

УДК 541.64: 539.2: 536.41

Вергун Л.Ю. к.ф.-м.н., н.с.

### Особливості зсувної пружності ліпідних систем при низьких температурах

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, 01601, м. Київ, вул. Володимирська 64/13,  
e-mail: vergunliena@rambler.ru

L.Yu. Vergun, PhD, Sci. Res.

### The Peculiarities of Shear Elasticity of the Lipid Systems at Low Temperatures

Taras Shevchenko National University of Kyiv, 01601, Kyiv, Volodymyrska st. 64/13,  
e-mail: vergunliena@rambler.ru

*Розглядається питання щодо причин деструкції біологічної тканини під дією низьких температур. Врахована роль клітинних мембран в цьому процесі. Експериментально досліджена температурна залежність комплексного модуля зсуву та теплоємності модельної системи (суміші триацилгліцеридів) в інтервалі температур 250-290К. Встановлено існування в цьому інтервалі температур трьох фазових переходів – рекристалізації, передплавлення та плавлення. Запропоновано гіпотезу щодо участі у процесі передплавлення специфічних дефектів – супервакансій.*

*Ключові слова: криоконсервація, модуль зсуву, супервакансія.*

*A question about reasons of the biological tissue destruction under the action of low temperatures is examined. The changing of structure connects with inner strains. A considerable role of the cells membranes is taken into account. The biphasic system with solid and liquid phases is studied by the torsion pendulum. The model system as mixture of triacylglycerids is used. The temperature dependence of the complex shear modulus and heat capacity of this system are experimentally investigated in the temperature range of 250-290K. This temperature range is the range of enzymatic activity of cell. The existence of three phase transitions, namely, recrystallization, pre-melting and melting, in this temperature rang is set. All phase transitions for oleic acid are reffered. A hypothesis about the participation in the pre-melting process of the specific defects (supervacancies) is offered. At low temperature the monolayer of biological membrane contains large number of supervacancies. The supervacancies together with narrow pores act to weaken the membrane. Such acting is the reason of destruction of the biological tissue during cryoconservation.*

*Key Words: cryoconservation, shear modulus, supervacancy.*

Статтю представив академік НАН України, д.ф.-м.н., проф. Булавін Л.А.

### Вступ

Як відомо, в сучасній медицині використовуються низькі температури для зберігання біологічної сировини (криоконсервація) [1]. Впродовж дії низьких температур змінюється структура біологічної тканини. Зміна структура при зазначених умовах може бути причиною появи внутрішніх напружень. При достатньо значному рівні останніх відбувається деструкція тканинної структури. Подальше застосування такої біологічної сировини в медичній практиці є недоцільним. На клітинному рівні деструкція біотканин визначається розривом мембран [1].

Основу біологічної мембрани, як відомо, складає ліпідний бішар [2]. Виникнення тріщин в ліпідному бішарі визначається його деформаційними та механічними властивостями [1]. Однак, вивчати ці властивості безпосередньо на окремій мембрані ускладнено малою кількістю речовини. Зважаючи на цю обставину, пропонується використовувати модельні системи [3]. Однією з таких модельних

систем для вивчення триацилгліцеролів, що є основною ліпідних бішарів біологічної мембрани, можуть слугувати триацилгліцериди. [4].

В даній роботі, зважаючи на наведені рекомендації, викладені результати експериментальних досліджень щодо деформаційних та теплових властивостей триацилгліцеридів. Як відомо, властивості ліпідного бішару суттєво змінюються в області, що визначається протіканням фазового переходу, на протязі якого відбувається перехід ліпідної мембрани із твердого стану, що відповідає фазі із значним вмістом впорядковано розташованих молекулярних одиниць, в рідкий стан – фазу, яка характеризується наявністю впорядкованих і переплутаних областей [5]. Зміна співвідношення між «твердою» та «рідкою» фазами, як відомо [див. наприклад 6] пропорційна зсувові. Виходячи з вищевикладеного в даній роботі головна задача полягала у дослідженні теплових і деформаційних властивостей в околі температурної області, де

імовірно можуть відбуватись фазові перетворення модельної ліпідної системи. Зміна величини крутильних коливань досліджуваного зразка, як відомо, пов'язано із зміною його жорсткості.

### Методика експерименту

Модельна система являла собою суміш триацилгліцеридів (олеїнової та лінолевої жирних кислот), які є одними із головних компонентів мембранних ліпідів [7]. Визначення деформаційних властивостей експериментально досліджувалось на крутильному маятнику за методикою [8]. Кювета з досліджуваною речовиною розміщувалась в термоізоляційну камеру і охолоджувалась до температури 250 К – температури початку ферментної активності клітини, що залежить від структури біологічної мембрани [1, 2]. Після охолодження починався процес нагрівання. При кожному новому значенні температури (з кроком 1°C) вимірювалась частота та амплітуда коливань маятника. На рис. 1. зображено розміщення закріпленої кювети в термоізоляційну камеру.



Рис. 1. Розміщення кювети в термоізоляційній камері

За методикою, викладеною в роботі [8], в'язкопружні характеристики визначаються для речовин, що являють собою двохфазні конденсовані системи. Основними параметрами, що характеризують стан об'єкту дослідження, є дійсна  $G'$  та уявна частина  $G''$  комплексного модуля зсуву  $G^*$  в температурній області протікання імовірного фазового переходу. Визначення теплоємності модельної системи провадилось за допомогою динамічного калориметра із швидкістю нагрівання 4К/ хв. Принцип дії такого калориметра наведено в роботі [ див., наприклад 9].

### Результати експерименту та їх обговорення

На рис. 2 наведено температурну залежність дійсної частини модуля зсуву  $G'(T)$  модельної системи. На рис. 3 наведено температурну залежність уявної частини модуля зсуву  $G''(T)$  модельної системи. На

рис. 4 наведено температурну залежність питомої теплоємності  $c_p(T)$  модельної системи.

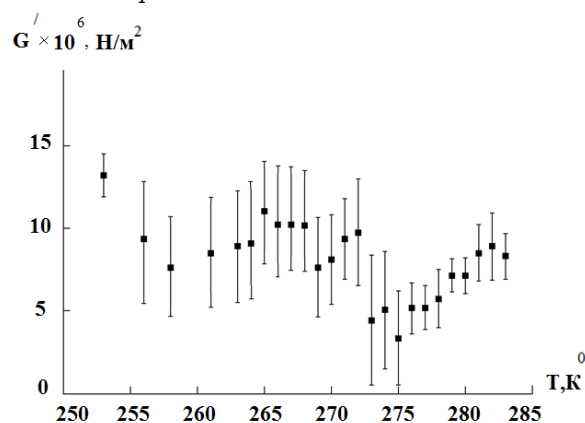


Рис. 2. Залежність  $G'(T)$ .

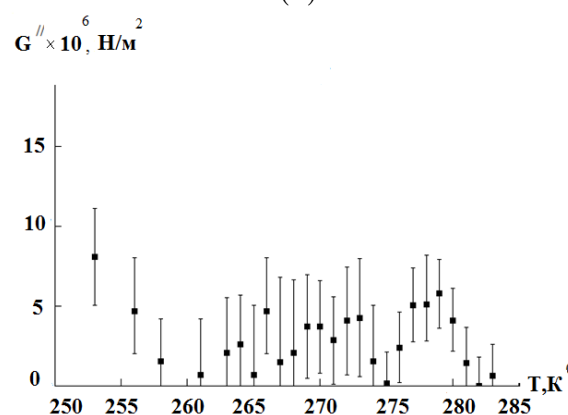


Рис. 3. Залежність  $G''(T)$ .

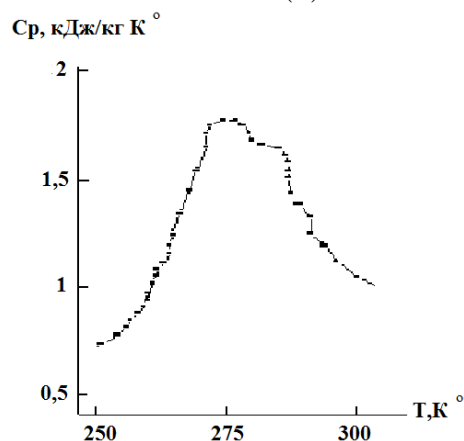


Рис. 4. Температурна залежність питомої теплоємності  $c_p(T)$ .

Як видно з рис. 2 до температури 272 К° модуль  $G'$  практично не змінюється в межах точності вимірів. Надалі, його величина суттєво зменшується до температури мінімуму, що дорівнює 275К°. Після цієї температури модуль  $G'$  починає зростати до 282К° і , знову зменшується. Відомо, що із збільшенням температури величина  $G'$ , як правило, повинна

зменшуватись. Зростання модуля із збільшенням температури є аномалією.

Таке аномальне зростання модуля в інтервалі 275K°-282K° може бути пов'язане тільки з тим, що в системі виникає структура, жорсткість якої більша за жорсткість початкової структури. Виникнення такої структури може відбутись за рахунок процесу рекристалізації [10]. При цьому швидкість охолодження виявилась настільки швидкою, що процес кристалізації при охолодженні не зміг завершитись. Як відомо, температура плавлення лінолевої кислоти складає 268K° [11]. Істотно, що спостережений процес рекристалізації можна віднести до цієї складової суміші. Таким чином, спостережений процес можна віднести до рекристалізації олеїнової кислоти.

З рис. 3 можна встановити наявність максимуму  $G''$  в точці 278 K°. Температура плавлення олеїнової кислоти складає за довідковими даними 286 K° [12]. Відповідно до цього, спостережений максимум не пов'язаний із процесом плавлення цієї кислоти. З роботи [13] відомо, що процесу плавлення повинен передувати процес передплавлення. Це дозволяє стверджувати, що спостережений пік  $G''$  пов'язаний із передплавленням. Наявність процесу передплавлення підтверджується також наявністю подвійного максимуму на температурній залежності питомої теплоємності. (рис. 4). Високотемпературний максимум спостерігається при 286 K°. Зважаючи на цю величину, максимум при 286K° відповідає плавленню. Низькотемпературний максимум в околі температури плавлення прийнято відносити до процесу передплавлення. Як видно з рис. 4 його температура складає 276K°. Враховуючи точність вимірювання можна стверджувати про те, що температура низькотемпературного максимуму  $G'$  та питомої теплоємності  $c_p$  співпадають. Таким чином спостережений максимум  $G''$  на рис.3 відповідає передплавленню олеїнової кислоти.

В роботах [14,15] було зазначено, що в околі точки плавлення відбувається перехід в деяку мезоморфну фазу. Ця фаза являє собою ґратку, яка містить специфічні дефекти супервакансії, що заповнені неупорядкованим матеріалом. Механізм утворення таких дефектів для модельної системи триацилгліцеридів розглядався в роботі [15]. Виникнення порожнин є причиною збільшення рухливості молекул і, відповідно, до розпорядкування системи. Система починає готуватися до плавлення, а тому логічно ототожнити зазначений фазовий перехід з процесом передплавлення. Оскільки молекулярна структура дослідженої модельної системи аналогічна молекулярній структурі ліпідного бішару, то логічно припустити, що типові дефекти повинні виникати також і ліпідному бішарі.

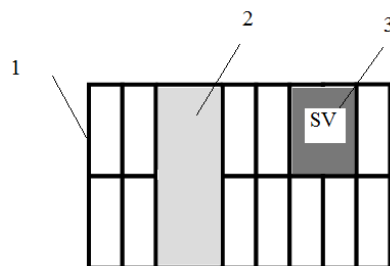


Рис. 5. Стівіснування дефектів – наскрізних пор та супервакансій в ліпідному бішарі.

Прийнято стверджувати, що однією із причин розриву біологічної мембрани при термообробці є наявність структурних дефектів (наскрізних пор) в бішарі [16]. Зважаючи на можливість існування супервакансій, схематично ліпідний бішар можна зобразити на рис. 5, де цифрою «1» позначено ліпідний бішар, цифрою «2» - наскрізну пору, цифрою «3» - супервакансію (SV). Наявність останніх також послаблює мембрану і, відповідно, є внеском в деструкцію тканини. Проведений експеримент вказав на швидке переохолодження мезоморфної фази. Приймаючи до уваги цей факт, можна припустити, що швидко охолоджена суміш жирних кислот повинна містити велику кількість супервакансій. Можливо, подібна ситуація зберігається і у випадку біологічних мембран. При низьких температурах моношар біологічної мембрани повинен містити значну кількість супервакансій. Таким чином нерегульоване охолодження біотканин є причиною зберігання значної кількості супервакансій в структурі, збільшуючи імовірність розриву біотканини.

## Висновки

За результатами досліджень температурної залежності комплексного модуля зсуву та теплоємності триацилгліцеридів в інтервалі температур 250-290 K було встановлено існування в цьому інтервалі температур трьох фазових переходів, а саме, рекристалізації, передплавлення та плавлення. Всі зазначені переходи відносяться до зміни структури олеїнової кислоти. Запропоновано гіпотезу щодо участі специфічних дефектів «супервакансій» в процесі передплавлення. Зважаючи на те, що триацилгліцероли відносяться до класу ліпідів, можна припустити, що подібні дефекти повинні існувати в ліпідному бішарі біологічних мембран. Поряд із наскрізними порами такі дефекти послаблюють мембрану і є причиною розриву біоткан при кріоконсервації.

## Список використаних джерел

1. Bakhach J. The cryopreservation of composite tissues/ J. Bakhach// *Organogenesis*.- 2009.-5(3).-P.119–126.
2. Spector A. Membrane lipid composition and cellular function/ A.A.Spector, M.A.Yorek// *The Journal of Lipid Research*.-1985.-26.-P.1015-1035.
3. De Gennes P. G. *The Physics of Liquid Crystals*- Oxford: Clarendon Press, 1974.-400p.
4. Sum K. Predictive Molecular Model for the Thermodynamic and Transport Properties of Triacylglycerols/ K. Sum, M. J. Bidy, J. J. de Pablo, and M. J. Tupy// *J. Phys. Chem. B*.-2003.-107.-P.14443-14451.
5. Nagle J.F. Theory of the Main Lipid Bilayer Phase Transition/John F.Nagle// *Ann. Rev. Phys. Chem.*-1989.-31.-P.157-196.
6. Darsono N. Rheological Study of the Solidification of Photopolymer and Dispersed Nanotube Systems/ N. Darsono, H. Mizunuma, H. Obara// *Applied Rheology*.-2011.-21(6).-P.63566-63581.
7. Prades J. Effects of unsaturated fatty acids and triacylglycerols on phosphatidylethanolamine membrane structure/ J.Prades, S.Funari, P.V. Escribá, F. Barceló// *Journal of Lipid Research*.-2003.-44.-P.1720-1727.
8. Bulavin L.A. Method for determining the rheological characteristics of consistent liquid/ L.A. Bulavin, O.Yu. Aktan, T.Yu. Nikolaenko, Yu.F.Zabashta // *Ukraine Patent* .-2007.-№ 78094.
9. Garden J.-L. Macroscopic non-equilibrium thermodynamics in dynamic calorimetry/ J.-L.Garden// *Therochimica Acta*.-2007.- 452(2).-P.85-105.
10. Arudi R.L. Purification of oleic acid and linoleic acid/ Ravindra L. Arudi, Mark W.Sutherland, Benon H.J.Bielski// *J.Lipid Research*.-1983.-24(4).-P.458-488.
11. Markley K.S. *Fatty Acids*-New York: Interscience Publishers,1960.-714p.
12. Ferreira F. Dielectric Properties of Oleic Acid in Liquid Phase/ Francisco Ferreira de Sousa, Sanclayton G.C. Moreira, Shirrsley J.dos Santos da Silva, Jordan Del Nero, Petrus Alcantara// *Journal of Bionanoscience*.-2010.-3.-P.1-4.
13. Ubbelohde A.R. *Melting and Crystal Structure*-Oxford: Clarendon Press,1965.-307p.
14. Bulavin L.A. Anisotropic and Isotropic Phases in Polymer Melts/ L.A.Bulavin, O.Yu.Aktan, Yu.F.Zabashta// *Journal of Molecular Liquids*.-2005.-120.-P.139-141.
15. Bulavin L.A. The mechanism of melting of lamellar crystals with the branched chains/ L.A.Bulavin, O.Yu.Aktan, M.M.Lazarenko// *Ukrainian Journal of Physics*.-2005.-50(9).-P.952-957.
16. Notman R. The Perneability Enhancing Mechanism Of DMSO in Ceramide Bilayers Simulated by Molecular Dynamics/ R.Nortman, W.K. den Otter, M. G.Noro, W.J.Briels, J.Anwar// *Biophys.J.*-2007.-93(6).-P.2056-2068.

## References

1. BAKHACH, J.(2009) The cryopreservation of composite tissues. *Organogenesis*.5(3).p.119–126.
2. SPECTOR, A. & YOREK, M.A. (1985) Membrane lipid composition and cellular. *The Journal of Lipid Research*.26.p.1015-1035.
3. DE GENNES, P.G. (1974). *The Physics of Liquid Crystals*.Oxford: Clarendon Press.
4. SUM, K., BIDDY, M.J., DE PABLO, J.J. & TUPY, M.J. (2003) Predictive Molecular Model for the Thermodynamic and Transport Properties of Triacylglycerols. *J. Phys. Chem. B*.107.p.14443-14451.
5. NAGLE, J.F. (1989) Theory of the Main Lipid Bilayer Phase Transition. *Ann. Rev. Phys. Chem.*31.p.157-196.
6. DARSONO, N., MIZUNUMA, H. & OBARA, H. (2011) Rheological Study of the Solidification of Photopolymer and Dispersed Nanotube Systems. *Applied Rheology*.21(6).p.63566-63581.
7. PRADES, J., FUNARI, S., ESCRIBÁ, P.V. & BARSELÓ, F. (2003) Effects of unsaturated fatty acids and triacylglycerols on phosphatidylethanolamine membrane structure. *Journal of Lipid Research*. 44.p.1720-1727.
8. BULAVIN, L.A., AKTAN, O.Yu., NIKOLAENKO, T.Yu. & ZABASHTA, Yu.F. (2007) Method for determining the rheological characteristics of consistent liquid. *Ukraine Patent*. № 78094.
9. GARDEN, J.-L.(2007) Macroscopic non-equilibrium thermodynamics in dynamic calorimetry. *Therochimica Acta*. 452(2). p.85-105.
10. ARUDI, R.L. SUTHERLAND, M.W., BIELSKI, B.H.J. (1983) Purification of oleic acid and linoleic acid. *J.Lipid Research*.24(4). p.458-488.
11. MARKLEY, K.S.(1960). *Fatty Acids*. New York: Interscience Publishers.
12. FERREIRA DE SOUSA, F., MOREIRA, S.G.C., DOS SANTOS DA SILVA, S.J., DEL NERO, J. & ALCANTARA, P. (2010) Dielectric Properties of Oleic Acid in Liquid Phase. *Journal of Bionanoscience*. 3.p.1-4.
13. UBBELHODE, A.R. (1965). *Melting and Crystal Structure*. Oxford: Clarendon Press.
14. BULAVIN, L.A., AKTAN, O.Yu. & ZABASHTA, Yu.F. (2005) Anisotropic and Isotropic Phases in Polymer Melts. *Journal of Molecular Liquids*.120.p.139-141.
15. BULAVIN, L.A., AKTAN, O.Yu. & LAZARENKO, M.M. (2005).The mechanism of melting of lamellar crystals with the branched chains. *Ukrainian Journal of Physics*. 50(9). p.952-957.
16. NOTMAN, R., DEN OTTER, W.K., NORO, M.G., BRIELS, W.J. & ANWAR, J. (2007). The Perneability Enhancing Mechanism Of DMSO in Ceramide Bilayers Simulated by Molecular Dynamics. *Biophys. J.* 93(6). p.2056-2068.

Надійшла до редколегії 20.03.15