες, γεγονός που περιορίζει τη χρήση τους από τη βιομηχανία καλλυντικών. Προκειμένου να αποφύγουν τους όποιους περιορισμούς, ο Hamonangan και οι συνεργάτες του, συνέθεσαν σταγονίδια W/O/W γαλακτώματος με τη βοήθεια τροχοειδούς συσκευής μικρορευστών. Αρχικά, τα σταγονίδια W/O/W γαλακτώματος διογκώθηκαν σε υποτονικές συνθήκες και εν συνεχεία τα κελύφη του ελαίου ενοποιήθηκαν ώστε να σχηματίσουν βιοαποικοδομήσιμες μεμβράνες PLGA. Το μεγάλο μέγεθος και η λεπτή μεμβράνη καθιστούν τις κάψουλες που προκύπτουν ικανές να ανταποκρίνονται στη ρήξη και την απελευθέρωση των ενθυλακωμένων ενώσεων, παρουσία ήπιας μηχανικής καταπόνησης όπως για παράδειγμα ένα απαλό τρίψιμο στο δέρμα. Παράλληλα, παρουσιάζει υψηλή σταθερότητα ενθυλάκωσης σε περιβάλλοντα από τα οποία απουσιάζουν περιβαλλοντικές μηχανικές καταπονήσεις. Τέλος, τα υλικά και οι διαδικασίες που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τους είναι

βιοσυμβατά και ως εκ τούτου είναι άμεσα εφαρμόσιμα σε καλλυντικές εφαρμογές (Hamonangan et al., 2022).

2.3.2 O/W/O Γαλακτώματα

Ένα πολλαπλό γαλάκτωμα O/W/O προκύπτει όταν ένα O/W γαλακτωματοποιηθεί και διασπαρθεί περαιτέρω σε ελαιώδη φάση. Η βιβλιογραφία γύρω από αυτά τα γαλακτώματα είναι πιο περιορισμένη, καθώς τα W/O/W λόγω των πλεονεκτημάτων τους θα έλεγε κανείς ότι έχουν μονοπωλήσει το επιστημονικό ενδιαφέρον. Ένα σταθερό O/W/O γαλάκτωμα χρησιμοποιείται από τον καλλυντικό και δερματολογικό τομέα για την απελευθέρωση ουσιών με στόχο τον καθαρισμό, τη θεραπεία, την προστασία και την ενυδάτωση δέρματος και βλεννογόνων. Ο πιο συχνός μηχανισμός αποσταθεροποίησης είναι η μετανάστευση του ελαίου από τα εσωτερικά σταγονίδια στην εξωτερική ελαιώδη φάση μέσω της ενδιάμεσης υδατικής στιβάδας, είτε με απλή διάχυση του ελαίου, είτε με θραύση της υδατικής μεμβράνης. Ωστόσο, η συνεχής ελαιώδης φάση του καθιστά δυνατό το σχηματισμό ενός λιπιδικού στρώματος στην επιφάνεια του δέρματος, το οποίο αποτρέπει την απώλεια νερού μέσω του δέρματος ενώ παράλληλα δρα και σαν προστασία για το δέρμα (Stasse et al., 2020).

Ακόμα, έχουν δημιουργηθεί O/W/O γαλακτώματα για την ενθυλάκωση αρωμάτων. Για τη δημιουργία τους χρειάζονται δυο διαφορετικά είδη επιφανειοενεργών, ένα υδρόφιλο για τη σταθεροποίηση των σταγονιδίων αρώματος-νερού και ένα λιπόφιλο για τη σταθεροποίηση των υδατικών σφαιριδίων που έχουν διασπαρθεί στο έλαιο. Ένα σημαντικό ζήτημα στα καλλυντικά είναι η ανάγκη προσαρμογής της φόρμουλας σε κάθε άρωμα, έτσι ώστε μια μεγάλη πρόοδος θα ήταν η επιτυχής ανάπτυξη ενός γαλακτώματος O/W/O που να είναι ανεπηρέαστο από τις αλλαγές στα αρώματα. Έτσι, δε θα χρειάζεται να γίνεται νέα διαδικασία τυποποίησης και δημιουργίας νέου γαλακτώματος. Ο ρόλος της ενδιάμεσης υδατικής φάσης είναι να δημιουργήσει ένα φράγμα που θα αποτρέψει τη διάχυση του αρώματος (Stasse et al., 2020).

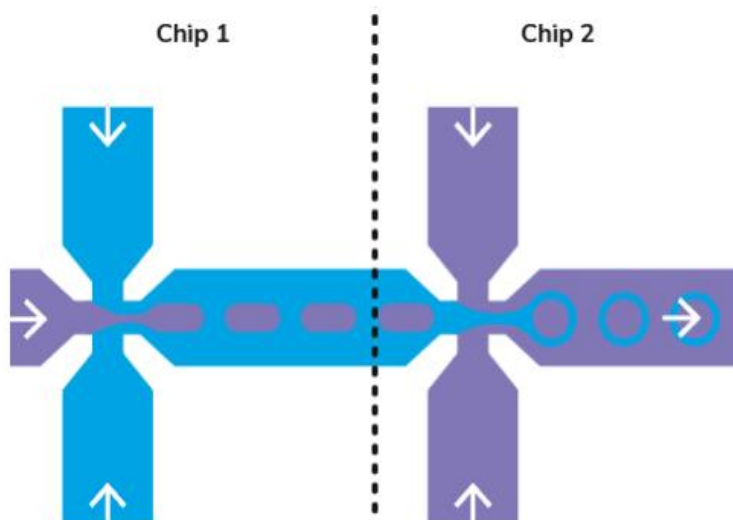
3.0 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα διπλά γαλακτώματα έχουν πολλές πιθανές εφαρμογές. Η χρήση τους σε φαρμακευτικά προϊόντα, τρόφιμα και καλλυντικά προσφέρει τεράστιες δυνατότητες για καινοτομία και πρόοδο σε αυτούς τους κλάδους. Μέσω της ενθουλάκωσης, της ελεγχόμενης απελευθέρωσης και της παροχής ενισχυμένης σταθερότητας, τα διπλά γαλακτώματα επιτρέπουν την αποτελεσματική παροχή βιοδραστικών ουσιών σε φαρμακευτικά σκευάσματα, βελτιώνοντας την αποτελεσματικότητα και τη θεραπευτική ικανότητα των φαρμάκων. Εδώ και πάνω από 30 χρόνια εμφανίζονται στη διεθνή βιβλιογραφία μελέτες όπου τα διπλά γαλακτώματα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη φαρμακευτικών προϊόντων καθώς έχουν τη δυνατότητα να ενθυλακώνουν ταυτόχρονα διαφορετικούς τύπους μορίων. Έτσι τα διπλά γαλακτώματα προτείνονται ως αποτελεσματικοί φορείς βιοδραστικών ουσιών σε εμβόλια, αντικαρκινικά φάρμακα, κ.ά. Στη βιομηχανία τροφίμων, τα διπλά γαλακτώματα συμβάλλουν στην ανάπτυξη νέων προϊόντων καθώς ενθυλακώνουν γευστικούς παράγοντες, θρεπτικά και λειτουργικά συστατικά, ενισχύουν-βελτιώνουν τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά και παρατείνουν τη διάρκεια ζωής των προϊόντων. Στα καλλυντικά, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη σύνθεση προϊόντων περιποίησης και ομορφιάς με στοχευμένη παράδοση, βελτιωμένη υφή και ενισχυμένη αποτελεσματικότητα. Συνολικά, η ευελιξία των διπλών γαλακτωμάτων τα καθιστά πολύτιμα εργαλεία για την αντιμετώπιση διαφορετικών προκλήσεων και την κάλυψη των εξελισσόμενων απαιτήσεων των καταναλωτών σε φαρμακευτικά προϊόντα, τρόφιμα και καλλυντικά. Καθώς η έρευνα προχωρά, η εμβάθυνση στη μελέτη των τεχνολογιών διπλού γαλακτώματος θα δημιουργήσει νέες, πρωτοποριακές ιδέες και εφαρμογές, προάγοντας την ανάπτυξη αυτών των βιομηχανιών.

3.1 Το Μέλλον των Διπλών Γαλακτωμάτων – Τρόποι Βελτίωσης

Η βελτιστοποίηση των διπλών γαλακτωμάτων μπορεί να πραγματοποιηθεί με το συνδυασμό έρευνας και καινοτομίας. Αρχικά απαιτείται εστίαση σε προηγμένες τεχνικές γαλακτωματοποίησης όπως η Μικρορευστομηχανική. Πρόκειται για ένα πολυεπιστημονικό πεδίο που ασχολείται με τη συμπεριφορά, τον ακριβή έλεγχο και τον χειρισμό υγρών που περιορίζονται σε πολύ μικρές κλίμακες, συνήθως στο εύρος μικρολίτρων (10^{-6} λίτρα) έως πικολίτρων (10^{-12} λίτρα). Τα μικρορευστικά συστήματα κατασκευάζονται χρησιμοποιώντας κανάλια, θαλάμους και άλλες δομές με διαστάσεις της τάξης των μικρομέτρων. Η Μικρορευστομηχανική αποτελεί ουσιαστικά ένα

εργαλείο για τον χειρισμό υγρών, αερίων, σταγονιδίων και σωματιδίων μέσα σε μικροκανάλια. Η δημιουργία σταγονιδίων είναι μια βασική εφαρμογή και βασίζεται στον έλεγχο της μετάβασης από συνεχόμενη ροή σε στάλαξη όταν τα σταγονίδια υγρού ωθούνται σε ένα ρευστό μεταφοράς μέσω ενός συγκεκριμένου μικροτσιπ που αποτελεί γεωμετρικό ικρίωμα. Τα σταγονίδια σταθεροποιούνται χρησιμοποιώντας επιφανειοδραστικές ουσίες για να αποφευχθεί η πήξη και ο διαχωρισμός. Μεταξύ των διαφόρων πλεονεκτημάτων της, η Μικρορευστομηχανική τεχνολογία έχει την ικανότητα να δημιουργεί τρισδιάστατα μοτίβα ροής που επιτυγχάνουν ακριβή έλεγχο της ανάμειξης μη αναμείξιμων και αναμείξιμων ρευστών. Η δημιουργία διπλών γαλακτωμάτων με αυτόν τον τρόπο απαιτεί τα κανάλια ροής που σχηματίζουν σταγονίδια να έχουν υδρόφοβες και υδρόφιλες ιδιότητες σε ξεχωριστές επιφανειακές τομές. Ανάλογα με τη διάταξή τους μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη δημιουργία γαλακτωμάτων σταγονιδίων είτε W/O/W είτε O/W/O. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται δυο μέθοδοι. Η μέθοδος “άμεσης διεπαφής” χρησιμοποιεί δύο τσιπ σταγονιδίων τοποθετημένα σε σειρά. Οι χρήστες δημιουργούν το πρώτο γαλάκτωμα στο πρώτο τσιπ και στη συνέχεια “ξεφλουδίζουν” αυτό το γαλάκτωμα ρέοντας το συρμό των σταγονιδίων μέσα σε ένα δεύτερο τσιπ, το οποίο είναι προσαρτημένο και σφραγισμένο ρευστά στο πρώτο. Αλλάζοντας τις ιδιότητες διαβροχής των δύο τσιπς μπορούν να δημιουργηθούν W/O/W ή O/W/O διπλά γαλακτώματα. Η μέθοδος “έμμεσης διεπαφής” είναι παρόμοια με το παραπάνω παράδειγμα, αλλά τα δύο τσιπ χωρίζονται από έναν σωλήνα. Αυτή η δεύτερη μέθοδος είναι πιο κατάλληλη για παραγωγή πολλαπλών γαλακτωμάτων (περισσότερα από ένα σταγονίδια περιορισμένα στην εσωτερική φάση) (Sattari et al., 2021; Huang et al., 2023) (Εικόνα 7).



Εικόνα 7. Για τη δημιουργία διπλών γαλακτωμάτων ακριβείας υπάρχουν δυο κύριες τεχνικές γαλακτωματοποίησης: η **μέθοδος άμεσης διεπαφής** και η **μέθοδος έμμεσης διεπαφής**. Η δημιουργία του γαλακτώματος γίνεται στο πρώτο τσιπ και στη συνέχεια ρέει μέσω του συρμού στο δεύτερο τσιπ, το οποίο είναι προσαρτημένο και σφραγισμένο στο πρώτο. Η διαφορά τους έγκειται στο ότι στην περίπτωση του δεύτερου, τα τσιπ διαχωρίζονται από έναν σωλήνα (<https://www.dolomite-microfluidics.com/applications/double-emulsions>).

Τεχνικές όπως η γαλακτωματοποίηση μεμβράνης και η ομογενοποίηση υψηλής πίεσης είναι βασικές τεχνικές, η βελτιστοποίησή των οποίων αναμένεται να οδηγήσει σε καλύτερο και πιο ελεγχόμενο σχεδιασμό των διπλών γαλακτωμάτων. Η αξιοποίηση της Νανοτεχνολογίας για την κατασκευή γαλακτωματοποιητών και νανοσωματιδίων μπορεί να βελτιώσει τη σταθερότητα, την αποτελεσματικότητα της ενθυλάκωσης και τη λειτουργικότητα των διπλών γαλακτωμάτων. Τα νανοσωματίδια μπορούν να ενσωματωθούν στη φάση ελαίου ή νερού για να τροποποιήσουν τις ιδιότητες ρευστού, την κινητική απελευθέρωσης και να στοχεύσουν σε συγκεκριμένες εφαρμογές όπως η χορήγηση φαρμάκων. Όπως τονίζουν ο DaoTong Chong και συνεργάτες (Chong et al. 2015) ο αντίκτυπος της νανοτεχνολογίας στην κατασκευή σταγονιδίων διπλού γαλακτώματος είναι πολύ μεγάλος, φέρνοντας επανάσταση στις εφαρμογές τους σε διάφορα πεδία. Συμβατικά, η μέθοδος γαλακτωματοποίησης με ανάδευση δύο σταδίων έχει μειονεκτήματα λόγω κακής διασποράς και χαμηλής απόδοσης της ενθυλάκωσης, εμποδίζοντας την ευρεία υιοθέτησή της. Ωστόσο, πρόσφατα επιτεύγματα στη Νανοτεχνολογία έχουν αναπτύξει πρωτοποριακές μεθόδους που αντιμετωπίζουν αυτούς τους περιορισμούς και επιτρέπουν μοναδική ακρίβεια στη μηχανική σταγονιδίων (Chong et al. 2015).

Οι αναδυόμενες τεχνικές όπως η μικρορευστοποίηση γαλακτωματοποίησης, η γαλακτωματοποίηση μεμβράνης και ο ομοαξονικός ηλεκτροψεκασμός αποτελούν παράδειγμα του συνδυασμού της Νανοτεχνολογίας με την κατασκευή σταγονιδίων. Αυτές οι μέθοδοι αξιοποιούν τον περίπλοκο έλεγχο που συνεπάγεται ο χειρισμός νανοκλίμακας, επιτρέποντας την ακριβή διαμόρφωση του μεγέθους των σταγονιδίων, της ομοιομορφίας και του πάχους του στρώματος. Μικρορευστικές συσκευές, αξιοποιώντας τις αρχές νανορευστού, σμιλεύουν σταγονίδια διπλού γαλακτώματος με προσαρμοσμένα πάχη, ενώ ο ομοαξονικός ηλεκτροψεκασμός βοηθάει την ενθυλάκωση των ενώσεων με βελτιωμένη απόδοση και έλεγχο απελευθέρωσης μέσω ομοαξονικών δομών νανοκλίμακας. Αυτή η συγχώνευση Νανοτεχνολογίας και κατασκευής σταγονιδίων προαναγγέλλει μια νέα εποχή δυνατοτήτων, από τη στοχευμένη φαρμακοκινητική στη συνθετική βιολογία (Chong et al., 2015).

3.1.1 Τα O/W/O Γαλακτώματα στο Προσκήνιο

Την τελευταία δεκαετία, οι περισσότερες μελέτες για τα διπλά γαλακτώματα που έχουν διεξαχθεί εστιάζουν στα γαλακτώματα τύπου W/O/W. Οι μελέτες που αφορούν στα O/W/O είναι σημαντικά λιγότερες και ομοίως η εμπορική τους εφαρμογή είναι

περιορισμένη. Ωστόσο, υπάρχει μια όλο και αυξανόμενη ανάγκη για περαιτέρω μελέτη τους λόγω της δυνατότητάς τους να αντικαταστήσουν τα παραδοσιακά W/O γαλακτώματα, ιδίως στον τομέα των τροφίμων. Είναι ισοδύναμα με τα παραδοσιακά γαλακτώματα W/O, έχοντας όμως χαμηλότερη περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα. Επιπλέον, ευνοούν την προστασία και την ενθυλάκωση των ευαίσθητων ελαιοδιαλυτών συστατικών (αιθέρια έλαια και βιοενεργά συστατικά) και στη συνέχεια ελέγχουν την απελευθέρωση και κατανομή τους. Ταυτόχρονα, μπορούν εν δυνάμει να λειτουργήσουν ως εσωτερικές δεξαμενές για την απομάκρυνση τοξικών ουσιών (Ghiasi et al., 2024).

Η μελέτη τους για χρήση από τη βιομηχανία τροφίμων θα οδηγούσε σε προϊόντα με χαμηλότερη περιεκτικότητα σε κορεσμένα και trans λιπαρά, χωρίς να επηρεάζονται τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά. Επιπλέον, ευνοούν την μεταφορά, προστασία και ελεγχόμενη απελευθέρωση των βιοδραστικών ουσιών που ενθυλακώνουν. Χαρακτηριστικά όπως η ικανότητα παρατεταμένης διατήρησης και ταυτόχρονης ενθυλάκωσης υδρόφιλων και υδρόφοβων ενώσεων έχουν εξετασθεί μόνο σε περιορισμένο αριθμό μελετών. Τα O/W/O γαλακτώματα αποτελούν σημαντική ερευνητική τάση για τη βιομηχανία των τροφίμων και όχι μόνο (Ghiasi et al., 2024).

3.1.2 Διπλά Γαλακτώματα Μονού Πυρήνα (SCDEs)

Τα διπλά γαλακτώματα μονού πυρήνα (Single-Core Double Emulsions, SCDEs) αποτελούνται από μία μόνο σταγόνα νερού μέσα σε σταγόνα ελαίου (Wang et al., 2022). Παρέχουν μια καλά καθορισμένη δομή σταγονιδίων και ως εκ τούτου ελεγχόμενη μεταφορά υλικού μεταξύ της διασκορπισμένης και της συνεχούς φάσης. Βασικό σταθμό για την παραγωγή διπλών γαλακτωμάτων που περιέχουν μόνο έναν πυρήνα ανά σταγόνα αποτέλεσε η Μικρορευστομηχανική, ο κλάδος που σχετίζει τη μελέτη και τις τεχνολογικές εφαρμογές των ιδιοτήτων των ρευστών στη μικροκλίμακα. Ένα SCDE έχει σύνθετη δομή. Μορφολογικά φέρει δυο διαφορετικά ημισφαίρια ή πυρήνες, μέσα σε ένα σταγονίδιο. Σε αυτόν τον τύπο γαλακτώματος υπάρχει μόνο ένα εξωτερικό σταγονίδιο (ή συνεχής φάση) που περιβάλλει την εσωτερική δομή. Πιο αναλυτικά, η εξωτερική (συνεχής) φάση αποτελείται από έλαιο ή νερό -ανάλογα με τον τύπο του γαλακτώματος (W/O/W ή O/W/O)-, ενώ στο εσωτερικό το σταγονίδιο συνίσταται από δυο διαφορετικά ημισφαίρια. Το ένα ημισφαίριο (πρώτος πυρήνας) περιέχει έναν υγρό πυρήνα ο οποίος μπορεί να είναι έλαιο ή νερό, ανάλογα με τον τύπο του γαλακτώματος και διαχωρίζεται από την εξωτερική φάση με μια διακριτή

διεπαφή. Το άλλο ημισφαίριο (δεύτερος πυρήνας) περιέχει διαφορετικό υγρό από ότι ο πρώτος πυρήνας. Η διεπαφή μεταξύ των δυο ημισφαιρίων διαδραματίζει σημαντικό ρόλο για το γαλάκτωμα και οι ιδιότητές της εξαρτώνται από την επιλογή των κατάλληλων επιφανειοενεργών και σταθεροποιητών ώστε να εξασφαλιστούν η σταθερότητα και η ακεραιότητα του διπλού γαλακτώματος (Wang et al., 2022).

Τα γαλακτώματα αυτά χρησιμοποιούνται ως συστήματα χορήγησης φαρμάκων καθώς παρέχουν τη δυνατότητα ενθυλάκωσης διαφορετικών θεραπευτικών παραγόντων σε κάθε ημισφαίριο. Αυτό επιτρέπει τη διαδοχική ή ταυτόχρονη απελευθέρωση πολλών φαρμάκων με διαφορετικές ιδιότητες. Στη βιομηχανία τροφίμων μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ενθυλάκωση και τον έλεγχο της απελευθέρωσης παραγόντων γεύσης, θρεπτικών συστατικών ή βιοδραστικών ενώσεων, συμβάλλοντας έτσι στη βελτίωση του γευστικού και διατροφικού προφίλ των προϊόντων (Wang et al., 2022). Τέλος, χρησιμοποιούνται και από τη βιομηχανία των καλλυντικών για την ενθυλάκωση ενεργών συστατικών με διαφορετικές λειτουργίες, όπως παράγοντες ενυδάτωσης στη μια πλευρά και αντιηλιακά στην άλλη. Οι δυνατότητες και τα πλεονεκτήματά τους είναι πολλά ωστόσο, η παραγωγή τους παρουσιάζει δυσκολίες λόγω της ανάγκης για ακριβή έλεγχο αρκετών παραμέτρων (υψηλή απόδοση, επεκτασιμότητα). Η συνεχής έρευνα είναι απαραίτητη για τη διερεύνηση νέων εφαρμογών και την κατανόηση της συμπεριφοράς τους (Wang et al., 2022).

4.0 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ahmed, N., Michelin-Jamois, M., Fessi, H., & Elaissari, A. (2012). Modified double emulsion process as a new route to prepare submicron biodegradable magnetic/polycaprolactone particles for in vivo theranostics. *Soft Matter*, 8(8), 2554-2564.
- Artiga-Artigas, M., Molet-Rodríguez, A., Salvia-Trujillo, L., & Martín-Belloso, O. (2019). Formation of double (W 1/O/W 2) emulsions as carriers of hydrophilic and lipophilic active compounds. *Food and Bioprocess Technology*, 12, 422-435.
- Badri, W., Eddabra, R., Fessi, H., & Elaissari, A. (2014). Biodegradable polymer-based nanoparticles: dermal and transdermal drug delivery. *Journal of Colloid Science and Biotechnology*, 3(2), 141-149.
- Butreddy, A., Gaddam, R. P., Kommineni, N., Dudhipala, N., & Voshavar, C. (2021). PLGA/PLA-based long-acting injectable depot microspheres in clinical use: production and characterization overview for protein/peptide delivery. *International journal of molecular sciences*, 22(16), 8884.
- Buyukkestelli, H. I., & El, S. N. (2021). Enhancing sweetness using double emulsion technology to reduce sugar content in food formulations. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 74, 102809.
- Chen, L., Ao, F., Ge, X., & Shen, W. (2020). Food-grade Pickering emulsions: Preparation, stabilization and applications. *Molecules*, 25(14), 3202.
- Cheon, J., Haji, F., Baek, J., Wang, Q., & Tam, K. C. (2023). Pickering emulsions for functional food systems. *Journal of Agriculture and Food Research*, 11, 100510.
- Chong, D., Liu, X., Ma, H., Huang, G., Han, Y. L., Cui, X., ... & Xu, F. (2015). Advances in fabricating double-emulsion droplets and their biomedical applications. *Microfluidics and Nanofluidics*, 19, 1071-1090.
- Cizauskaite, U., & Bernatoniene, J. (2018). Innovative natural ingredients-based multiple emulsions: The effect on human skin moisture, sebum content, pore size and pigmentation. *Molecules*, 23(6), 1428.
- Debotton, N., Garsiani, S., Cohen, Y., & Dahan, A. (2022). Enabling oral delivery of antiviral drugs: Double emulsion carriers to improve the intestinal absorption of zanamivir. *International Journal of Pharmaceutics*, 629, 122392.
- Ding, S., Serra, C. A., Vandamme, T. F., Yu, W., & Anton, N. (2019). Double emulsions prepared by two-step emulsification: History, state-of-the-art and perspective. *Journal of controlled release*, 295, 31-49.
- Engel, R., Riggi, S. J., & Fahrenbach, M. J. (1968). Insulin: intestinal absorption as water-in-oil-in-water emulsions. *Nature*, 219(5156), 856-857.
- Fan, H., Fu, G., Feng, S., He, X., Cai, W., & Wan, Y. (2023). Fabrication of casein-crocin nanocomplexes: Interaction mechanism, impact on stability and bioavailability of crocin. *Food Hydrocolloids*, 136, 108279.
- Frakolaki, G., Katsouli, M., Giannou, V., & Tzia, C. (2020). Novel encapsulation approach for Bifidobacterium subsp. lactis (BB-12) viability enhancement through its incorporation into a double emulsion prior to the extrusion process. *LWT*, 130, 109671.
- Gao, Y., Li, X., Xie, Y., Huang, X., Cheng, C., McClements, D. J., ... & Wei, L. (2022). Encapsulation of bitter peptides in diphasic gel double emulsions: Bitterness masking, sustained release and digestion stability. *Food Research International*, 162, 112205.
- Gaonkar, A. G. (1994). *U.S. Patent No. 5,332,595*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

- Ghiasi, F., Hashemi, H., Esteghlal, S., & Hosseini, S. M. H. (2024). An Updated Comprehensive Overview of Different Food Applications of W1/O/W2 and O1/W/O2 Double Emulsions. *Foods*, 13(3), 485.
- Ghosh, S. (2011). Formulation and Charecterisation of Multiple Emulsions With Various Additives. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2(2), 751-759.
- Hamonangan, W. M., Lee, S., Choi, Y. H., Li, W., Tai, M., & Kim, S. H. (2022). Osmosis-mediated microfluidic production of submillimeter-sized capsules with an ultrathin shell for cosmetic applications. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 14(16), 18159-18169.
- Heidari, F., Jafari, S. M., Ziaiifar, A. M., & Malekjani, N. (2022). Stability and release mechanisms of double emulsions loaded with bioactive compounds; a critical review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 299, 102567.
- Huang, Z., Gong, H., Sun, Q., Yang, J., Yan, X., & Xu, F. (2024). Research progress on emulsion vaccine adjuvants. *Heliyon*.
- Huang, L., Wu, K., Cai, S., Yu, H., Liu, D., Yuan, W., ... & Ji, H. (2023). Understanding the microfluidic generation of double emulsion droplets with alginate shell. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 222, 113114.
- Huynh Mai, C., T. Thanh Diep, T. T. T. Le, and V. Nguyen. (2020). Advances in colloidal dispersions: A review. *Journal of Dispersion Science and Technology* 41 (4):479–94.
- Iqbal, M., Zafar, N., Fessi, H., & Elaissari, A. (2015). Double emulsion solvent evaporation techniques used for drug encapsulation. *International journal of pharmaceutics*, 496(2), 173-190.
- Katsouli, M., V. Giannou, and C. Tzia. (2020). Enhancement of physicochemical and encapsulation stability of O1/W/O2 multiple nanoemulsions loaded with coenzyme Q10 or conjugated linoleic acid by incorporating polyphenolic extract. *Food & Function* 11 (10):8878–92.
- Khadem, B.; Sheibat-Othman, N., (2019) Theoretical and Experimental Investigations of Double Emulsion Preparation by Ultrasonication. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 58, 8220–8230.
- Leister, N., & Karbstein, H. P. (2020). Evaluating the stability of double emulsions—A review of the measurement techniques for the systematic investigation of instability mechanisms. *Colloids and Interfaces*, 4(1), 8.
- Li, D.; Hu, M.; Hou, L.; Gao, Y.; Tian, Z.; Wen, W.; Fan, B.; Li, S.; Wang, F. (2023) The structural and functional properties of soybean protein-polyglutamic acid complex effected the stability of W/O/W emulsion encapsulated Nattokinase. *Food Chemistry*, 414, 135724.
- Li, Q., He, Q., Xu, M., Li, J., Liu, X., Wan, Z., & Yang, X. (2020). Food-grade emulsions and emulsion gels prepared by soy protein–pectin complex nanoparticles and glycyrrhizic acid nanofibrils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(4), 1051-1063.
- Lissant, K. J. (1988). Emulsification and demulsification—an historical overview. *Colloids and surfaces*, 29(1), 1-5.
- Maghamian, N., Goli, M., & Najarian, A. (2021). Ultrasound-assisted preparation of double nano-emulsions loaded with glycyrrhizic acid in the internal aqueous phase and skim milk as the external aqueous phase. *LWT*, 141, 110850.
- Marefati, A., Pitsiladis, A., Oscarsson, E., Ilestam, N., & Bergenståhl, B. (2021). Encapsulation of *Lactobacillus reuteri* in W1/O/W2 double emulsions: Formulation, storage and in vitro gastro-intestinal digestion stability. *LWT*, 146, 111423.
- Markowska-Radomska, A., Skowroński, P., Kosicki, K., & Dluska, E. (2023). Multiple emulsions as carriers for the topical delivery of anti-inflammatory drugs. *Chemical and Process Engineering: New Frontiers*, e15-e15.

- Matos, M., Marefati, A., Barrero, P., Rayner, M., & Gutiérrez, G. (2021). Resveratrol loaded Pickering emulsions stabilized by OSA modified rice starch granules. *Food Research International*, 139, 109837.
- Matsumoto, S., Kita, Y., & Yonezawa, D. (1976). An attempt at preparing water-in-oil-in-water multiple-phase emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 57(2), 353-361.
- Micanquer-Carlosama, A., Serna-Cock, L., & Ayala-Aponte, A. (2017). Double emulsion and complex coacervation in stevia encapsulation. *Vitae*, 24(3), 167-177.
- Mudrić J, Savikin K, Ibrić S, Đurić J. (2019) Double emulsions (W/O/W emulsions): encapsulation of plant bioactives. *Lekovite Sirovine* 76–83.
- Mutaliyeva, B., Grigoriev, D., Madybekova, G., Sharipova, A., Aidarova, S., Saparbekova, A., & Miller, R. (2017). Microencapsulation of insulin and its release using w/o/w double emulsion method. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 521, 147-152.
- Murray, B. S. (2019). Pickering emulsions for food and drinks. *Current Opinion in Food Science*, 27, 57-63.
- Muschiolik, G., & Dickinson, E. (2017). Double emulsions relevant to food systems: Preparation, stability, and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(3), 532-555.
- Nazari, Z., & Asili, J. (2023). Nanoencapsulation of crocin in double-layer emulsions for improved stability and enhanced efficacy against depression. *Plos one*, 18(10), e0289425.
- Nunes, L., Hashemi, N., Gregersen, S. B., Tavares, G. M., & Corredig, M. (2023). Compartmentalization of lutein in simple and double emulsions containing protein nanoparticles: Effects on stability and bioaccessibility. *Food Research International*, 173, 113404.
- O'connor, R., O'sullivan, J. F., & O'kenedy, R. (1995). The pharmacology, metabolism, and chemistry of clofazimine. *Drug metabolism reviews*, 27(4), 591-614.
- Øye, G., Simon, S., Rustad, T., & Paso, K. (2023). Trends in food emulsion technology: Pickering, nano-, and double emulsions. *Current Opinion in Food Science*, 50, 101003.
- Robert, P., Zamorano, M., González, E., Silva-Weiss, A., Cofrades, S., & Giménez, B. (2019). Double emulsions with olive leaves extract as fat replacers in meat systems with high oxidative stability. *Food Research International*, 120, 904-912.
- Şahin, S., & Bilgin, M. (2018). Olive tree (*Olea europaea* L.) leaf as a waste by-product of table olive and olive oil industry: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(4), 1271–1279.
- Salawi, A. (2022) Self-Emulsifying Drug Delivery Systems: A Novel Approach to Deliver Drugs. *Drug Delivery* 29, 1811–1823.
- Sattari, A., Hanafizadeh, P., & Keshtiban, M. M. (2021). Microfluidic preparation of double emulsions using a high aspect ratio double co-flow device. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 628, 127297.
- Schultz, S., Wagner, G., Urban, K., & Ulrich, J. (2004). High-pressure homogenization as a process for emulsion formation. *Chemical Engineering & Technology: Industrial Chemistry-Plant Equipment-Process Engineering-Biotechnology*, 27(4), 361-368.
- Seifriz, W. (1925). Studies in emulsions. *Journal of Physical Chemistry*, 29, 738-749.
- Sharma, N., Devi, R., Singh, S., Garg, A., Khathuriya, R., & Singhvi, I. (2018). An Overview on multiple emulsions. *European Journal of Biomedical*, 5(5), 200-204.
- Silva, A. E., Barratt, G., Chéron, M., & Egito, E. S. T. (2013). Development of oil-in-water microemulsions for the oral delivery of amphotericin B. *International journal of pharmaceutics*, 454(2), 641-648.

- Silva, W., Torres-Gatica, M. F., Oyarzun-Ampuero, F., Silva-Weiss, A., Robert, P., Cofrades, S., & Giménez, B. (2018). Double emulsions as potential fat replacers with gallic acid and quercetin nanoemulsions in the aqueous phases. *Food Chemistry*, 253, 71-78.
- Sonchal, B. P., Kothekar, S. C., & Momin, S. A. (2008). Multiple Emulsions: Applications in Cosmetics. *Cosmetics and toiletries*, 123(8).
- Sosalagere, C., Kehinde, B. A., & Sharma, P. (2022). Isolation and functionalities of bioactive peptides from fruits and vegetables: A reviews. *Food chemistry*, 366, Article 130494.
- Stasse, M., Laurichesse, E., Ribaut, T., Anthony, O., Héroguez, V., & Schmitt, V. (2020). Formulation of concentrated oil-in-water-in-oil double emulsions for fragrance encapsulation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 592, 124564.
- Su, C. W., Chiang, C. S., Li, W. M., Hu, S. H., & Chen, S. Y. (2014). Multifunctional nanocarriers for simultaneous encapsulation of hydrophobic and hydrophilic drugs in cancer treatment. *Nanomedicine*, 9(10), 1499-1515.
- Tan, C., & McClements, D. J. (2021). Application of advanced emulsion technology in the food industry: A review and critical evaluation. *Foods*, 10(4), 812.
- Tenorio-Garcia, E., Araiza-Calahorra, A., Simone, E., & Sarkar, A. (2022). Recent advances in design and stability of double emulsions: Trends in Pickering stabilization. *Food Hydrocolloids*, 128, 107601.
- Tewes, F., Munnier, E., Antoon, B., Okassa, L. N., Cohen-Jonathan, S., Marchais, H., ... & Chourpa, I. (2007). Comparative study of doxorubicin-loaded poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles prepared by single and double emulsion methods. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, 66(3), 488-492.
- Valdivia-Olivares, R. Y., Martinez-González, E. A., Montenegro, G., Bridi, R., Alvarez-Figueroa, M. J., & González-Aramundiz, J. V. (2023). Innovative multiple nanoemulsion (W/O/W) based on Chilean honeybee pollen improves their permeability, antioxidant and antibacterial activity. *Food Research International*, 168, 112767.
- van Staden, D., Haynes, R. K., & Viljoen, J. M. (2022). Adapting clofazimine for treatment of cutaneous tuberculosis by using self-double-emulsifying drug delivery systems. *Antibiotics*, 11(6), 806.
- Verma, N. K., & Mishra, J. N. (2019). Multiple emulsions and its stabilization: A review. *International Journal of Chemistry Studies*, 3(3), 12-16.
- Vyas, S. P., & Khar, R. K. (2004). Targeted & controlled drug delivery: novel carrier systems. *CBS publishers & distributors*.
- Walker, T. M., Merker, M., Knoblauch, A. M., Helbling, P., Schoch, O. D., Van Der Werf, M. J., ... & Witschi, M. (2018). A cluster of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* among patients arriving in Europe from the Horn of Africa: a molecular epidemiological study. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(4), 431-440.
- Wang, W., Jones, T. B., & Harding, D. R. (2011). On-chip double emulsion droplet assembly using electrowetting-on-dielectric and dielectrophoresis. *Fusion Science and technology*, 59(1), 240-249.
- Wang, J., Hahn, S., Amstad, E., & Vogel, N. (2022). Tailored double emulsions made simple. *Advanced materials*, 34(5), 2107338.
- Yang, X., Grailer, J. J., Rowland, I. J., Javadi, A., Hurley, S. A., Steeber, D. A., & Gong, S. (2010). Multifunctional SPIO/DOX-loaded wormlike polymer vesicles for cancer therapy and MR imaging. *Biomaterials*, 31(34), 9065-9073.
- Young-Xu, Y., Snider, J.T., van Aalst, R., Mahmud, S.M., Thommes, E.W., Lee, J.K.H., Greenberg, D.P., Chit, A., (2019). Analysis of relative effectiveness of high-dose versus standard-dose influenza vaccines using an instrumental variable method. *Vaccine* 37 (11), 1484–1490.

Yu, H., Wang, H., Su, W., Song, Y., Zaky, A. A., Abd El-Aty, A. M., & Tan, M. (2022). Co-delivery of hydrophobic astaxanthin and hydrophilic phycocyanin by a pH-sensitive water-in-oil-in-water double emulsion-filled gellan gum hydrogel. *Food Hydrocolloids*, 131, 107810.

Zhang, J., Zhu, J., Cheng, Y., & Huang, Q. (2023). Recent advances in pickering double emulsions and potential applications in functional foods: a perspective paper. *Foods*, 12(5), 992.

Zhi, Z., Liu, R., Wang, W., Dewettinck, K., & Van Bockstaele, F. (2023). Recent progress in oil-in-water-in-oil (O/W/O) double emulsions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(23), 6196-6207.

Zhu, F. (2019). Starch based Pickering emulsions: Fabrication, properties, and applications. *Trends in Food Science & Technology*, 85, 129-137.