

Повреждение охлаждаемых биообъектов за счет образования криоколлоидных фракций

А.И. ОСЕЦКИЙ

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Damage of Biological Objects Under Cooling Due to Formation of Cryocolloid Fractions

A.I. OSETSKY

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

В современных представлениях о повреждении криоконсервируемых биообъектов за счет кристаллизации воды превалирует точка зрения о том, что основные механизмы таких повреждений действуют в температурных интервалах, лежащих значительно выше температуры стеклования T_g . Во многом это обусловлено попытками трактовать кристаллизацию водных растворов криопротекторных веществ в рамках классических диаграмм эвтектического типа, что предполагает завершение процессов льдообразования при температурах $T_{eut} \gg T_g$. Однако реально наблюдаемые процессы существенно отличаются от эвтектической кристаллизации: фазовый переход “вода-лед” протекает вплоть до температуры T_g , значительная часть молекул воды не кристаллизуется и переходит в аморфное состояние, в процессе охлаждения криопротекторных растворов и биообъектов может образовываться новая криоколлоидная фаза, состоящая из нанокристаллов льда и комплексов “вода – криопротекторное вещество” строго определенного состава.

В работе проанализированы основные причины таких отличий и определены правила построения реальных неравновесных диаграмм состояния охлаждаемых криопротекторных растворов. Показано, как на основе результатов по объемной сканирующей тензодилатометрии и термопластическому анализу установить параметры области существования криоколлоидной фазы на диаграммах состояния различных криопротекторных веществ. Рассмотрен новый метод определения количества сильносвязанной воды m_A , переходящей в аморфное состояние в составе комплексов “вода – криопротектор”. Установлены значения m_A для водных растворов глицерина и ПЭО-1500.

На основе полученных данных сформулированы возможные механизмы повреждения криоконсервируемых биообъектов вблизи температур стеклования и рассмотрены варианты их ингибирования.

The point of view, that main mechanisms of damages of the biological objects under cryopreservation take place within the temperature intervals being significantly higher the vitrification temperature T_g , prevails in contemporary notions about these damages due to water crystallization. Mainly this is stipulated with the attempts to interpret the crystallization of aqueous solutions of cryoprotective agents within the frames of classic diagrams of eutectic type, that supposes the competing of ice formation processes at $T_{eut} \gg T_g$. However actually observed processes significantly differ from eutectic crystallization: phase transition “water-ice” proceeds up to the temperature T_g , major part of water molecules is not crystallized and transforms into amorphous state, during the cooling of cryoprotective solutions and biological objects a new cryocolloid fraction consisting of ice nanocrystals and “water – cryoprotective substance” complexes of strictly certain composition may form.

In the research there were analyzed basic causes of these differences and the rules of building of metastable state diagrams of the cryoprotective agents to be cooled were defined. The way of establishing the parameters of the existing area of cryocolloid phase in diagrams of state of different cryoprotective agents has been shown on the basis of the results on volumetric scanning tensodilatometry and thermoplastic analysis. New method of determining of the amount of strongly bound water m_A , transforming into amorphous state as a component of the “water-cryoprotectant” complex has been examined. The values m_A for aqueous solutions of glycerol and PEO-1500 have been found.

With basing of the obtained results, there were defined the possible mechanisms of damage of biological objects under cryopreservation near the vitrification temperatures and the variants of their inhibiting were considered.