

Praca dyplomowa inżynierska

Charakterystyka bankowania materiału biologicznego w emulsjach wielokrotnych



Autor: Karolina Renata Ćwik

Nr albumu: 273397

Promotor: dr hab. inż. Ewa Dłuska

Opiekun pomocniczy: mgr inż. Agata Metera

Rok akademicki: 2015/2016

Wprowadzenie

Bankowanie materiału biologicznego jest to proces zamrażania i przechowywania preparatów materiału przez wymagany czas dla celów terapeutycznych i badawczych. Przechowywanie materiałów biologicznych w bankach krwi i tkanek jest jednym z kluczowych etapów dla rozwoju i stosowania osiągnięć z zakresu nauk medycznych. Umożliwia przede wszystkim przyspieszenie rozwoju nowoczesnych metod leczenia chorób cywilizacyjnych i genetycznych. Banki materiałów biologicznych muszą spełniać wysokie wymagania techniczne i być obsługiwane przez wyspecjalizowaną kadrę. Emulsje wielokrotne składają się z kropeł fazy wewnętrznej, rozproszonych w kroplach fazy membranowej, które z kolei rozproszone są w fazie ciągłej zewnętrznej.

Cel i zakres pracy

Celem pracy było opracowanie składu i wytworzenie emulsji wielokrotnych jako nowych nośników do badań bankowania materiału biologicznego.

Zakres pracy obejmował przegląd literatury dotyczącej metod bankowania oraz opracowanie składu emulsji wielokrotnych i dobór parametrów procesowych ich wytwarzania w kontaktorze z przepływem helikoidalnym (Couette'a-Taylor), a także określenia podstawowych parametrów otrzymywanych emulsji, takich jak rozmiar i rozkład rozmiarów kropeł fazy wewnętrznej i membranowej emulsji.

Część teoretyczna

Proces liofilizacji lub inaczej suszenia sublimacyjnego to proces polegający na usuwaniu wody z produktów w wyniku zamrażania, a następnie sublimacji lodu, tzn. bezpośredniego przejścia w stan pary. Obejmuje trzy etapy:

Etap I – Zamrażanie;

Etap II – Sublimacja lodu (pierwsza faza suszenia sublimacyjnego);

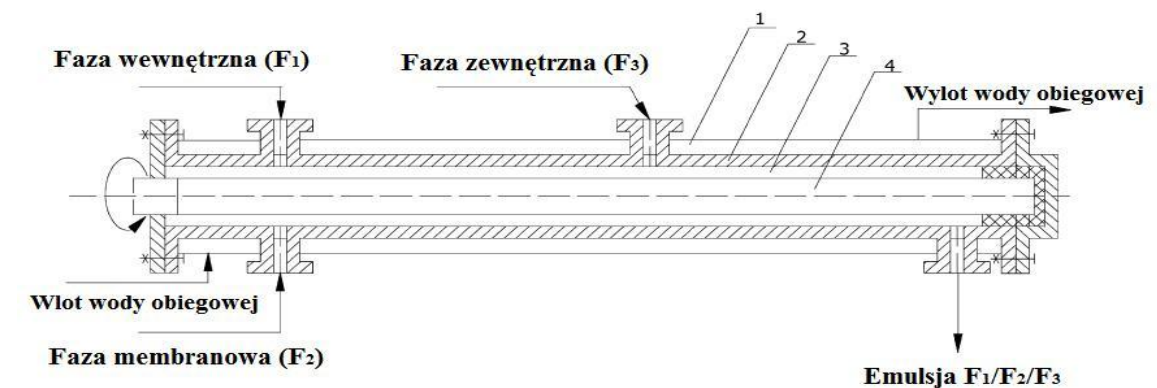
Etap III- Dosuszenie (druga faza suszenia sublimacyjnego).

Krioprotektanty to substancje, minimalizujące uszkodzenia komórek podczas ich zamrażania i rozmrażania. Zaliczamy do nich min. dimetylosulfotlenek, hydroksyetyloskrobię, glicerol, glikol etylenowy, glikol propylenowy .

Witryfikacja często też określana mianem zeszklenia, jest to proces zmieniamy stanu skupienia z ciekłego na stały tzw. szklisty. Obniżenie temperatury prowadzi do obniżenia średniej energii kinetycznej cząsteczek układu i ich reorganizacji w kierunku utworzenia sieci krystalicznej w temperaturze zamrażania dla układów o niskiej lepkości.

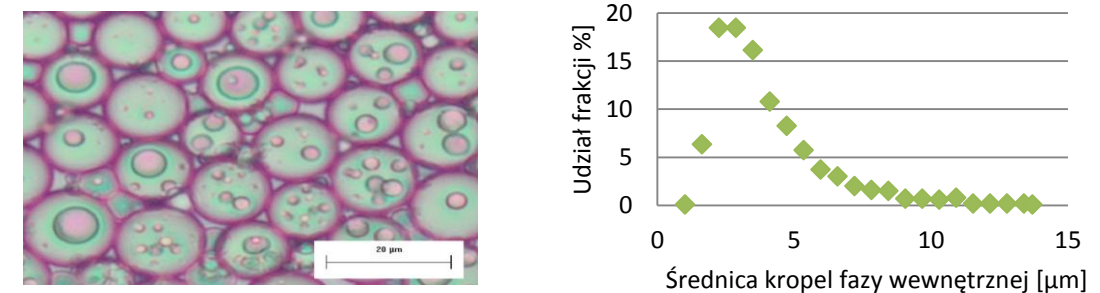
Część doświadczalna

Kontaktorka helikoidalna działa jako aparat przepływowy i składa się z dwóch cylindrów: cylinder zewnętrzny jest nieruchomy, natomiast wewnętrzny wprawiany jest w ruch obrotowy. Aparat zapewnia duże współczynniki wnikania masy, a także rozwinięcie powierzchni międzyfazowej.



Rys.1. Wytwarzanie emulsji wielokrotnych metodą jednostopniową w aparacie z przepływem helikoidalnym

W celu wyznaczenia średnic kropeł faz wewnętrznej i membranowej emulsji wielokrotnych przeanalizowano zdjęcia próbek emulsji, wykonanych przy użyciu mikroskopu optycznego OLYMPUS –BX-60 wyposażonego w kamerę SC50. Wyniki rozkładów średnic kropeł emulsji otrzymanych na podstawie analizy zdjęć mikroskopowych przedstawiono poniżej.



Rys.2. Obraz oraz rozkład średnicy fazy wewnętrznej kropeł dla układu 15-30-60 T20 przy 2343obr/min.

Wnioski

Rozwój metod bankowania materiałów biologicznie aktywnych wiąże się m.in. z poszukiwaniem nowych technik i metod zamrażania i rozmrażania wyizolowanych komórek, w tym komórek macierzystych, czy też tkanek i krwi. W odniesieniu do klasycznego mrożenia, które jest dużo tańszą metodą niż witryfikacja, obecnie poszukuje się nowych nośników materiału biologicznego umożliwiających minimalizację destrukcyjnych efektów wpływu kryształów lodu powstających na etapie mrożenia na stan morfologii i funkcje życiowe komórek. W grupie nowych nośników wykorzystywanych do mrożenia i bankowania rozpatrywane są emulsje wielokrotne. Atrakcyjność emulsji wielokrotnych wynika z faktu, że są to układy które ze względu na występowanie w ich strukturze fazy membranowej tj. swoistej „poduszki ochronnej” mogą zabezpieczyć komórki enkapsulowane w kroplach wewnętrznych emulsji od środowiska zewnętrznego, w którym przede wszystkim tworzą się kryształy lodu. W ramach pracy wytwarzano emulsje typu W1/O/W2 które będą w następnych etapach badań wykorzystane jako nośniki komórek zamrażanych i bankowanych minimalizujące niekorzystne efekty obecności kryształów lodu powstających w procesie mrożenia.