

Разработка криоскопического осмометра для криобиологических исследований

В.Н. Кучков

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Development of Cryoscopic Osmometer for Cryobiological Studies

V.N. KUCHKOV

Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

Осмометрия является аналитическим инструментом, который в настоящее время широко применяется в клинической диагностике, микробиологии, биотехнологии. В криобиологии осмотические эффекты играют ключевую роль на всех этапах криоконсервирования, определяя трансмембранные потоки ионов и воды в клетке, температуру замерзания вне- и внутриклеточной среды, структурную организацию плазматических мембран, конформационную стабильность внутриклеточных коллоидов и многое другое.

На сегодняшний день на рынке научного оборудования появляется все большее количество осмометров, разработанных для решения конкретных научных задач. Наибольшее распространение из-за надежности и простоты в использовании получили осмометры, основанные на измерении понижения точки замерзания исследуемого раствора. Криоскопические осмометры, применяемые для рутинных клинических анализов, не требуют высокой точности измерений и ограничены погрешностью измерений $\pm 4 \dots \pm 30$ мОсм, в то время как в криобиологических исследованиях существенными являются более низкие изменения осмоляльности ($\pm 0,1 \dots \pm 2$ мОсм), вызываемые выбросом или поглощением клетками микрочастиц осмотически активных веществ и воды.

Цель работы – анализ факторов, определяющих точность измерений температуры замерзания растворов в криоскопическом осмометре, и разработка прибора для регистрации малых изменений осмоляльности биологических жидкостей.

Установлено, что точность измерения температуры замерзания зависит от теплоемкости термоизмерительного элемента осмометра и времени установления теплового равновесия между термистором и исследуемым раствором. Точность измерения температуры возрастает при увеличении времени измерения в результате установления теплового баланса между термоизмерительным элементом и раствором. Для этого необходимо увеличить время кристаллизации раствора в криоскопическом осмометре.

В разработанной нами криоскопической ячейке время кристаллизации исследуемого раствора увеличено за счет уменьшения теплообмена ячейки с внешней средой и уменьшения теплоемкости конструктивных элементов ячейки. Разработанная криоскопическая ячейка позволила получить следующие технические характеристики прибора: погрешность измерения температуры замерзания $\pm 0,005^\circ\text{C}$, что соответствует погрешности изменения осмотической концентрации $\pm 2,5$ мОсм; объем образца 0,12 мл, который сопоставим с техническими характеристиками научных приборов подобного класса, существующих на рынке криоскопических осмометров.

Osmometry is an analytical tool that is widely used in clinical diagnostics, microbiology and biotechnology. In cryobiology osmotic effects play a key role during all the cryopreservation stages determining ion and water transmembrane fluxes in the cell, freezing temperature of extra- and endocellular medium, structural organization of plasma membranes, conformational stability of endocellular colloids and many others.

Today in the scientific equipment market the quantity of osmometers designed for solving the specific scientific problems is increased. The osmometers based on the freezing point depression measurement of investigated solution have the widest propagation because of the reliability and simplicity when using them. Cryoscopic osmometers applied to routine clinical analyses do not require a high accuracy of the measurements and accuracy limitation is $\pm 4 \dots \pm 30$ mOsm, while in cryobiological researches lower changes of osmolality ($\pm 0,1 \dots \pm 2$ mOsm), invoked by emission or absorption of microquantities of osmotically active compounds and water by cells are essential.

The purpose of the given work is to analyze the factors determining an accuracy of the freezing temperature measurements of solutions in cryoscopic osmometer and on this base the development of the device for recording a low osmolarity changes of biological fluids.

It is established, that accuracy of freezing temperature measurement depends on capacity of the heat-variable resistor of the osmometer and time during the heat balance between thermistor and investigated solution will be set. Temperature measurement accuracy increases with an augmentation of the measurement time as a result of the heat balance setting between the heat-variable resistor and solution. For this purpose it is necessary to increase the solution crystallization time in cryoscopic osmometer.

In the designed by us cryoscopic well the crystallization time of investigated solution is increased at the expense of reduction of heat exchange with an environment and decrease in heat capacity of structural component of the well. Designed cryoscopic well has allowed to receive the following technical characteristics of the device: inaccuracy of freezing temperature measuring is $\pm 0.005^\circ\text{C}$, that corresponds to an error of change of osmotic concentration ± 2.5 mOsm, volume of the sample is 0.12 ml, that is comparable to technical characteristics of scientific devices of the similar class existing in the cryoscopic osmometers market.