

# Фазовые состояния водных растворов криопротекторных веществ

А.И. ОСЕЦКИЙ

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков*

## Phase States of Aqueous Solutions of Cryoprotective Substances

A.I. OSETSKY

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

В работе анализируются закономерности кристаллизации наиболее востребованных при реализации технологий криоконсервирования водных растворов полиолов и спиртов. Показано, что диаграммы состояний этих растворов имеют ряд очень важных для практической криобиологии особенностей:

– существует определенная концентрация криопротекторного вещества  $C_g$ , ниже которой в охлаждаемых растворах не образуются отдельные кристаллы этого вещества, что полностью исключает возможность эвтектической кристаллизации данных растворов [A.I. Osetsky, 2009];

– в изученных растворах наблюдается особый вид кристаллизации, приводящий к образованию новой кластерной фазы [A.I. Osetsky, 2011], в результате чего ниже некоторой характерной температуры  $T_c$  криопротекторные растворы должны рассматриваться как трехфазные системы «раствор – кристаллы льда – кластерные частицы»;

– существует интервал концентраций  $C_c \dots C_g$ , в котором происходит только кластерная кристаллизация и наблюдается особый вид переохлаждения раствора, когда кристаллизация практически отсутствует при охлаждении и протекает только при последующем отогреве сразу после расстеклования аморфной фракции.

Экспериментально показано, что в зависимости от типа криопротекторного вещества образуются кластерные частицы двух видов, представляющих собой нанокристаллы льда, окруженные кристаллической (например, растворы ДМСО) или аморфной (например, растворы глицерина) оболочкой из молекул криопротектора. Это обстоятельство ухудшает защитные свойства криопротекторов, образующих кластерные частицы второго типа. Их появление вблизи температур стеклования сопровождается увеличением объема и приводит к резкому скачку давления в расстекловавшихся жидких микрофазах. Как следствие происходит повреждение биообъектов за счет пластической релаксации этих давлений. Данный факт следует учитывать при выборе оптимальных концентраций криопротекторных веществ, особенно таких как глицерин и ПЭО, образующих кластерные частицы с аморфными поверхностными оболочками.

The crystallization regularities for the most actual aqueous solutions of polyols and alcohols, when implementing the cryopreservation technologies have been analyzed in this research. State diagrams for these solutions have been shown to have a number of very important peculiarities for practical cryobiology such as:

– certain concentration of cryoprotective substance  $C_g$ , below which no separated crystals of this substance are formed in solutions under cooling, completely excluding the possibility of eutectic crystallization of these solutions [A.I. Osetsky, 2009];

– in the studied solutions there is observed a special crystallization type, resulting in new cluster phase formation [A.I. Osetsky, 2011], whereby below a certain characteristic temperature  $T_c$  the cryoprotective solutions should be considered as the three-phase systems ‘solution – ice crystals – cluster particles’;

– there is the concentration interval  $C_c \dots C_g$ , where only a cluster crystallization occurs and a special type of solution overcooling is observed, when the crystallization is virtually absent under cooling and proceeds just during following thawing right after amorphous fraction devitrification.

It was experimentally demonstrated, that depending on a kind of cryoprotective substance there were formed the cluster particles of two types, representing the ice nanocrystals, surrounding by crystalline (for example, DMSO solutions) or amorphous (glycerol ones, for instance) membranes from cryoprotectant molecules. This circumstance worsens the protective properties of cryoprotectants, forming the cluster particles of the second type. Their occurrence near devitrification temperature is accompanied by an increase in volume and results in a sharp pressure jump in devitrified liquid microphases. As a result, the bioobject injury occurs due to plastic relaxation of these tensions. This fact should be taken into account when selecting the optimal concentrations of cryoprotective substances, especially such as glycerol and PEO, forming cluster particles with amorphous superficial membranes.