

PACS numbers: 61.46.Bc, 68.37.Ps, 81.07.Nb, 81.16.Fg, 82.40.-g, 82.70.Dd, 87.85.Rs

Триглицеридные наноструктуры и их пространственно-временная динамика

И. С. Михаловский, Г. Б. Мельникова*, В. А. Тарасевич**,
М. В. Самойлов

*Белорусский государственный экономический университет,
просп. Партизанский, 26,
220070 Минск, Беларусь*

**Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова НАН Беларуси,
ул. П. Бровки, 15,
220072 Минск, Беларусь*

***Институт химии новых материалов НАН Беларуси,
просп. Независимости, 36,
220141 Минск, Беларусь*

Получена низкоразмерная дисперсная система из триглицеридов олеиновой кислоты. С использованием метода атомно-силовой микроскопии установлено, что дисперсная фаза представляет собой матрицу глобулярных наноструктур. Методом спектрального анализа показано, что коллоид из триглицеридов олеиновой кислоты характеризуется низкой скоростью деструкции дисперсной фазы с константой скорости порядка 10^{-5} с^{-1} . Наноструктуры из триглицеридов олеиновой кислоты могут быть основой коллоидной формы биоцида полигексаметиленгуанидингидрохлорида.

Одержано низькорозмірну дисперсну систему з тригліцеридів олеїнової кислоти. З використанням методи атомово-силової мікроскопії встановлено, що дисперсна фаза являє собою матрицю глобулярних наноструктур. Методом спектральної аналізи показано, що коллоїд із тригліцеридів олеїнової кислоти характеризується низькою швидкістю деструкції дисперсної фази з константою швидкості порядку 10^{-5} с^{-1} . Наноструктури з тригліцеридів олеїнової кислоти можуть бути основою коллоїдної форми біоциду полігексаметиленгуанідингидрохлориду.

Low-dimensional disperse system is fabricated from triglycerides of oleic acid. As revealed with the use of the atomic-force microscopy method, the dispersed phase is a matrix of globular nanostructures. As shown by the spectral-analysis method, the colloid of oleic-acid triglycerides is characterized by low rate of destruction of a dispersed phase with a kinetic constant of about 10^{-5} sec^{-1} . Nanostructures of oleic-acid triglycerides can be a base of

the colloidal form of polyhexamethyleneguanidinehydrochloride biocide.

Ключевые слова: триглицериды, коллоид, структура, биоцид полигексаметиленгуанидингидрохлорида, кинетика.

(Получено 19 октября 2010 г.)

1. ВВЕДЕНИЕ

Разработка новых методических подходов к синтезу дисперсных систем из биологических макромолекул может быть положена в основу прогрессивных технологий получения современных материалов для целей здравоохранения, пищевой промышленности, сельского хозяйства. В этом плане представляет значительный интерес получение наноструктурированных коллоидов с последующим включением в дисперсные структуры функциональных соединений (дезинфектантов, лекарственных соединений и др.) [1–3]. Так, например, в ряде случаев антибактериальной обработки (движущаяся поверхности и др.) является оптимальным использование коллоидных форм биоцидов, способных к самовосстановлению при внешних воздействиях, например, дисперсных структур из липидов, содержащих молекулы биоцидных веществ.

В ряде случаев включение функциональных молекул в дисперсные структуры может привести к их деструкции, что делает задачу, связанную с получением коллоидных форм материалов, трудной. В этой связи являются актуальными исследования пространственно-временной динамики дисперсной фазы в присутствии таких соединений.

В статье приведены результаты научно-исследовательской работы по разработке методики получения наноструктурных дисперсных систем из триглицеридов жирных кислот (дисперсная фаза из триглицеридов олеиновой кислоты–водная среда) с последующим введением в них дезинфицирующих препаратов (полигексаметиленгуанидингидрохлорида).

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали триглицериды олеиновой кислоты высокой степени очистки производства ‘Sigma’. Точные (до 0,0001 г) навески жидких триглицеридов осуществляли с использованием предварительно прокаленной микропипетки со сменными полимерными наконечниками производства ‘Bionit’ (Финляндия) на электронных микровесах с самокалибровкой производства ‘Ohaus’ (США). Полигексаметиленгуанидингидрохлорид (ПГМГ) синтезирован в лаборатории поверхностно-активных веществ ГНУ «Институт химии новых

материалов Национальной академии наук Беларуси».

Получение коллоида из триглицеридов, а также последующее изучение кинетики агрегации его дисперсной фазы осуществлено на кафедре технологии важнейших отраслей промышленности УО «Белорусский государственный экономический университет». Взвесь триглицеридов олеиновой кислоты в дистиллированной воде в концентрации 1,5 мг/мл обрабатывали ультразвуком с использованием установки ИЛ100-6/1 производства ООО «Ультразвуковая техника — ИНЛАБ» (РФ) с магнитострикционным преобразователем электромагнитной энергии с водяным охлаждением. Частота ультразвуковых колебаний составляла 22 кГц, мощность 700 Вт. Диспергирование триглицеридов выполняли в цилиндрической ёмкости с использованием волновода с коэффициентом передачи 1:1. Готовый коллоид из триглицеридов инкубировали 3 ч при равномерном перемешивании роторной магнитной мешалкой в темноте при температуре 20°C.

Кинетику агрегации триглицеридной фазы исследовали с помощью компьютерного спектрофлуориметрического комплекса SM2203 производства ЗАО «Солар» (РБ), работающего в режиме измерения оптической плотности D , на основании анализа зависимости оптической плотности образца от времени его инкубирования t (режим «Кинетика») в термостатируемой кварцевой кювете (оптический путь образца 1 см) при равномерном перемешивании с помощью конструктивно встроенной в кюветное отделение и программно управляемой магнитной мешалкой. С использованием данного цифрового прибора абсолютная погрешность измерения оптической плотности до значения 1,000 не превышает 5%.

В начальный момент времени на длине волны $\lambda = 580$ нм (спектральные исследования показали, что триглицериды не поглощают излучение данной длины волны) начинали регистрацию кинетики (зависимость оптической плотности от времени). Ширина щели падающего света, устанавливаемая программно, равнялась 2 нм. Затем, через 60 секунд в кюветное отделение помещали кварцевую кювету с 2 мл коллоида из триглицеридов. Оптическая плотность скачкообразно возрастала вследствие рассеяния света на коллоидных структурах. Продолжали регистрацию кинетики светорассеяния один час в непрерывном режиме с интервалом сканирования 0,5 секунд, затем дискретно, через 2 ч, 4 ч, 6 ч и 24 ч.

Кинетику агрегации триглицеридной фазы в присутствии ПГМГ исследовали следующим образом. В течение 1 ч регистрировали кинетику светорассеяния исходного коллоида объёмом 2 мл, затем в него вводили 30 мкл водного раствора ПГМГ в концентрации 40 мг/мл и продолжали регистрацию кинетики, сначала в течение часа через интервал 0,5 с, затем дискретно, через 4 ч, 6 ч, 24 ч.

С целью исключения влияния температуры на структурные характеристики дисперсной фазы все эксперименты выполняли при одинаковой температуре 20°C. В промежутках между измерениями

закрытую кювету с исследуемым образцом хранили в термостате также при температуре 20°C.

Исследование структуры дисперсной фазы триглицеридного коллоида выполняли в контактном режиме работы атомно-силового микроскопа (АСМ) «НТ-206» со стандартными кремниевыми кантилеверами жёсткостью 3 Н/м в лаборатории нанопроцессов и технологий ГНУ «Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова Национальной академии наук Беларуси».

Анализ кинетики агрегации дисперсной фазы (построение спектров, их математическая обработка) выполняли с помощью специализированного программного пакета обработки численных данных Origin Pro 7.0 for Windows.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

АСМ-изображения коллоида из триглицеридов олеиновой кислоты на кремниевой подложке приведены на рис. 1. Видно, что дисперсная фаза представляет собой матрицу глобулярных наноструктур (рис. 1, б). Подобная пространственная организация характерна для липидных структур фрагмента клеточной мембраны [4]. Размер дисперсных частиц оценивали по 2D-изображению (рис. 1, а) путём построения профиля по линии сканирования с использованием специализированного программного пакета SurfaceExplorer. Профиль размера структурной единицы, выделенной на рис. 1, а, приведён на рис. 1, в. Размер дисперсной структуры определяли как перепад высоты (dz) на профиле в нижней и верхней точке выделенной частицы. Среднее значение линейного размера данной триглицеридной структуры по высоте составляет 20 нм. Аналогичным образом выполнены расчёты размера остальных дисперсных частиц. Установлено, что среднее значение линейного размера частиц в высоту изменяется от 2 до 20 нм.

В ширину среднее значение линейного размера дисперсных структур колеблется в более широких пределах — от 150 до 500 нм. Разброс данного параметра, очевидно, связан с «растеканием» триглицеридных структур на кремниевой подложке. Известно, что в полярных средах (водный фосфатно-солевой буферный раствор) липиды, например, димиристоилфосфатидилхолин, образуют глобулярные везикулы (липосомы) [5]. Можно предположить, что в водной среде для триглицеридных наноструктур характерна сферическая форма.

Зависимость оптической плотности коллоида из триглицеридов олеиновой кислоты от времени приведена на рис. 2. Видно, что с течением времени наблюдается снижение оптической плотности образца вследствие изменения структуры дисперсной фазы (рис. 2, кривая 1). С использованием программного пакета Origin Pro установлено, что кинетика удовлетворительно аппроксимируется одно-

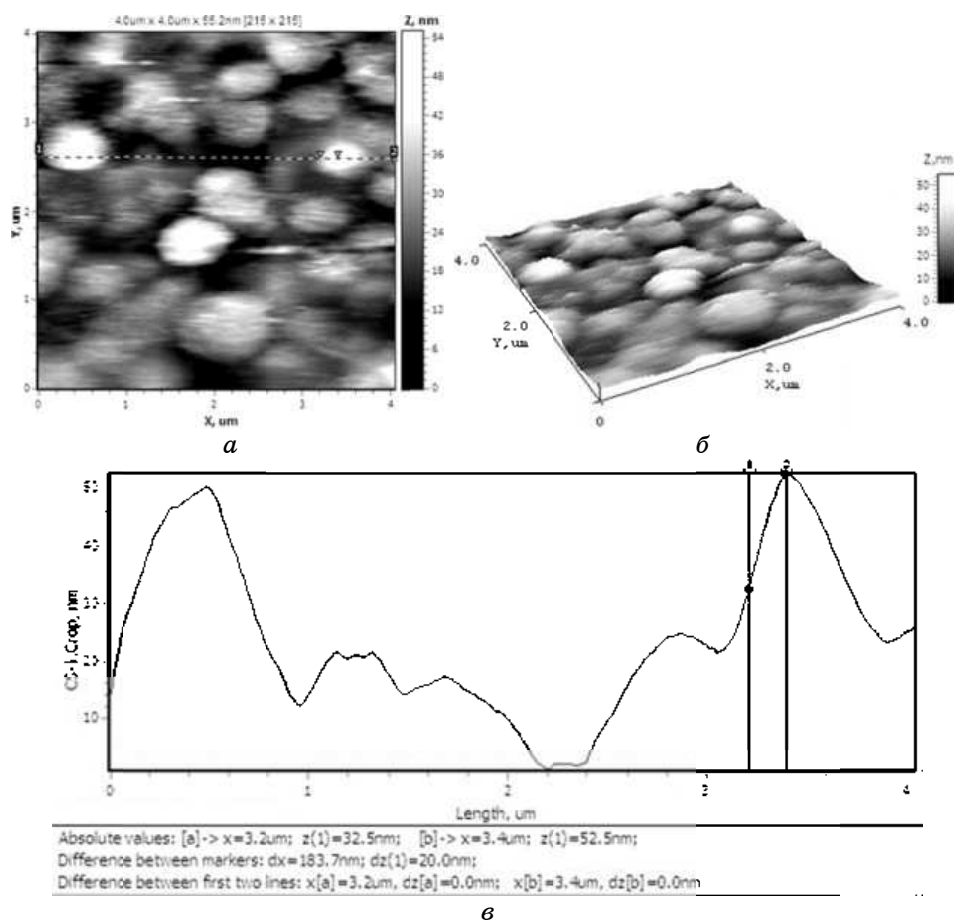


Рис. 1. Структура дисперсной фазы коллоида из триглицеридов олеиновой кислоты: *a* — 2D-АСМ-изображение топографии поверхности; *б* — 3D-АСМ-изображение поверхности; *в* — профиль поперечного сечения.

экспоненциальной зависимостью (рис. 2, кривая 2):

$$y = y_0 + A \exp(-x / t_0), \quad (1)$$

где переменная ординат y соответствует величине D , переменная оси абсцисс x — времени инкубирования коллоида t . Величину $1/t_0$ можно принять за константу скорости процесса деструкции дисперсных частиц.

Установлено, что коллоид из триглицеридов олеиновой кислоты характеризуется низкой скоростью деструкции дисперсной фазы с константой скорости, порядка 10^{-5} c^{-1} . Действительно, визуальное гелеобразная структура коллоида при комнатной температуре (18–

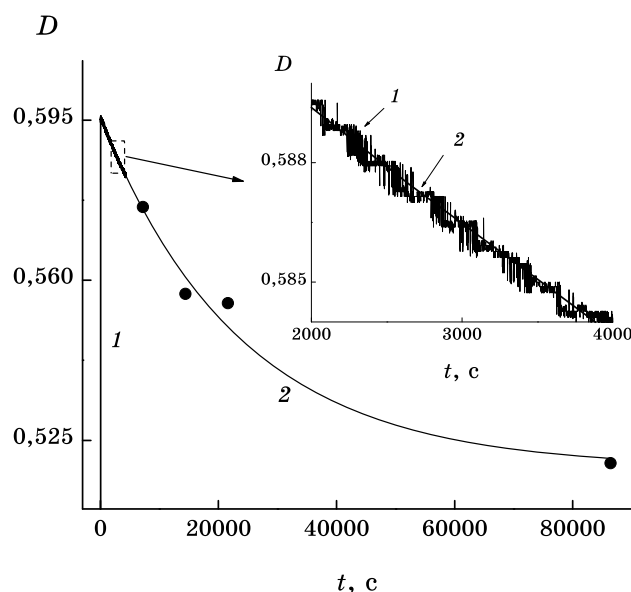


Рис. 2. Зависимость оптической плотности коллоида из триглицеридов олеиновой кислоты от времени инкубирования. 1 — исходная (экспериментальная) кинетика с отдельными точками через 2 ч, 4 ч, 6 ч и 24 ч. 2 — аппроксимация кинетики одной экспонентой.

20°C) сохраняется более 7 сут.

Анализ полученных результатов с прикладной точки зрения позволяет заключить, что данный коллоид с низкой скоростью деградации липидной фазы можно использовать в качестве дисперсной основы новых функциональных материалов. В этом плане представляет значительный интерес исследование по включению в состав триглицеридных наноструктур производных гуанидина — эффективных дезинфектантов [7]. На рисунке 3, кривая 1 представлена зависимость оптической плотности коллоида из триглицеридов олеиновой кислоты от времени в присутствии ПГМГ. Введение ПГМГ в дисперсную систему сопровождается снижением её оптической плотности с выходом на плато (рис. 3). Из данных, приведённых на рис. 3 (кривая 2), видно, что кинетика не аппроксимируется одной экспонентой, согласно уравнению (1). Кинетика хорошо аппроксимируется суммой двух экспонент (рис. 3, кривая 3):

$$y = y_0 + A_1 \exp(-x / t_{01}) + A_2 \exp(-x / t_{02}). \quad (2)$$

На основании результатов двухэкспоненциальной аппроксимации можно предположить, что процесс связывания ПГМГ с триглицеридными наноструктурами характеризуется двумя стадиями. На

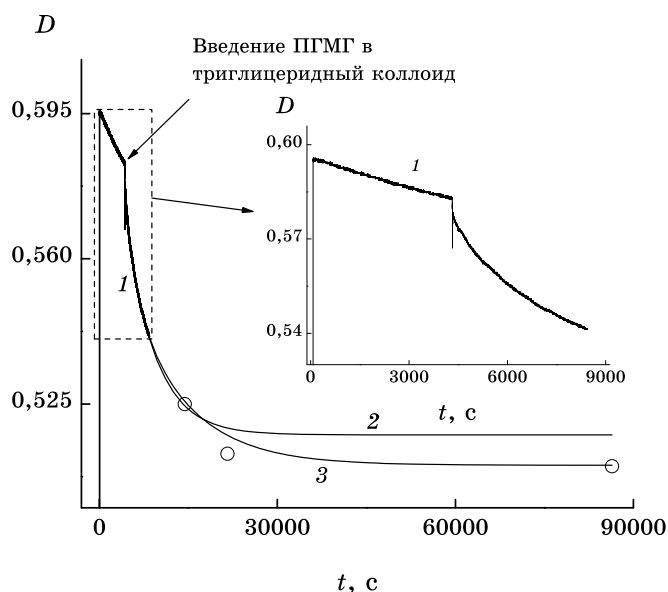


Рис. 3. Зависимость оптической плотности коллоида из триглицеридов олеиновой кислоты от времени инкубирования в присутствии ПГМГ. 1 — исходная (экспериментальная) кинетика с отдельными точками через 2 ч, 4 ч, 6 ч и 24 ч; 2 — аппроксимация кинетики одной экспонентой; 3 — аппроксимация кинетики суммой двух экспонент.

начальной стадии, протекают процессы распределения ПГМГ между дисперсными наночастицами и сорбции на них молекул данного биоцида (константа скорости $1/t_{01}$ составляет $5 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$). На следующей, более медленной, стадии (константа скорости $1/t_{02} — 1 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$) протекают, по-видимому, структурные перестройки наночастиц, вызванные ПГМГ, являющимися катионными полиэлектролитами.

По завершении второй стадии кинетики оптическая плотность коллоида практически не изменяется с течением времени. Можно заключить, что в присутствии ПГМГ не наблюдается дальнейшее существенное изменение структурной организации коллоида из триглицеридов олеиновой кислоты.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании приведённых экспериментальных данных о структуре и временной динамике дисперсной фазы из триглицеридов олеиновой кислоты можно сделать вывод, что триглицеридные коллоиды могут быть основой новых наноструктурированных дисперсных продуктов. Введение полигексаметиленгуанидингидрохлорида в состав триглицеридных наноструктур не приводит к деструкции дисперс-

ной фазы, что свидетельствует о возможности разработки технологий получения коллоидных форм биоцидных препаратов гуанидиновой природы.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. A. H. Faraji and P. Wipf, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **17**: 2950 (2009).
2. J. A. Castillo, A. Pinazo, J. Carilla, M. Infante, M. A. Alsina et al., *Langmuir*, **20**: 3379 (2004).
3. И. С. Михаловский, *Равновесные и кинетические характеристики распределения порфириновых сенсбилизаторов в биологических мембранах* (Минск: БГУ: 2003).
4. D. Nikova, T. Lange, H. Oberleithner, H. Schillers, A. Ebner et al., *Atomic Force Microscopy in Nanomedicine. Nanoscience and Technology. Applied Scanning Probe Methods III. Characterization* (Eds. B. Bhushan and H. Fuchs) (Berlin–Heidelberg: Springer-Verlag: 2006).
5. В. Г. Ивков, Г. Н. Берестовский, *Динамическая структура липидного бислоя* (Москва: Наука: 1981).
6. В. А. Тарасевич, В. Е. Агабеков, П. М. Малашко, В. П. Макаренко, А. В. Соколовский, *Весті НАН Беларусі (сер. хім. навук)*, № 3: 62 (2003).