

# Praca dyplomowa inżynierska

## Emulsje wielokrotne z krioprotektantem do przechowywania materiału biologicznie czynnego



**Autor: Ilona Połaska**

Nr albumu: 258361

Promotor: dr inż. Agnieszka Markowska - Radomska

Opiekun pomocniczy: mgr inż. Agata Metera

Rok akademicki: 2016/2017

### Wprowadzenie

Bankowanie to przechowywanie materiału biologicznego w obniżonej temperaturze. W procesie bankowania wolne tempo mrożenia powoduje powstawanie kryształów lodu w środowisku zewnętrznym komórek, co prowadzi do zachwiania równowagi osmotycznej w układzie (wzrost stężenia soli w otaczającej komórkę cieczy niezamrożonej). Z kolei szybkie obniżanie temperatury sprzyja tworzeniu się lodu wewnątrzkomórkowego, który także niszczy strukturę materiału biologicznego. Aby zwiększyć stopień przeżywalności komórek podczas mrożenia i rozmrażania, do środowiska żywych układów wprowadza się dodatki ochronne tj. krioprotektanty. Istotną kwestią jest także opracowanie korzystnej formy nośnika materiału biologicznego, który zminimalizowałby negatywne efekty oddziaływania kryształów lodu oraz substancji chemicznych na struktury komórkowe, co było tematem pracy.

### Cel i zakres pracy

Celem pracy jest przeprowadzenie analizy wpływu dodatku krioprotektantu (sacharozy) na stabilność emulsji wielokrotnych przechowywanych w niskiej temperaturze. Zakres pracy obejmuje:

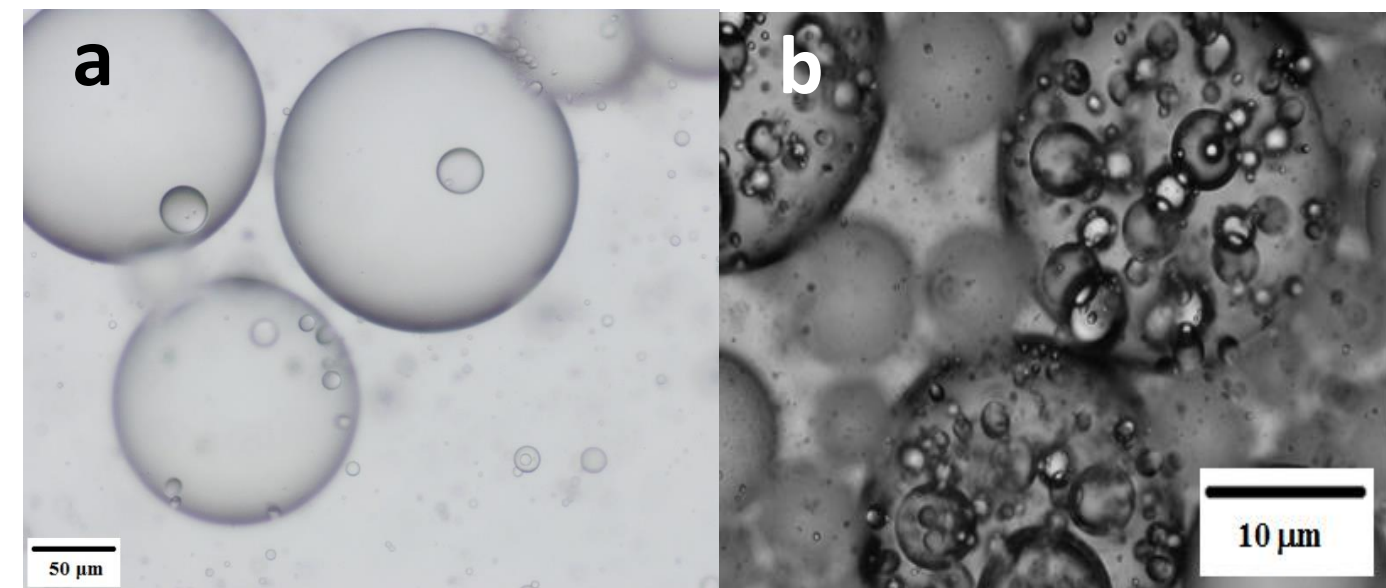
- omówienie technik przechowywania materiału biologicznego,
- wytworzenie emulsji wielokrotnych typu W1/O/W2 oraz wyznaczenie charakterystyki układów podczas przechowywania w obniżonej temperaturze ( $4^{\circ}\text{C}$  i  $-196^{\circ}\text{C}$ ) w oparciu o analizę obrazu mikroskopowego,
- ocenę wpływu dodatku krioprotektantu na stabilność emulsji wielokrotnych na etapie przechowywania w temperaturze  $-196^{\circ}\text{C}$  oraz porównanie z emulsjami bez zastosowania krioprotektantu,
- wytypowanie układu o najkorzystniejszej charakterystyce do badań bankowania.

### Część teoretyczna

W tej części pracy omówiono metody przechowywania materiału biologicznego i rolę krioprotektantów w procesie mrożenia oraz scharakteryzowano emulsje wielokrotne i ich zastosowanie jako ciekłych nośników do enkapsulacji (zamykania) komórek.

### Część doświadczalna

Wytworzono emulsje wielokrotne W1/O/W2 (alginian/olej rzepakowy/woda z odpowiednimi surfaktantami: Pluronic P-123, Span 83, Tween 80) w aparacie z przepływem Couette'a-Taylora. Wyznaczono charakterystyki układów (rozmiary i rozkłady rozmiarów kropeł, indeksy polidispersyjności, stopnie upakowania) w oparciu o analizę obrazów mikroskopowych. W początkowej fazie doświadczeń dokonano oceny stabilności emulsji przechowywanych w temperaturze  $4^{\circ}\text{C}$  w celu wytypowania układów o najlepszej charakterystyce-stabilności do badań głębokiego mrożenia (ciekły azot). Dla wybranych układów przeprowadzono badania stabilności emulsji w temperaturze  $-196^{\circ}\text{C}$  oraz oceniono wpływ dodatku krioprotektantu (sacharozy) do fazy zewnętrznej na zachowanie struktury emulsji wielokrotnej w procesie mrożenia.



**Rys.1.** Przykładowe zdjęcia emulsji wielokrotnych bez krioprotektantu (a) oraz z dodatkiem krioprotektantu (b) przechowywanych w temperaturze  $-196^{\circ}\text{C}$

### Wnioski

W oparciu o otrzymane wyniki badań zauważono, że po procesie mrożenia w  $-196^{\circ}\text{C}$  układy emulsyjne bez dodatków kriochronnych straciły złożoną strukturę emulsji podwójnej - krople fazy wewnętrznej i zewnętrznej uległy koalescencji. Natomiast w przypadku emulsji z krioprotektantem, warunki mrożenia i rozmrażania nie miały wpływu na stan morfologiczny emulsji, a ich hierarchiczna struktura została zachowana. W ramach przeprowadzonych badań uzyskano stabilne podczas etapów mrożenia i rozmrażania emulsje podwójne, co pozwoli na prowadzenie dalszych badań z wytworzonymi układami tj. zamykanie materiału biologicznego w kroplach fazy wewnętrznej emulsji, a następnie jego przechowywanie w obniżonej temperaturze  $-196^{\circ}\text{C}$ .