

Особенности образования и плавления кластерной фазы в высококонцентрированных криопротекторных растворах

С.С. Севастьянов, А.И. Осецкий

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Peculiarities of Formation and Melting of Cluster Phase in Highly Concentrated Cryoprotectant Solutions

S.S. Sevastianov, A.I. Osetsky

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine
Kharkiv, Ukraine

Образование кластерной фазы β_c в криоконсервируемых с использованием криопротекторных веществ биосистемах может приводить к их значительным повреждениям. Для разработки методов ингибирования этих повреждений необходимо детальное изучение особенностей образования и плавления частиц кластерной фазы.

Цель работы – экспериментальное изучение особенностей образования и плавления в водных растворах глицерина и ДМСО методом объемной сканирующей тензодилатометрии.

Особое значение имеет определение температурных ΔT_β и концентрационных ΔC_β интервалов образования и плавления кластерной фазы. Установлено, что ее образование в процессе отогрева начинается сразу после растеклования раствора. При этом кластеры могут образовываться при объединении даже слабо гидратированных молекул криопротекторного вещества, что обусловлено незначительными размерами критических зародышей льда для данного температурного интервала. С повышением температуры раствора для реализации этого процесса необходимо увеличение степени гидратации, соответственно, и процесс плавления кластерных частиц существенно зависит от величины их ядер: вначале плавятся частицы с минимальным размером ядра.

Показано, что в температурном интервале ΔT_β эти процессы накладываются друг на друга, при этом вид зависимостей объема V исследуемого раствора от температуры T определяется конкуренцией двух процессов: изменением объема системы за счет плавления кластерных частиц и его увеличением в результате теплового расширения жидкой фазы. Если плавление фазы β_c с ростом температуры приводит к увеличению объема системы (ДМСО), то значение $V(T)$ в этом интервале будет резко увеличиваться. Если же при плавлении фазы β_c объем системы уменьшается (глицерин), то объемные эффекты будут компенсировать друг друга, что на кривых $V(T)$ будет иметь вид специфических перегибов. Точку перегиба TC^+ на этих кривых можно ассоциировать с окончанием плавления кластерной фазы.

По полученным тензодилатометрическим кривым $V(T)$ определена зависимость массы $m\beta$ образующейся кластерной фазы от весовой концентрации раствора C_β . Показано, что эта зависимость имеет ярко выраженный максимум при концентрации 50–70%, что хорошо согласуется с теорией кластерной кристаллизации. В данном интервале достигается максимальная концентрация гидратированных молекул криопротекторного вещества и, соответственно, максимальная интенсивность их объединения в кластеры. При более низких концентрациях скорость образования частиц кластерной фазы замедляется из-за недостаточного количества молекул криопротектора, а при более высоких – молекул воды.

The β_c cluster phase formation in the biosystems, being cryopreserved with the cryoprotectant substances, may result in their significant damage. In order to develop the methods for inhibition of such an injury it is necessary to study in details the peculiarities of formation and melting of cluster phase particles. The research aim was to study in experiment the features of aqueous solutions of glycerol and DMSO using the volumetric scanning tensedilatometry.

Of special importance was to determine the temperature ΔT_β and concentration ΔC_β intervals for cluster phase formation and melting. Its formation during thawing was established to begin just after solution devitrification. Herewith the clusters may be formed by combining even slightly hydrated cryoprotectant molecules, that is stipulated by a minor size of critical ice nuclei for this temperature interval. As the solution temperature increases, the implementation of this process requires the augmentation of hydration degree. Correspondingly, the melting process of cluster particles essentially depends on the size of their nuclei, *i. e.* the particles with a minimum nuclear size are melted first.

We demonstrated these processes to be superimposed over each other within the temperature interval ΔT_β , herewith the shapes of the volume dependences $V(T)$ of the studied solution *vs.* the temperature T was determined by the competition between two processes, *i. e.* a change in the system volume due to the melting of cluster particles and its increase as a result of thermal expansion of the liquid phase. The melting of β_c phase with temperature rise (DMSO case) leads to an increase in the system volume, so the $V(T)$ values within this interval will sharply increase. If during the β_c phase melting the system volume decreases (the case of glycerol), the volume effects will compensate each other, and on the curves $V(T)$ it will appear as specific distortions. The inflection point TC^+ on these curves may be associated with the termination of cluster phase melting.

According to the obtained tensedilatometric curves $V(T)$ there was determined the dependency of the mass $m\beta$ of the resulting cluster phase *vs.* the weight concentration of C_β solution. This dependence was demonstrated to have a clear maximum under concentration within the range of 50–70%, which was in a good agreement with the theory of cluster crystallization. Within this interval, the maximum concentration of hydrated molecules of cryoprotectant substance and, accordingly, the maximum intensity of their integration into the clusters were achieved. Under lower concentrations, the formation rate of cluster phase particles slows down due to a deficiency of cryoprotectant molecules, and under the higher ones it occurs because of the lack of water molecules.

