

ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΝΑΝΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΣΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ :
ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗ ΧΡΩΣΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΜΕ ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΑ



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΕΙΡΑΙΑ

ΣΧΟΛΗ: **ΝΑΥΤΙΛΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑΣ**

ΤΜΗΜΑ: **ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΔΙΟΙΚΗΣΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ: **ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ **ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ . ΠΕΙΡΑΙΑΣ . 28.2.2018
ΗΛΙΑΣ ΜΠΑΛΗΣ . ΧΗΜΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΚΟΣ
ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΣΙΟΝΤΟΡΟΥ ΧΡΙΣΤΙΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Έχοντας ολοκληρώσει την διπλωματική μου εργασία θα ήθελα να ευχαριστήσω όσους με βοήθησαν καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας εργασίας. Ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλο το προσωπικό του Εργαστηρίου Προσομοίωσης Βιομηχανικών Διεργασιών για τη διαμόρφωση ενός εξαιρετικά φιλικού κλίματος , που έκανε τη δουλειά μου πιο ευχάριστη. Ιδιαίτερες ευχαριστίες στον Υποψήφιο Διδάκτορα του Τμήματος Γιώργο Γιακουμάκη , για την εξαιρετική συνεργασία και τις συμβουλές του.

Ακόμα, οφείλω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και όλους τους κοντινούς μου ανθρώπους για την στήριξή τους.

Περιεχόμενα

1.	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	3
1.1	ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΑ	3
1.2	ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗ ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΩΝ.....	4
1.3	ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΩΝ.....	6
2	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	8
2.1	ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΩΝ	8
3	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	9
3.1	ΜΕΤΗΥΛΕΝΕ ΒΛΥΕ.....	9
3.2	ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΩΝ	10
3.3	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΜΒ	13
3.4	ΕΚΡΟΦΗΣΗ	15
3.5	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ	16
4	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	18
5	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	19

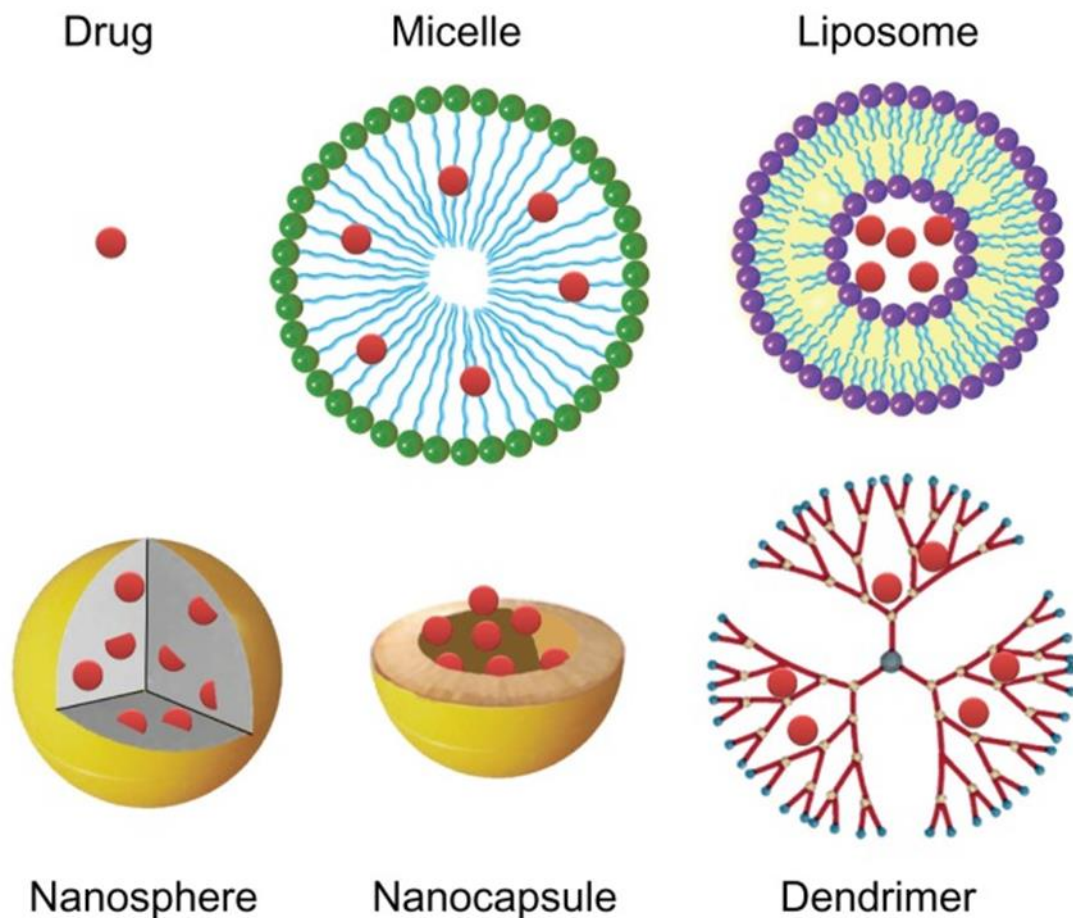
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΑ

Λιποσώματα ονομάζονται οι μικροσκοπικές σφαιρικές δομές που αποτελούνται από μία ή περισσότερες ομόκεντρες λιπιδικές διπλοστοιβάδες, που εγκλείουν έναν υδάτινο όγκο. Από την ανακάλυψη ότι αυτές οι μη περατές σε ιόντα και άλλα μόρια δομές σχηματίζονται αυθόρμητα κατά την διασπορά ορισμένων φωσφολιπιδίων σε περίσσεια υδατικής φάσης, τα λιποσώματα συγκέντρωσαν ευρύ ενδιαφέρον. Δύο είναι τα κύρια χαρακτηριστικά τους που τα κατέστησαν πολύτιμα ερευνητικά όργανα: αφ' ενός, η χαρακτηριστική τους μορφολογία, όπου μια σχετικά μη περατή λιπιδική διπλοστοιβάδα εγκλείει τελείως έναν υδάτινο όγκο, και, αφετέρου, η ικανότητα τους να εγκλείουν διάφορες ουσίες διαλυμένες στην υδατική φάση κατά τον σχηματισμό των κυστιδίων.

Κατά την τελευταία εικοσαετία τα λιποσώματα χρησιμοποιήθηκαν σε ένα ευρύ φάσμα έρευνας που εκτάθηκε από την βασική φυσικοχημεία μέχρι τις ιατρικές εφαρμογές. Οι φυσικοχημικές μελέτες επικεντρώνονται σε ιδιότητες όπως η μοριακή οργάνωση στη διπλοστοιβάδα, η ρευστότητα και η περατότητα. Τέτοιου είδους μελέτες γενικά υποκινούνται από το γεγονός ότι η λιπιδική διπλοστοιβάδα είναι στοιχείο φυσικών μεμβρανών, και, επομένως, τα λιποσώματα μπορούν να χρησιμεύσουν σαν μοντέλα φυσικών μεμβρανών ενώ ακόμα, τα μεγάλα μονοστοιβαδικά λιποσώματα ως μοντέλα κυττάρων. (White, et al, 2001)

Μετασταθερά συστήματα δημιουργούνται στις διάφορες φάσεις, συνήθως αντεστραμμένα λιπίδια ή μικκύλια (Σχ.1). Πολικές κεφαλές προσανατολισμένες στην υδρόφιλη και ουρές στην υδρόφοβη φάση. Στην υδρόφιλη φάση περισσότερο απ' ό,τι στην υδρόφοβη. Δημιουργούνται και άλλα σχήματα όπως διστρωματικά λιπιδικά λιποσώματα. Όταν η υδρόφοβη φάση είναι πολύ μεγαλύτερη της υδρόφιλης τότε σχηματίζονται δεντριμερή. (Ramos-Cabrer, et al 1, 2013)

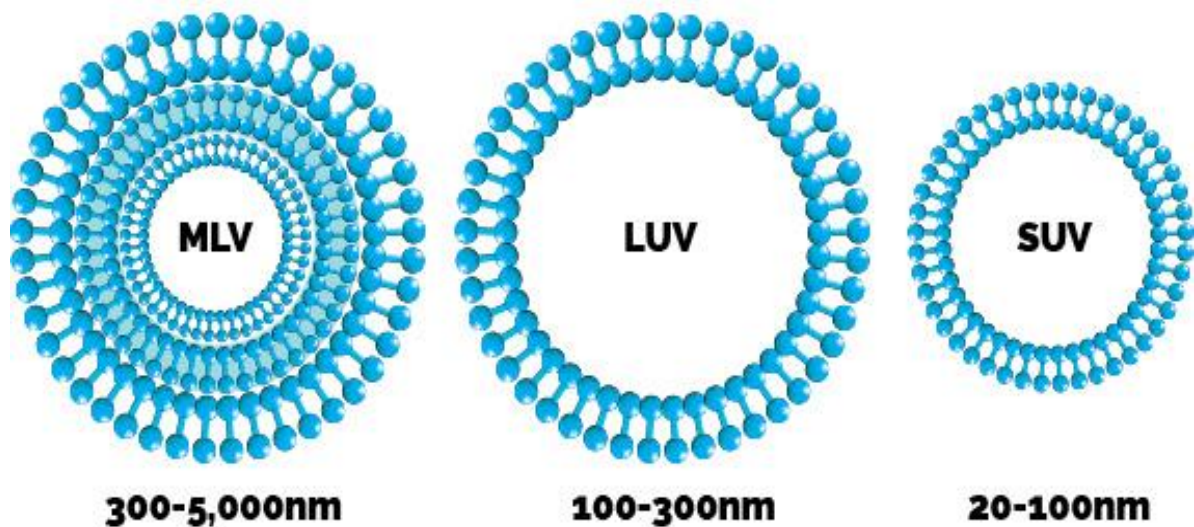


Σχήμα 1 : Απεικόνιση διαφορετικών σχηματισμών των λιποσωμάτων (Προσαρμοσμένο από : Chrai SS , et al , 2001)

1.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗ ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΩΝ

Το μέγεθος των λιποσωμάτων μπορεί να κυμαίνεται από πολύ μικρές (0,025 μm) σε μεγάλα κυστίδια (2,5 μm). Επιπλέον , τα λιποσώματα μπορεί να έχουν μεμβράνες μιας ή δύο στρώσεων. Το μέγεθος των κυστιδίων είναι σημαντική παράμετρος για τον προσδιορισμό του χρόνου ημιζωής της κυκλοφορίας των λιποσωμάτων , και το μέγεθος και ο αριθμός

των διπλοστοιβάδων επηρεάζουν την ποσότητα εγκλεισμού φαρμάκου ή αναλυτών στα λιποσώματα. Βάση του μεγέθους και του αριθμού των διπλοστοιβάδων, των λιποσωμάτων μπορούν επίσης να ταξινομηθούν σε μία από τις δύο κατηγορίες (Σχ.2) : (1) πολυελασματώδη κυστίδια (MLV) και (2) μονοστρωματικά κυστίδια. Τα μονοστρωματικά κυστίδια μπορούν επίσης να ταξινομηθούν σε δύο κατηγορίες: (1) μεγάλα μονοστρωματικά κυστίδια (LUV) και (2) μικρά μονοστρωματικά κυστίδια (SUV) . Σε μονοστρωματικά λιποσώματα, το κυστίδιο έχει μία μονή φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα σφαίρα που περικλείει το υδατικό διάλυμα. Σε πολυελασματώδη τα λιποσώματα, τα κυστίδια έχουν δομή κρεμμυδιού. Θα σχηματιστούν διάφορα μονοστρωματικά κυστίδια στο εσωτερικό του άλλα με μικρότερο μέγεθος, κάνοντας μια πολυελασματική δομή των ομόκεντρων φωσφολιπιδικών σφαιριδίων που διαχωρίζονται από τα στρώματα με νερό .



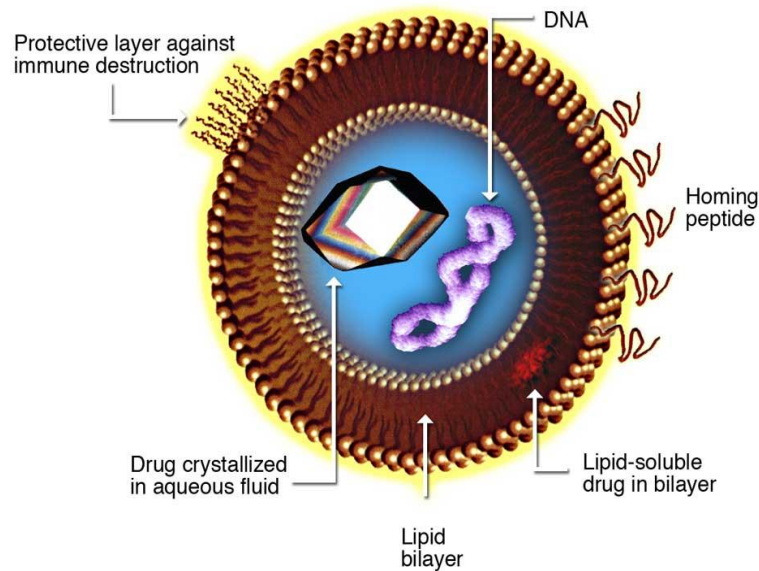
Σχήμα 2: Κατηγοριοποίηση λιποσωμάτων αναλόγως του μεγέθους(MLV-LUV-SUV)

1.3 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΩΝ

Λόγω των ιδιοτήτων τους έχουν αξιοποιηθεί σε πολλές εφαρμογές, όπως :

- Θεραπείες για δηλητηρίαση από βαρέα μέταλλα
- Υποκατάσταση Ενζύμων
- Διαγνωστική απεικόνιση όγκων
- Μελέτη μεμβρανών
- Στην μεταφορά γονιδιώματος
- Ως μεταφορείς δραστικών ουσιών φαρμάκων (Σχ.3)
- Θεραπεία αντικατάστασης ενζύμων
- Αντική / αντιμικροβιακή θεραπεία
- Θεραπεία καρκινικών όγκων
- Στην Ανοσολογία
- Στην Κοσμετολογία
- Κατασκευή μετρητικών οργάνων (biosensors)
- Βιοιατρικά διαγνωστικά kit
- Επεξεργασία τροφίμων

Liposome for Drug Delivery



Σχήμα 3: Λιπόσωμα ως μεταφορέας δραστικών ουσιών φαρμάκων

Καθώς οι φαρμακευτικές ουσίες έρχονται σε επαφή in vivo με λιπόφιλα συστήματα οι νέες τάσεις για στοχευμένη και εξατομικευμένη θεραπεία βασίζεται σε αυτά τα συστήματα. Καθώς ο έλεγχος των λιποσωμάτων είναι χρονοβόρος και απαιτεί αυστηρή εξειδίκευση η παραγωγή της λιποσωματικής μήτρας είναι αρκετά προβληματική και νέα τάση είναι πρόκληση λιποσωμάτων in vivo. (**Lisa Sercombe,et al ,2015**)

Μέθοδοι επεξεργασίας υγρών αποβλήτων (**Nageed Rashed,et al,2016**) και ιδιαίτερα ο τομέας προσρόφησης επικίνδυνων , ρυπογόνων ουσιών καθώς και ουσιών κρίσιμων στην απόδοση της επεξεργασίας δεν έχει προχωρήσει στον αναμενόμενο βαθμό για την υποκατάσταση του ενεργού άνθρακα. Πολλά υλικά βιολογικής προέλευσης (βιομάζα) έχουν προταθεί στην βιβλιογραφία με ποικίλες αποδόσεις που κυμαίνονται στο 35-45% της απόδοσης του ενεργού άνθρακα (**Ushakumary.E.R,et al,2013**). Οι ιδιαίτερες προσροφητικές ιδιότητες τους έχουν αρχίσει να διερευνώνται και στα πλαίσια επεξεργασίας υγρών αποβλήτων (**Bapusaheb B,et al ,2015**)

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας χρησιμοποίησης λιποσωμάτων στην επεξεργασία υγρών αποβλήτων. Για τον σκοπό αυτό διερευνήθηκε η αλληλεπίδραση χρωστικής **Methylene blue**(MB) με λιποσώματα συμπεριλαμβανομένης της εκρόφησης και της επίδρασης επιφανειοδραστικών ουσιών. Η παρακολούθηση πραγματοποιήθηκε με UV φασματομετρία. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η χρωστική προσροφάται στην επιφάνεια των λιποσωμάτων και στην συνέχεια εγκλωβίζεται στο εσωτερικό τους .Η χρήση κατιόντων ανταγωνίζεται με τις θέσεις πρόσδεσης της χρωστικής και τον χώρο που καταλαμβάνει και οδηγούν στην απελευθέρωση της από τα λιποσώματα. Η επίδραση των επιφανειακών ουσιών (εκρόφηση χρωστικής-ίδιο αποτέλεσμα) που όμως ο μηχανισμός δράσης τους δεν εξακριβώνεται.

2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΩΝ

ΥΛΙΚΑ : phosphatidylcholine , Sigma – Aldrich Co
Methylene blue (stock solution)
Αιθανόλη
Εξάνιο
Χλωριούχο Κάλιο
Όλα τα υπόλοιπα ήταν αναλυτικής καθαρότητας.

Για την παρασκευή των λιποσωμάτων έγινε η χρήση λιπιδικού διαλύματος φωσφατοδιχολίνης αυγού (phosphatidylcholine , Sigma – Aldrich Co) 2.5 mg/L σε αιθανόλη : εξάνιο (80:20 % v/v). Έπειτα ακολούθησε Sonication του διαλύματος για 30 λεπτά σε συνθήκες PH=6.5 και θερμοκρασία περιβάλλοντος για την μετατροπή των LUV λιποσωμάτων. Για την χρωστική methylene blue (MB) χρησιμοποιήθηκε stock solution 0,04 mg/L σε νερό για όλες τις αραιώσεις. Το διάλυμα των λιποσωμάτων με MB δημιουργήθηκε με ανάμειξη κατάλληλης ποσότητας στο λιπιδικό διάλυμα με την υδατική φάση να παραμένει σε όλες τις περιπτώσεις μεγαλύτερη της αλκοολικής. Η παρακολούθηση των αλληλεπιδράσεων έγινε με UV φασματοφωτομετρία σε φάσμα μήκους κύματος 550 – 700 nm. Η επίδραση των κατιόντων έλαβε χώρα με την χρήση διαλύματος KCl (Χλωριούχου Καλίου) 1mM , ενώ η επίδραση των επιφανειοδραστικών ουσιών έγινε με εμπορικό παρασκεύασμα καθαριστικής χρήσης.

3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

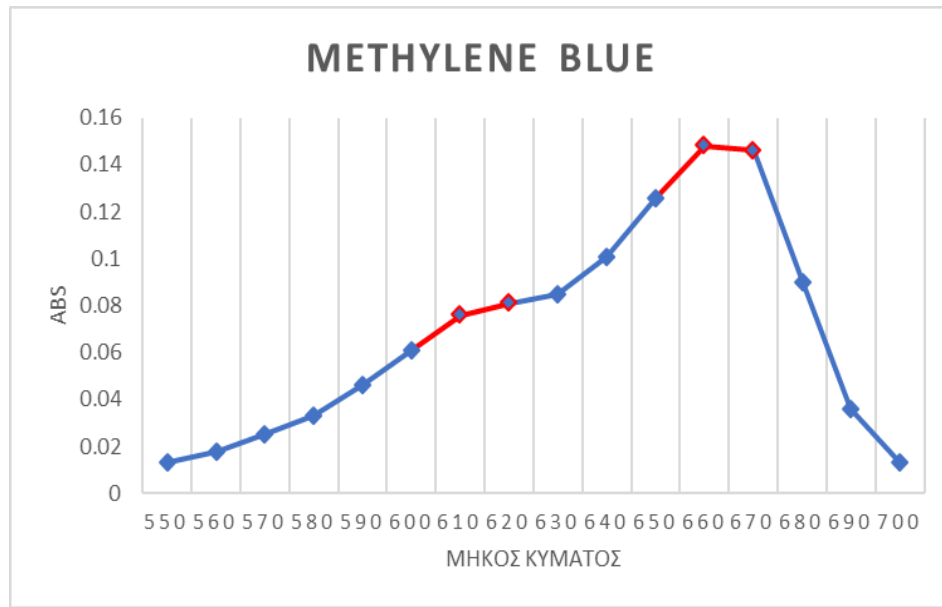
3.1 METHYLENE BLUE

Αρχικά πραγματοποιήθηκε UV φασματοσκοπία στο διάλυμα της χρωστικής methylene blue με φάσμα μήκους κύματος 550-700 nm. Οι μετρήσεις της απορρόφησης πάρθηκαν ανά 10 nm (**Πιν.1**).

Πίνακας 1 : Μετρήσεις απορρόφησης methylene blue

Μήκος Κύματος (λ)	Methylene blue (MB)
550	0.013
560	0.018
570	0.025
580	0.033
590	0.046
600	0.061
610	0.076
620	0.081
630	0.085
640	0.101
650	0.126
660	0.148
670	0.146
680	0.09
690	0.036
700	0.013

Στο διάγραμμα παρουσιάζονται δύο κορυφές για $\lambda_1=620\text{nm}$ και για $\lambda_2=660\text{nm}$ (**Σχ.4**). Εμφανώς η μεγαλύτερη απορρόφηση παρουσιάζεται για $\lambda_2=660\text{nm}$ και είναι ίση με 0.148. Πράγμα το οποίο σημαίνει ότι το λ_2 αποτελεί το λ_{max} του διαλύματος του Methylene blue.



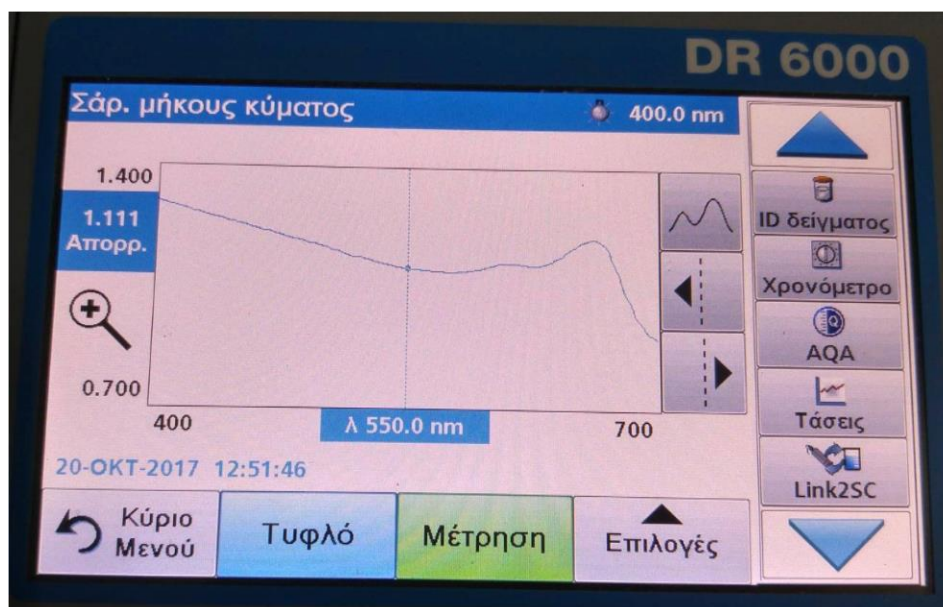
Σχήμα 4 : Διάγραμμα απορρόφησης-Μήκους κύματος .Οι κορυφές επισημαίνονται με κόκκινο χρώμα

3.2 ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΩΝ

Την πρώτη βδομάδα των πειραμάτων έγινε σύγκριση με UV φασματοφωτομετρία των διαγραμμάτων απορρόφησης των διαλυμάτων του methylene blue και του διαλύματος του methylene blue με την προσθήκη λιποσωμάτων. Στο πρώτο διάγραμμα (**Σχ.5**) του διαλύματος παρατηρήθηκε η δημιουργία δύο κορυφών όπως προαναφέρθηκε παραπάνω. Μετά την προσθήκη των λιποσωμάτων (**Σχ.6**) στο διάλυμα σημειώθηκε μετατόπιση(shift) των κορυφών, περίπου 12 nm. Αυτό σύμφωνα με την βιβλιογραφία σημειώθηκε λόγω του εγκλωβισμού του methylene blue μέσα στα λιποσώματα.



Σχήμα 5 : Διάγραμμα απορρόφησης Methylene blue

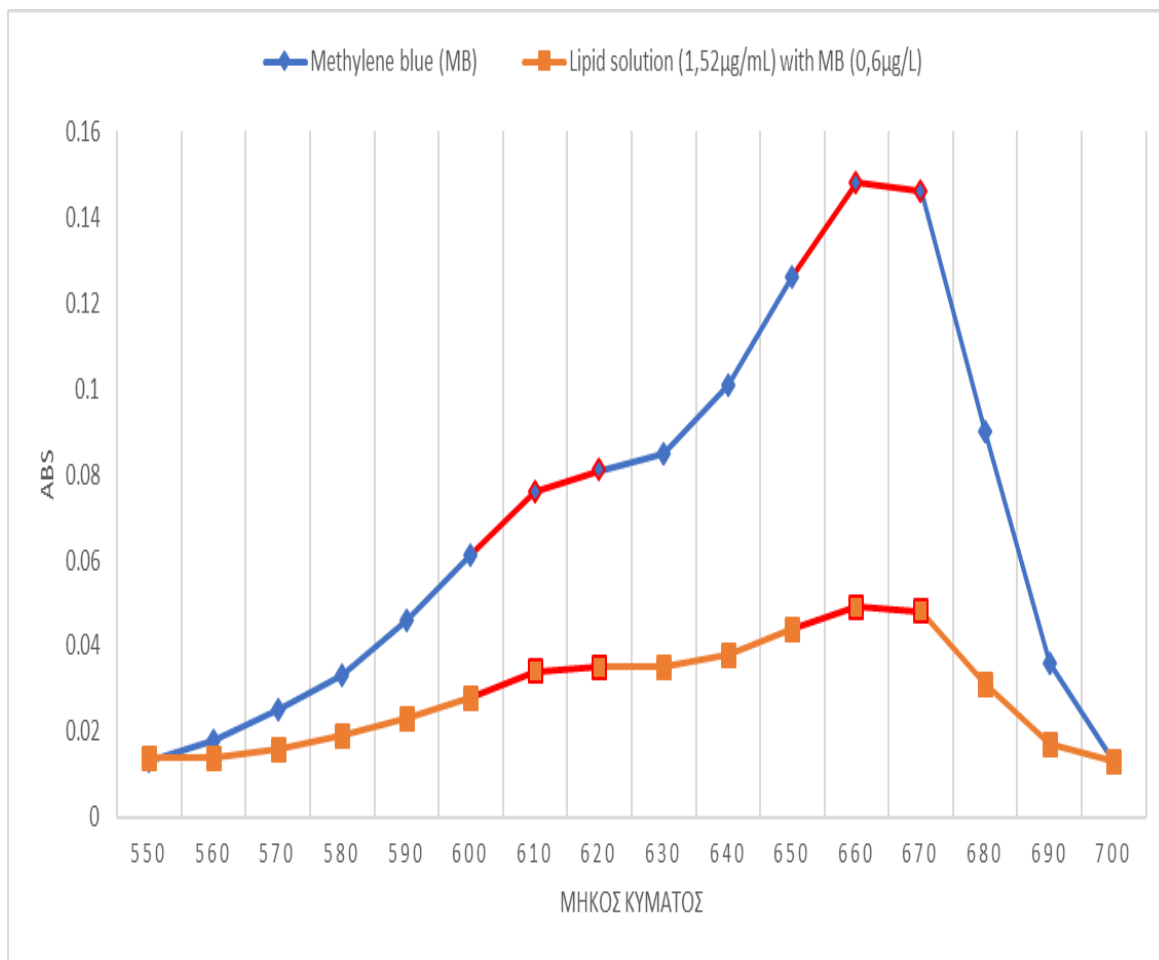


Σχήμα 6 : Διάγραμμα απορρόφησης διαλύματος λιποσωμάτων 1,52 μg/ml με methylene blue 0,6 μg/L

Το ίδιο διάλυμα μετά από μια βδομάδα δεν παρουσίασε αυτή την μετατόπιση αλλά το φάσμα δεικνύει ότι το MB παραμένει προσροφημένο στην επιφάνεια των λιποσωμάτων και πέφτει η απορρόφηση, λόγω μείωσης του μοριακού συντελεστή απορρόφησης (Σχ.7). (NISHIJO,et al,1988). Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με την βιβλιογραφία όπου η προσρόφηση του Nile red (NIL) σε λιποσώματα λεκιθίνης μετατόπισε τις χαμηλότερες τιμές της απορρόφησης 3-4nm. (Kostarelos,et al ,1995). Ο μηχανισμός προσρόφησης του MB σε PH=6-6,5 (Nageed Rashed,et al ,2016) πιθανώς να περιλαμβάνει την δημιουργία διμερών σχηματισμών της χρωστικής που διευκολύνουν τόσο την προσρόφηση του , τόσο στην επιφάνεια όσο και στο εσωτερικό. Σε παλιότερες μελέτες η μετατόπιση του λmax σχετίστηκε με μεταβολές της πολικότητας στην επιφάνεια των λιποσωμάτων λόγω της χρωστικής. (Kostarelos,et al,1995) Το ποσοστό της χρωστικής που εισέρχεται στα λιποσώματα δεν μπορεί να προσδιοριστεί στην παρούσα φάση. Η εξάλειψη της επίδρασης μετά από μία βδομάδα πιθανώς να οφείλεται στην δημιουργία συσσωμάτωσης της χρωστικής όπως παρατηρήθηκε και στο (Nageed Rashed,et al ,2016).

Πίνακας 2 : Μετρήσεις απορρόφησης methylene blue και λιπιδικού διαλύματος μαζί με την χρωστική

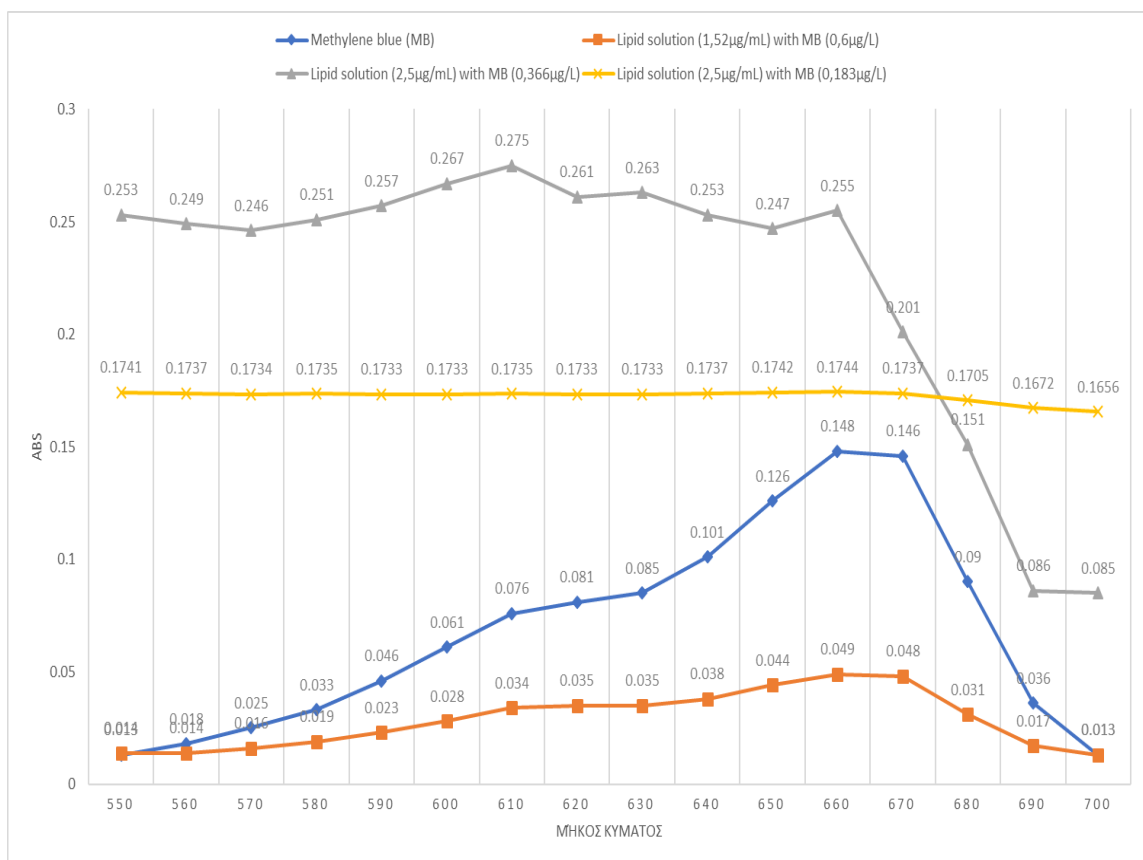
Μήκος Κύματος (λ)	Methylene blue (MB)	Lipid solution(1.52μg/ml with MB(0.6μg/L)
550	0.013	0.014
560	0.018	0.014
570	0.025	0.016
580	0.033	0.019
590	0.046	0.023
600	0.061	0.028
610	0.076	0.034
620	0.081	0.035
630	0.085	0.035
640	0.101	0.038
650	0.126	0.044
660	0.148	0.049
670	0.146	0.048
680	0.09	0.031
690	0.036	0.017
700	0.013	0.013



Σχήμα 7 : Κοινό διάγραμμα methylene blue με λιπιδικό διάλυμα(1.52μg/ml) MB(0.6μg/L) μετά από μια βδομάδα

3.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ MB

Η επίδραση της συγκέντρωσης λιποσωμάτων και MB πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας σχεδόν διπλάσια συγκέντρωση λιποσωμάτων (2,5 μg/ml) , το 1/2 της συγκέντρωσης της χρωστικής (0,366 μg/l) καθώς και το 1/4 της συγκέντρωσης (0,183 μg/l) (Σχ.8).



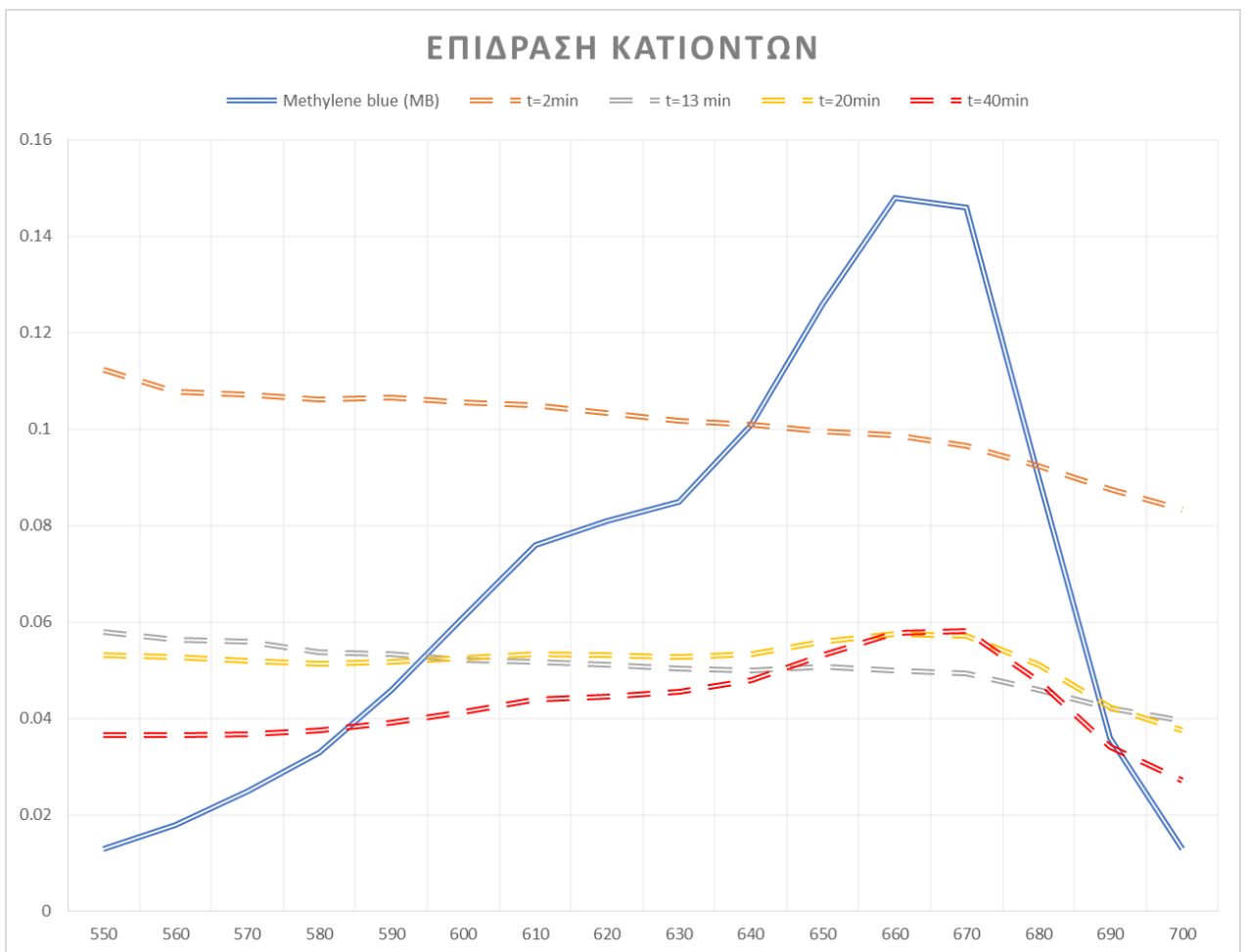
Σχήμα 8 : Διαγράμματα: MB –lipid solution(1.52µg/ml) with MB(0.6µg/L) - lipid solution(2.5µg/ml) with MB(0.366µg/L)- lipid solution(2.5µg/ml) with MB(0.183µg/L)

Όπως παρατηρείται, αυξανόμενης της συγκέντρωσης του λιποσώματος και μειούμενης της συγκέντρωσης του MB παρουσιάζεται μεγαλύτερη μετατόπιση στο λmax κατά 20nm , ενώ περαιτέρω μείωση της χρωστικής οδηγεί στον εγκλωβισμό της χρωστικής στα λιποσώματα. (Chrai SS,et al ,2001)

Με την χρήση συγκέντρωσης 0,366µg/L MB εμφανίζεται και τρίτη κορυφή στα 609 nm η οποία επί του παρόντος δεν έχει αξιολογηθεί. Η χρήση πολύ χαμηλής συγκέντρωσης MB δεν έχει καταγραφεί σε προηγούμενες μελέτες οι οποίες υπαινίσσονται θεωρητικά. Στην παρούσα εργασία καταγράφηκε και πειραματικά.

3.4 ΕΚΡΟΦΗΣΗ

Χρησιμοποιώντας μεγαλύτερης συγκέντρωσης λιποσώματα (2,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) και την μικρότερη συγκέντρωση της χρωστικής (0,183 $\mu\text{g}/\text{L}$), όπου παρατηρείται πιθανώς σχεδόν εξολοκλήρου διείσδυση MB στα λιποσώματα μελετήθηκε η επίδραση κατιόντων. Χρησιμοποιήθηκε διάλυμα κατιόντων Καλίου (K^+ , 1 mM) και εξετάστηκε η αλληλεπίδραση στα 2, 13, 20 και 40 λεπτά παραμονής των ιόντων στο διάλυμα (Σχ.9).



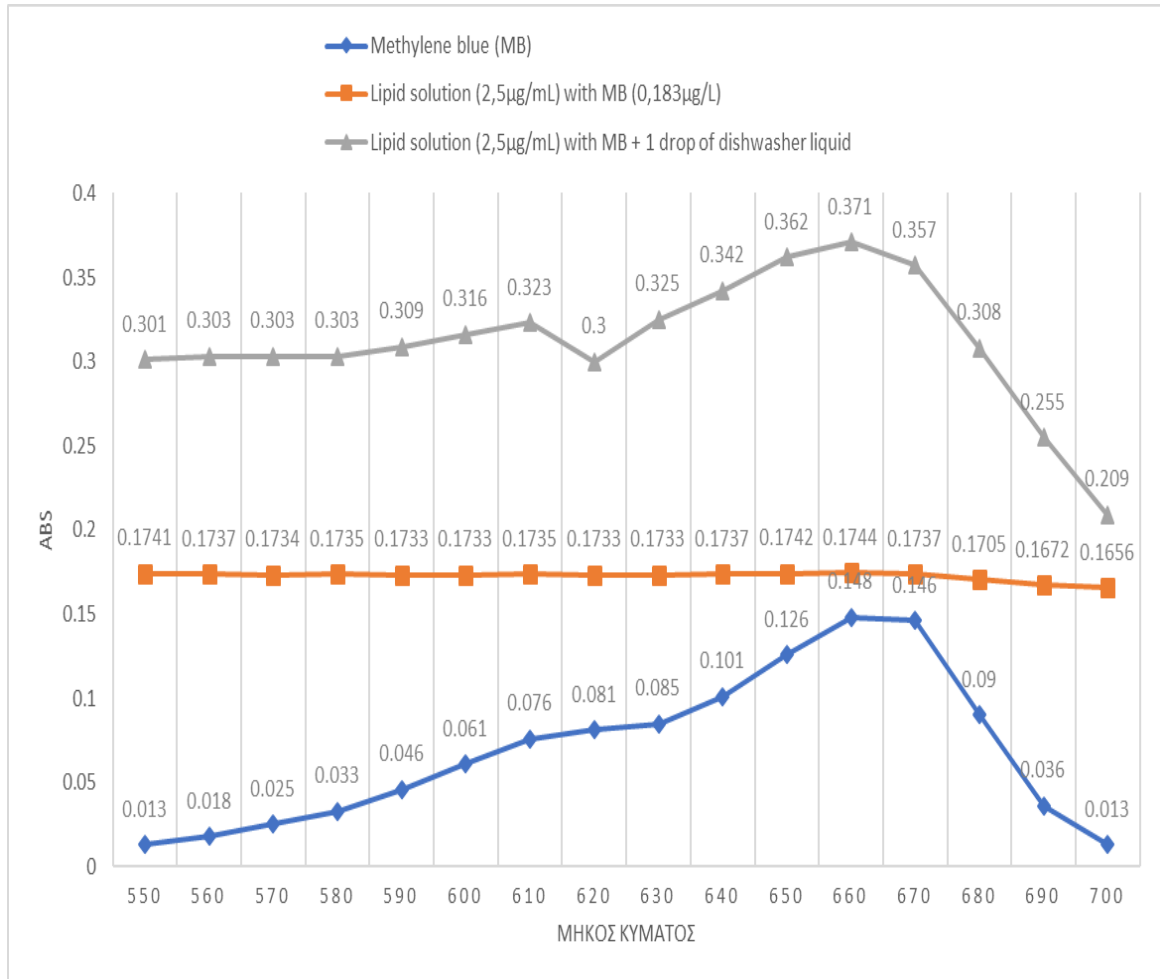
Σχήμα 9 : Διαγράμματα απορρόφησης: MB και για lipid solution(2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) with MB(0.183 $\mu\text{g}/\text{L}$) κατά την επίδραση κατιόντων για t=2min , t=13min , t=20min και t=40min

Όπως προκύπτει μετά από 40 λεπτά , μεγάλο ποσοστό του MB έχει εκροφηθεί. Πιθανώς στο πρώτο διάστημα εκρόφησης η χρωστική να παραμένει προσροφημένη στην επιφάνεια. Οι μεταβολές στο φάσμα δεν δεικνύουν την λύση των λιποσωμάτων αλλά την εκρόφηση της χρωστικής σχεδόν αμέσως. (Mertins, et al., 2014). Στην περίπτωση λύσης , το φάσμα του MB θα έπρεπε να εμφανίσει συμφωνία. Ο μεγάλος χρόνος που απαιτείται για την εκρόφηση συμβαδίζει με τον ανταγωνιστικό μηχανισμό ο οποίος γενικά είναι χρονοβόρος. Σε μια παλαιότερη μελέτη χρησιμοποιώντας φορτισμένα λιποσώματα και ιόντα αμμωνίου (NH_4^+) ,η εκρόφηση γινόταν σε 15 λεπτά. Στην ίδια μελέτη καταγράφηκε μεγαλύτερη ένταση του φαινομένου με χρήση αμμινών

3.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ

Οι αλληλεπιδράσεις του MB με τα λιποσώματα εξαρτάται από πολλές παραμέτρους τόσο των λιποσωμάτων όσο και της χρωστικής, όπως παρατηρήθηκε στο (Mertins, et al., 2014). Η φωτοδιάσπαση της χρωστικής μπορεί να οδηγήσει στα GRAND liposomes . Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι μηχανισμοί οξειδωσης των λιποσωμάτων με τον χρόνο , καθώς και η επίδραση των επιφανειοδραστικών ουσιών. Ενδιαφέρον διότι τα υγρά απόβλητα πιθανώς να περιέχουν μεγάλο ποσοστό επιφανειοδραστικών ουσιών . Το φαινόμενο έχει αρχίσει να μελετάται τελευταία. Σε σχέση με τις φαρμακολογικές χρήσεις των λιποσωμάτων εξαρτωμένης της ουσίας. Η παρουσία τέτοιων ουσιών μπορεί να επικουρήσει την προσρόφηση και διείσδυση στα λιποσώματα ή να οδηγήσει στην εκρόφηση των ουσιών , ακόμη και στην λύση των λιποσωμάτων (Xubo Lin,et al ,2012).

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε εμπορικό διάλυμα καθαριστικής ουσίας (υγρό πιάτων). Μία σταγόνα του διαλύματος προστέθηκε σε διάλυμα λιποσωμάτων 2,5μg/ml και MB 0,183μg/L (Σχ.10) .



Σχήμα 10 : Διαγράμματα απορρόφησης MB για lipid solution(2.5μg/ml) with MB(0.183μg/L) και για lipid solution(2.5μg/ml) with MB(0.183μg/L) κατά την επίδραση καθαριστικής ουσίας.

Τα αποτελέσματα δεικνύουν ότι στην πολύ χαμηλή συγκέντρωση χρωστικής οι επιφανειοδραστικές ουσίες επιφέρουν εκρόφιση της χρωστικής

4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με την προσθήκη λιποσωμάτων στο διάλυμα του methylene blue , παρατηρήθηκε εγκλωβισμός της χρωστικής στα λιποσώματα. Το ίδιο διάλυμα μετά από μία βδομάδα δεν παρουσίασε την ίδια μετατόπιση αλλά δεικνύει ότι η χρωστική είναι προσροφημένη στην επιφάνεια των λιποσωμάτων με μειούμενη απορρόφηση , χωρίς το ποσοστό της χρωστικής που έχει εισέρθει να προσδιοριστεί. Αυξάνοντας την συγκέντρωση των λιποσωμάτων και μειώνοντας την αντίστοιχη της χρωστικής , παρατηρείται μεγαλύτερη μετατόπιση του λmax , ενώ περαιτέρω μείωση της χρωστικής οδήγησε στον εγκλωβισμό της. Χρησιμοποιώντας μεγαλύτερης συγκέντρωσης λιποσώματα και την μικρότερη συγκέντρωση της χρωστικής, μελετήθηκε η επίδραση κατιόντων. Η χρήση κατιόντων Καλίου προκάλεσε εκρόφηση του methylene blue , ενώ οι μεταβολές στο φάσμα δεν υπέδειξαν λύση των λιποσωμάτων. Ομοίως κατά την επίδραση επιφανειοδραστικών ουσιών σημειώθηκε εκρόφηση.

Στην παρούσα εργασία , μελετήθηκε η δυνατότητα χρήσης , λιποσωμάτων στην επεξεργασία υγρών αποβλήτων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα τα λιποσώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την προσρόφηση ουσιών σε υγρά απόβλητα. Βέβαια , απαιτείται περαιτέρω μελέτη που θα περιλαμβάνει διαφορετικούς τύπους λιποσωμάτων (φορτισμένα , άλλων δομών κ.τ.λ.) , καθώς επίσης και πιο μεγάλη διερεύνηση της επίδρασης των κατιόντων και άλλων ουσιών. Κρίνεται πιθανή η χρησιμοποίηση λιπιδίων που υφίστανται ήδη στα υγρά απόβλητα με την δημιουργία in situ. Σημαντική επίσης , είναι η μελέτη της κινητικής προσρόφησης και εκρόφησης , καθώς και του ποσοστού των προσροφημένων ουσιών. Τέλος , η οικονομική διάσταση της μεθόδου θα είχε ιδιαίτερο ενδιαφέρον , στην περίπτωση που προτεινόμενο σχήμα είναι εφικτό , θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί και το κόστος της μεθόδου να μειώνεται σημαντικά.

5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Kostarelos, K., Luckham, P., Tadros, T., Zeneca Agrochemicals, & Imperial College of Science. (1995). THE USE OF HYDROPHOBIC DYE MOLECULES IN MONITORING THE LIPOSOME BILAYER MICROENVIRONMENT AND LOCATING BLOCK COPOLYMERS ADDED TO ENHANCE LIPOSOME STERIC STABILITY. In *JOURNAL OF LIPOSOME RESEARCH* (pp. 443-452). London.
2. Mertins, O., Bacellar, I., Thalmann, F., M.Marques, C., Baptista, M., Itri, R., & Departamento de Fisica Aplicada, Instituto de Fisic. (2014). Physical Damage on Giant Vesicles Membrane as a Result of Methylene Blue Photoirradiation. Στο *Biophysical Journal* (σσ. 162-171). Sao Paulo.
3. Nageed Rashed, M., El-Daim El TAHER, M., Fadlalla, S., Chemistry Department, Faculty of Science, & Aswan Company for Water and Wastewater. (2016). Adsorption Kinetics and Isotherms for Removal of Rhodamine B (dye) using Adsorbents prepared from drinking water treatment sludge. Στο *American Journal of Scientific Research and Essays*. Aswan, Egypt.
4. NISHIJO, J., KAWABATA, K., NAKAGAKI, M., Kobe Womens College of Pharmacy, & Japan and Faculty of Pharmaceutical Science. (1988). Adsorption of Monovalent Cations on Negatively Charged Liposomes Evaluated From the Spectral Change of Methylene Blue. Στο *CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL BULLETIN*. Kyoto, Japan.
5. Schematic representation of different particulate systems for drug transport and delivery. ΠΗΓΗ Ramos-Cabrer P1, Campos F. Liposomes and nanotechnology in drug development: Focus on neurological targets, *Int J Nanomedicine*. 2013;8:951-60
6. Lisa Sercombe, Tejaswi Veerati, Fatemeh Moheimani, Sherry Y. Wu, Anil K. Sood, and Susan Hua, Advances and Challenges of Liposome Assisted Drug Delivery, *Front Pharmacol*. 2015; 6: 286.
7. Chrai SS, Murari R, Imran A: Liposomes: a review. *Bio Pharm* 2001, 14(11):10–14.

8. White GF1, Racher KI, Lipski A, Hallett FR, Wood JM., Physical properties of liposomes and proteoliposomes prepared from Escherichia coli polar lipids. *Biochim Biophys Acta*. 2000 Sep 29;1468(1-2):175-86.
9. Bapusaheb B. Tambe Patil, Wastewater Treatment Using Nanoparticles, *J Adv Chem Eng* 5:131, 2015.
10. Ushakumary.E.R, wastewater treatment using low cost natural adsorbents, PhD thesis, faculty of engineering, Cochin university of science and technology, 2013.
11. Xubo Lin, Changling Wang, Meng Wang, Kun Fang, and Ning Gu, Computer Simulation of the Effects of Nanoparticles' Adsorption on the Properties of Supported Lipid Bilayer, *J. Phys. Chem. C*, 2012, 116 (33), pp 17960–17968.