

Ocena wpływu nanocząstek na aktywność membran biomimetycznych¹

Assessment of the impact of nanoparticles on the activity of biomimetic membrane

dr inż. DOROTA KONDEJ

<https://orcid.org/0000-0001-9033-1273>

e-mail: dokon@ciop.pl

Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy

Central Institute for Labour Protection – National Research Institute, Warsaw, Poland

Streszczenie

W artykule przedstawiono podstawowe informacje dotyczące budowy i funkcji błon biologicznych. Omówiono rodzaje membran biomimetycznych modelujących właściwości błon biologicznych. Opisano metodę badania właściwości powierzchniowych monowarstwy lipidowej stanowiącej podstawowy rodzaj membran biomimetycznych. Przedstawiono metodę umożliwiającą przeprowadzenie oceny wpływu nanocząstek na aktywność powierzchniową membran biomimetycznych opartą na wyznaczaniu wskaźnika powierzchni *MA*. Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa środowiska pracy będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

Słowa kluczowe: nanocząstki, ciśnienie powierzchniowe, membrana biomimetyczna, nauki o zdrowiu, inżynieria środowiska.

Abstract

This paper presents basic information on the structure and function of biological membranes. The types of biomimetic membranes modelling the properties of biological membranes were introduced. The method of testing surface properties of lipid monolayer, which is the basic type of biomimetic membranes, was described. The presented method makes it possible to evaluate the effect of nanoparticles on the surface activity of biomimetic membranes based on the determination of the surface index *MA*. This article discusses the problems of occupational safety and health, which are covered by health sciences and environmental engineering.

Keywords: nanoparticles, surface pressure, biomimetic membrane, health sciences, environmental engineering.

¹ Publikacja opracowana na podstawie wyników uzyskanych w ramach III etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2014-2016 w zakresie zadań służb państwowych ze środków Ministerstwa Pracy i Polityki Społecznej (Ministerstwa Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej).

Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

WPROWADZENIE

Błony biologiczne, inaczej biomembrany, stanowią jedną z podstawowych struktur budowy żywych organizmów. Należą do nich błony komórkowe, jak również błony organelli wewnętrznych. Błona komórkowa oddziela komórkę od środowiska, przez co zapewnia odrębność i integralność komórki. Jednocześnie odpowiada za wymianę masy i informacji pomiędzy komórką a jej otoczeniem (Chekman, Simonov 2012; Shibata i in. 2009).

Błony komórkowe pełnią trzy główne funkcje:

- pośredniczą w wymianie informacji ze środowiska do wnętrza komórki,
- kontrolują przemieszczanie się cząsteczek chemicznych do i z komórki,
- umożliwiają wzrost i podział komórki.

Badania składu chemicznego błon biologicznych wykazały, że ich głównymi składnikami są białka i związki lipidowe. W zależności od pełnionych przez błonę funkcji białka stanowią 20 ÷ 70%. Przykładowo w osłonce mielinowej białka to około 20% suchej masy, a w wewnętrznej błonie mitochondrialnej aż około 70% masy błony. Przeważającą część frakcji lipidowej błon stanowią fosfolipidy (Lin i in. 2008; Lopez-Rodriguez, Pérez-Gil 2014; Pérez-Gil 2008).

Ze względu na złożoność błon biologicznych koncepcje dotyczące struktury i funkcji błon

opierają się na odpowiednich modelach doświadczalnych. Można wyróżnić dwa rodzaje modelowych błon biologicznych (Hou i in. 2012; Kuczera 1983; Makyła, Paluch 2009):

- membrany biomimetyczne, które różnią się od błon biologicznych składem chemicznym i wymiarami, ale są podobne pod względem pewnych właściwości, np. syntetyczna błona jonowymienna,
- membrany biomimetyczne, które są zbudowane z substancji tworzących błony biologiczne i mogą mieć podobne cechy strukturalne. Błony takie umożliwiają badanie niektórych funkcji (np. transportu masy) i właściwości błon biologicznych (np. elektrycznych).

Spośród membran modelujących skład błon biologicznych najczęściej stosowana jest lipidowa błona monomolekularna (monowarstwa lipidowa) utworzona na powierzchni fazy ciekłej (Guzmán i in. 2015; Keating i in. 2012).

Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny pracy będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Badanie właściwości monowarstwy lipidowej

Badania właściwości monowarstwy lipidowej można prowadzić z wykorzystaniem wagi Langmuira-Wilhelmy'ego. W badaniach tych na powierzchnię fazy ciekłej nanoszony jest roztwór chloroformowy lipidu. Po odparowaniu rozpuszczalnika powstaje monowarstwa o grubości jednej cząsteczki lipidu, która jest następnie poddawana kompresji w stałej temperaturze z zadaną szybkością w celu wyznaczenia chwilowych wartości

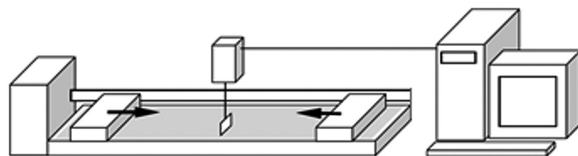
ciśnienia powierzchniowego π w zależności od pola powierzchni A przypadającego na jedną cząsteczkę lipidu:

$$\pi = f(A), \quad (1)$$

gdzie:

- π – ciśnienie powierzchniowe, (mN)/m,
- A – powierzchnia międzyfazowa przypadająca na jedną cząsteczkę lipidu, Å²/cząsteczkę.

Na rycinie 1. przedstawiono schemat wagi Langmuira-Wilhelmy'ego.



Ryc. 1. Schemat i zasada działania wagi Langmuira-Wilhelmy'ego (Kondej, Sosnowski 2013)

Fig. 1. Schematic and principle of operation of the Langmuir-Wilhelmy balance (Kondej, Sosnowski 2013)

Głównym elementem wagi Langmuira-Wilhelmy'ego jest płytkie prostopadłościenne naczynie (tzw. korytka Langmuira) wypełnione cieczą. Po powierzchni cieczy przesuwane są z zadaną prędkością dwie barierki, które powodują kompresję powierzchni zawartej między nimi. W równej odległości pomiędzy barierkami znajduje się płytka (tzw. płytka Wilhelmy'ego), która jest zanurzona w cieczy do około $\frac{1}{3}$ swojej wysokości i podwieszona na haczyku połączonym z elektronicznym czujnikiem siły. Przy użyciu tej płytki mierzy się chwilowe ciśnienie powierzchniowe. Ciśnienie powierzchniowe π określane jest jako:

$$\pi = \sigma_c - \sigma, \quad (2)$$

gdzie:

σ_c – wartość napięcia powierzchniowego cieczy (hipofazy) w temperaturze pomiaru,

σ – chwilowa wartość napięcia powierzchniowego w badanym układzie.

Zdolność warstwy powierzchniowej do zmiany wielkości pod wpływem dwuwymiarowego ściskania określa się pojęciem ściśliwości. Ściśliwość powierzchni można wyznaczyć równaniem:

$$\kappa = -\left(\frac{1}{A}\right)\left(\frac{dA}{d\pi}\right)_T, \quad (3)$$

gdzie:

κ – ściśliwość powierzchni ciecz-gaz, m/N,

π – ciśnienie powierzchniowe, (mN)/m,

A – pole powierzchni międzyfazowej przypadającej na jedną cząsteczkę lipidu, $\text{\AA}^2/\text{cząsteczkę}$.

Procedurę prowadzenia badań z wykorzystaniem wagi Langmuira-Wilhelmy'ego przedstawiono w załączniku.

Stany organizacji cząsteczek monowarstwy

Naniesienie na powierzchnię cieczy rozcieńczonego roztworu chloroformowego lipidu powoduje powstanie stanu gazowego (G), w którym odległości między cząsteczkami są duże, a oddziaływania między nimi nieznaczne. Cząsteczki mają dużą swobodę ruchu i poruszają się ruchem chaotycznym (termicznym).

Podczas prowadzenia kompresji monowarstwy powierzchnia przypadająca na jedną cząsteczkę lipidu się zmniejsza. Cząsteczki znajdują się bliżej siebie, zaczynają oddziaływać ze sobą i od pewnej wartości wielkości powierzchni

następuje wzrost wartości ciśnienia powierzchniowego. Monowarstwa znajduje się wówczas w stanie ciekłym. W tej fazie można wyróżnić trzy stany warstwy monomolekularnej (Zasadzinski i in. 2001):

- stan cieczy rozprężonej (LE), w którym cząsteczki lipidu nie są zorientowane prostopadle do powierzchni, choć wzajemne oddziaływania w obrębie części hydrofobowej są na tyle silne, że cząsteczki mogą przyjmować orientację bliższą pionowej,
- stan przejściowy (I), który odpowiada przejściu fazowemu ze stanu cieczy rozprężonej (LE) do stanu cieczy skondensowanej (LC) i występuje w obrębie charakterystycznego plateau na wykresie izotermi kompresji,
- stan cieczy skondensowanej (LC), w którym ułożenie cząsteczek lipidu jest niemal prostopadle do powierzchni cieczy, odległości między łańcuchami węglowymi są bardzo małe, a siły przyciągania znaczne.

Dalsza kompresja monowarstwy powoduje osiągnięcie stanu zwanego załamaniem monowarstwy (C). W momencie załamania monowarstwy traci ciągłość wskutek zmniejszania powierzchni międzyfazowej do wielkości niewystarczającej do pomieszczenia na niej wszystkich cząsteczek lipidu. Pewna liczba cząsteczek jest wówczas usuwana z powierzchni w wyniku wtlaczania pod lub nad powierzchnię międzyfazową.

Badanie wpływu nanocząstek na właściwości monowarstwy lipidowej

Analiza przebiegu izoterm kompresji $\pi = f(A)$ i krzywych ściśliwości $\kappa = f(\pi)$ monowarstwy lipidowej utworzonej na powierzchni czystej fazy ciekłej – tj. bez dodatku badanych nanocząstek – oraz izoterm kompresji i krzywych ściśliwości monowarstwy lipidowej utworzonej na powierzchni zawieszin o różnych stężeniach nanocząstek umożliwia określenie stanu organizacji cząsteczek lipidu na powierzchni międzyfazowej w różnych warunkach pomiarowych.

Na rycinie 2. przedstawiono przykładową izotermę kompresji monowarstwy lipidowej utworzonej na powierzchni czystej fazy ciekłej, do której nie wprowadzono nanocząstek. Izoterma kompresji ma charakterystyczny kształt opisywany w piśmiennictwie przedmiotu (m.in. Guzmán

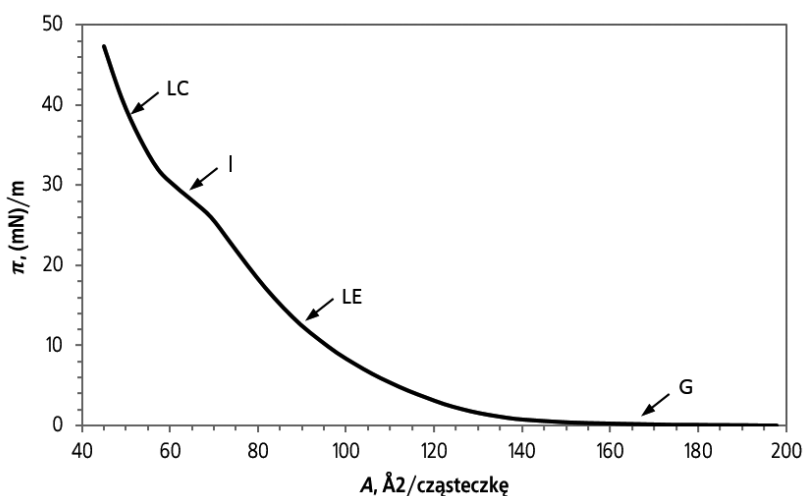
i in. 2012; Zhang i in. 2011). W jej przebiegu można wyróżnić obszary, które charakteryzują się różną organizacją cząsteczek lipidu w monowarstwie: stan gazowy (G), stan cieczy rozprężonej (LE), stan przejściowy (I) oraz stan cieczy skondensowanej (LC). Na krzywej wyraźnie zarysowany jest obszar plateau, który odpowiada położeniu stanu przejściowego (I), będącego stanem koegzystencji faz LE i LC.

Przejście ze stanu gazowego (G) w stan cieczy rozprężonej (LE) ma miejsce przy powierzchni około 155 \AA^2 przypadającej na jedną cząsteczkę lipidu. Stan przejściowy (I) występuje w zakresie pola powierzchni cząsteczkowej $\sim 75 \div \sim 60 \text{ \AA}^2$. Poniżej wielkości powierzchni wynoszącej około $60 \text{ \AA}^2/\text{cząsteczkę}$ rozpoczyna się kondensacja po-

wierzchni, a więc przejście do fazy cieczy skondensowanej (LC).

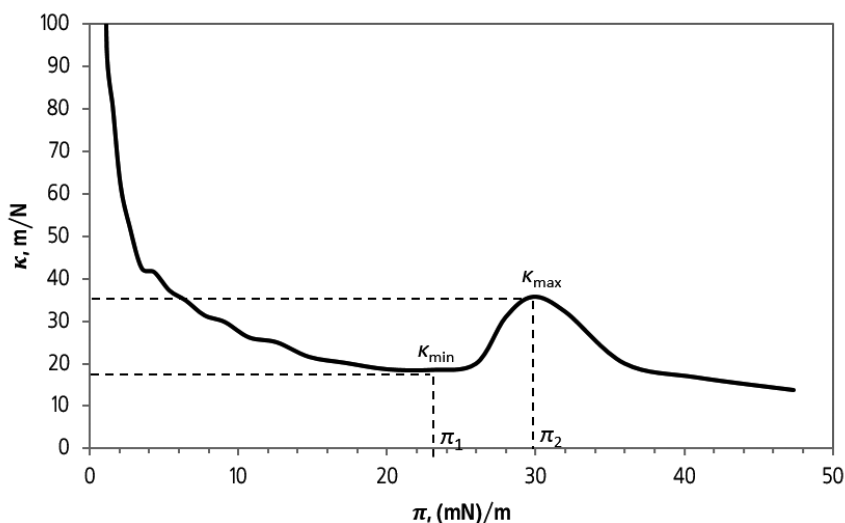
Zlokalizowanie położenia stanu przejściowego (I) umożliwia analiza przebiegu krzywej ściśliwości monowarstwy lipidowej (ryc. 3.).

Początek występowania obszaru stanu przejściowego (I) jest określony na krzywej ściśliwości przez położenie lokalnego minimum κ_{\min} , które występuje przy ciśnieniu powierzchniowym wynoszącym około $22,9 \text{ (mN)/m}$. Środek obszaru stanu przejściowego (I) jest zdefiniowany przez położenie lokalnego maksimum ściśliwości κ_{\max} , które występuje przy ciśnieniu powierzchniowym wynoszącym około $29,5 \text{ (mN)/m}$.



Ryc. 2. Izoterma kompresji monowarstwy lipidowej utworzonej na powierzchni czystej fazy ciekłej. Stany organizacji cząsteczek w monowarstwie: stan gazowy (G), stan cieczy rozprężonej (LE), stan przejściowy (I) oraz stan cieczy skondensowanej (LC)

Fig. 2. Compression isotherm of a lipid monolayer formed on the surface of a pure liquid phase. States of organization of molecules in the monolayer: gaseous (G), liquid expanded (LE), intermediate (I) and liquid condensed (LC)



Ryc. 3. Krzywa ściśliwości monowarstwy lipidowej utworzonej na powierzchni czystej fazy ciekłej

Fig. 3. Compressibility of a lipid monolayer formed on the surface of a pure liquid phase

Ocena wpływu nanocząstek na aktywność powierzchniową membrany biomimetycznej

Ocenę wpływu nanocząstek na aktywność powierzchniową biomimetycznej membrany lipidowej umożliwia analiza wartości wskaźnika powierzchni MA wyznaczonego przy ciśnieniu powierzchniowym wynoszącym $32,5 \text{ mN/m}$. Według doniesień literaturowych przy tym ciśnieniu upakowanie lipidów w monowarstwie jest porównywalne z tym, które występuje w naturalnych błonach komórkowych (Terzi i in. 1997; Wojciechowski i in. 2014). Wartość wskaźnika powierzchni MA oznacza powierzchnię przypadającą na jedną cząsteczkę lipidu, przy której zgodnie z zależnością (2)

$$\pi = \sigma_c - \sigma,$$

gdzie:

σ_c – wartość napięcia powierzchniowego fazy ciekłej w temperaturze pomiaru,

σ – aktualna wartość napięcia powierzchniowego w badanym układzie,

następuje redukcja początkowego napięcia powierzchniowego o $32,5 \text{ (mN)/m}$.

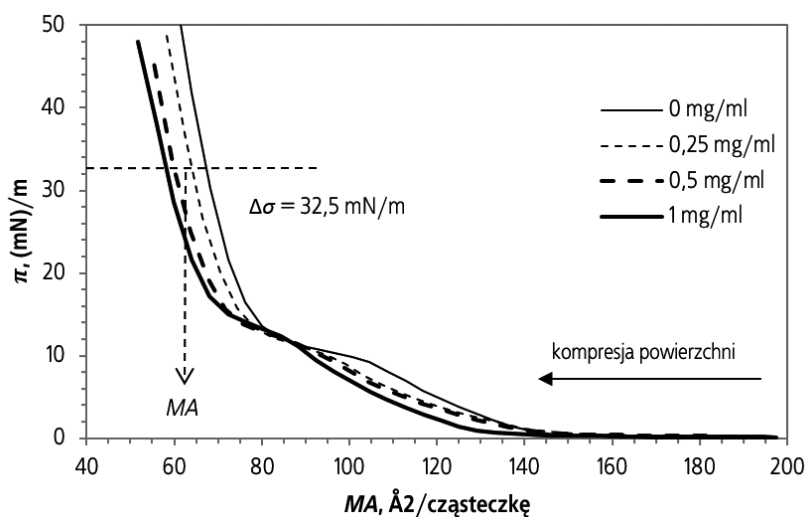
Na rycinie 4. przedstawiono graficzną interpretację wskaźnika powierzchni MA .

Wyższa wartość wskaźnika MA oznacza, że zadana redukcję napięcia powierzchniowego uzyskuje się przy mniejszej kompresji powierzchni mono-

warstwy. Taki stan świadczy o wyższej aktywności powierzchniowej badanego układu. Przykładowo, wartości wskaźnika powierzchni MA odczytane na rycinie 4. na podstawie przebiegu izoterm kompresji wyznaczonych w warunkach kontrolnych (bez udziału nanocząstek) oraz przy stężeniach nanocząstek wynoszących: $0,25$; $0,5$ i 1 mg/ml , wskazują na utratę aktywności powierzchniowej monowarstwy w obecności badanych nanocząstek. Efekt ten jest silniejszy przy większych stężeniach nanocząstek w fazie ciekłej.

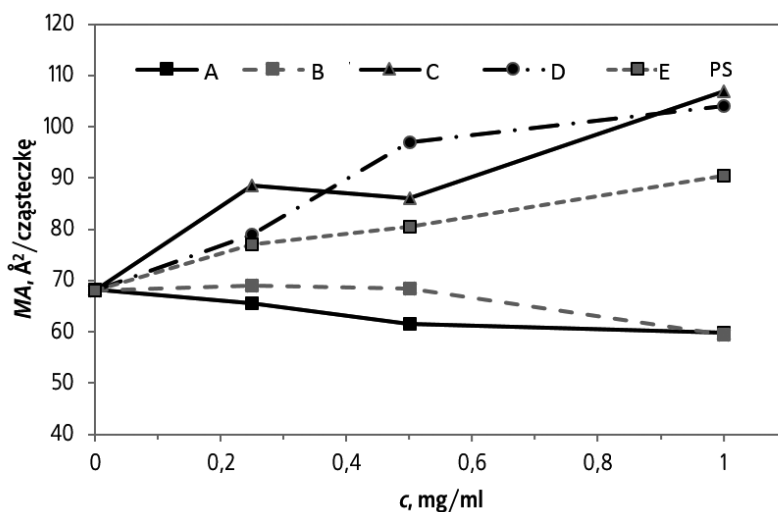
Na rycinie 5. przedstawiono zależność wskaźnika MA od stężenia c nanocząstek A, B, C, D i E.

W przypadku nanocząstek A i B wskaźniki powierzchni MA przyjmują wartości zbliżone do lub niższe od wartości uzyskanych dla układu odniesienia nie zawierającego badanych nanocząstek (tj. przy stężeniu $c = 0$). W celu uzyskania założonej zmiany napięcia powierzchniowego konieczna jest zatem większa kompresja powierzchni. Obecność nanocząstek A i B powoduje osłabienie aktywności powierzchniowej monowarstwy lipidowej w przedstawionym zakresie stężeń. W przypadku obecności w układzie nanocząstek C, D i E wskaźnik MA przyjmuje wartości wyższe w stosunku do wartości wyznaczonej przy braku nanocząstek, co świadczy o zwiększeniu aktywności powierzchniowej monowarstwy. Taki stan może być spowodowany np. uwalnianiem związków modyfikujących z powierzchni wprowadzonych nanocząstek



Ryc. 4. Wyznaczanie wskaźnika powierzchni MA na podstawie położenia izoterm kompresji wyznaczonych przy różnych stężeniach nanocząstek w fazie ciekłej: 0 ; $0,25$; $0,5$ i 1 mg/ml

Fig. 4. Determination of surface index MA from the location of compression isotherms determined at different concentrations of nanoparticles in the liquid phase: 0 , 0.25 , 0.5 and 1 mg/ml



Ryc. 5. Zależność wskaźnika powierzchni MA od rodzaju i stężenia c nanocząstek A, B, C, D i E
Fig. 5. Dependence of surface index MA on type and concentration c of nanoparticles A, B, C, D, and E

i zwiększeniem stężenia związków o charakterze powierzchniowo czynnym na powierzchni międzyfazowej. W efekcie redukcja napięcia

powierzchniowego może mieć miejsce już przy niższym stopniu kompresji monowarstwy.

PODSUMOWANIE

Ze względu na dużą złożoność strukturalną, fazową i dynamiczną błon biologicznych eksperymentalne badania ich właściwości prowadzi się w układach modelowych, stosując membrany biomimetyczne. Jednym z podstawowych typów takiej membrany jest monowarstwa lipidowa utworzona na powierzchni fazy ciekłej. W przypadku prowadzenia badań nad wpływem nanocząstek

na aktywność membran biomimetycznych fazę ciekłą stanowi zawiesina badanych nanocząstek. Porównanie parametrów monowarstwy wyznaczonych w obecności badanych nanocząstek z parametrami określonymi bez ich udziału umożliwia przeprowadzenie oceny wpływu nanocząstek na aktywność powierzchniową membran biomimetycznych.

PIŚMIENNICTWO

Chekman I.S., Simonov P.V. (2012). Structure and function of biological membranes: the impact of nanoparticles. *Int. J. Phys. Pathophys.* 3(2), 187–208.

Guzmán E., Liggieri L., Santini E., Ferrari M., Ravera F. (2012). Influence of silica nanoparticles on phase behavior and structural properties of DPPC: palmitic acid Langmuir monolayers. *Colloid. Surface. A* 413, 280–287.

Guzmán E., Santini E., Zabiegaj D., Ferrari M., Liggieri L., Ravera F. (2015). Interaction of carbon black particles and dipalmitoylphosphatidylcholine at the water/air interface: thermodynamics and rheology. *J. Phys. Chem. C* 119(48), 26937–26947.

Hou W.-C., Moghadam B.Y., Corredor C., Westerhoff P., Posner J.D. (2012). Distribution of functionalized gold nanoparticles

between water and lipid bilayers as model cell membranes. *Environ. Sci. Technol.* 46(3), 1869–1876.

Keating E., Zuo Y.Y., Tadayyon S.M., Petersen N.O., Possmaier F., Veldhuizen R.A.W. (2012). A modified squeeze-out mechanism for generating high surface pressure with pulmonary surfactant. *BBA – Biomembranes* 1818, 1225–1234.

Kondej D., Sosnowski T.R. (2013). Metoda badania wpływu nanocząstek na właściwości powierzchniowe monowarstwy głównego składnika surfaktantu płucnego (DPPC) w układzie wagi Langmuira-Wilhelmy'ego [A method for testing the impact of nanoparticles on the surface properties of monolayer of a pulmonary surfactant major component (DPPC) in a Langmuir-Wilhelmy balance system]. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy* 2(76), 143–153.

- Kuczera J. (1983). Wpływ amfifilowych detergentów na błony liposomów. *Zagadnienia Biofizyki Współczesnej* 8, 53–101.
- Lin W., Stayton I., Huang Y., Zhou X.-D., Ma Y. (2008). Cytotoxicity and cell membrane depolarization induced by aluminum oxide nanoparticles in human lung epithelial cells A549. *Toxicol. Environ. Chem.* 90(5–6), 983–996.
- Lopez-Rodriguez E., Pérez-Gil J. (2014). Structure-function relationships in pulmonary surfactant membranes: from biophysics to therapy. *BBA – Biomembranes* 1838(6), 1568–1585.
- Makyla K., Paluch M. (2009). The linoleic acid influence on molecular interactions in the model of biological membrane. *Colloid. Surface. B* 71(1), 59–66.
- Pérez-Gil J. (2008). Structure of pulmonary surfactant membranes and films: the role of proteins and lipid–protein interactions. *BBA-Biomembranes* 1778(7–8), 1676–1695.
- Shibata Y., Hu J., Kozlov M.M., Rapoport T.A. (2009). Mechanisms shaping the membranes of cellular organelles. *Annu. Rev. Cell Develop. Bi.* 25, 329–354.
- Terzi E., Hölzemann G., Seelig J. (1997). Interaction of Alzheimer β -amyloid peptide (1-40) with lipid membranes. *Biochemistry* 36(48), 14845–14852.
- Wojciechowski K., Orczyk M., Gutberlet T., Trapp M., Marcinkowski K., Kobiela T., Geue T. (2014). Unusual penetration of phospholipid mono- and bilayers by Quillaja bark saponin biosurfactant. *BBA – Biomembranes* 1838(7), 1931–1940.
- Zasadzinski J.A., Ding J., Warriner H.E., Bringezu F., Waring A.J. (2001). The physics and physiology of lung surfactants. *Curr. Opin. Colloid In.* 6(5), 506–513.
- Zhang H., Fan Q., Wang Y.E., Neal C.R., Zuo Y.Y. (2011). Comparative study of clinical pulmonary surfactants using atomic force microscopy. *BBA – Biomembranes*, 1808(7), 1832–1842.

PROCEDURA BADANIA WPŁYWU NANOCZĄSTEK NA WŁAŚCIWOŚCI POWIERZCHNIOWE MONOWARSTWY LIPIDOWEJ

1. Zakres stosowania metody

Metodę podaną w niniejszej procedurze stosuje się do badania wpływu stosowanych na stanowiskach pracy nanocząstek na zmianę właściwości powierzchniowych monowarstwy lipidowej stanowiącej podstawowy rodzaj membran biomimetycznych. Badanie przeprowadza się w układzie wagi Langmuira-Wilhelmy'ego.

2. Zasada metody

Naniesienie roztworu chloroformowego lipidu na powierzchnię fazy ciekłej i odparowanie rozpuszczalnika powoduje utworzenie na powierzchni fazy ciekłej monowarstwy lipidowej. Powstała w ten sposób monowarstwę (tj. warstwę o grubości jednej cząsteczki lipidu) poddaje się kompresji w stałej temperaturze z zadaną szybkością w celu wyznaczenia chwilowych wartości ciśnienia powierzchniowego. Analiza przebiegu izotermi kompresji monowarstwy lipidowej utworzonej na powierzchni czystej fazy ciekłej – tj. bez dodatku badanych nanocząstek – oraz izotermi kompresji monowarstwy lipidowej utworzonej na powierzchni zawiesin o różnych stężeniach nanocząstek umożliwia ocenę wpływu nanocząstek na właściwości powierzchniowe monowarstwy lipidowej.

3. Materiały, roztwory i zawiesiny

3.1. Preparat lipidowy

Stosować np. L- α -dipalmitylofosfatydylocholinę o czystości 99% i masie molowej 734,1 g/mol.

3.2. Chloroform

Stosować chloroform o stopniu czystości cz.d.a.

3.3. Roztwór chlorku sodu

Stosować roztwór chlorku sodu o stężeniu 9 mg/ml.

3.4. Etanol

Stosować alkohol etylowy 96-procentowy o stopniu czystości cz.d.a.

3.5. Roztwór lipidu

W badaniach stosować chloroformowy roztwór lipidu o stężeniu 1 mg/ml. Do kolby miarowej o pojemności 10 ml odważyć 10 mg preparatu lipidowego, uzupełnić chloroformem cz.d.a. do kreski i wymieszać. Zawartość kolby przenieść do naczynka szklanego zamykanego nakrętką z uszczelnką silikonową. Nakrętka powinna być wyposażona w zawór umożliwiający pobieranie roztworu bez jej odkręcania. Naczynko z roztworem lipidu umieścić w lodówce w temperaturze $2 \div 8$ °C.

3.6. Zawiesiny nanocząstek

Stosować zawiesiny nanocząstek o stężeniach: 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 i 1 mg/ml. W celu sporządzenia odpowiedniej zawiesiny odmierzyć za pomocą cylindra miarowego 500 ml roztworu chlorku sodu (wg punktu 3.3.) i przenieść do kolby stożkowej z zamknięciem. Następnie odważyć odpowiednio: 50, 125, 250, 375 i 500 mg nanoproszku i przenieść do kolby z roztworem chlorku sodu. Zamkniętą kolbę wstawić do komory płuczki ultradźwiękowej i poddać jej zawartość sonikacji przy 4,8 kJ/ml w celu rozbicia aglomeratów.

4. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

4.1. Waga laboratoryjna

Stosować wagę laboratoryjną umożliwiającą ważenie z dokładnością 0,1 mg/ml.

4.2. Płuczka ultradźwiękowa

Stosować płuczki ultradźwiękową umożliwiającą sonikację przy 4,8 kJ/ml.

4.3. Pompka wodna

Stosować pompkę wodną zakończoną mikrossawką umożliwiającą odsysanie zanieczyszczeń z powierzchni fazy ciekłej oraz pozostałości cieczy z powierzchni korytka.

4.4. Palnik gazowy

Stosować palnik gazowy umożliwiający wypalenie płytki Wilhelmy'ego.

4.5. Waga Wilhelmy'ego-Langmuira

Stosować wagę Wilhelmy'ego-Langmuira umożliwiającą termostatowanie próbki w temperaturze 37 °C i kompresję monowarstwy lipidowej na powierzchni fazy ciekłej przy zadanej szybkości deformacji powierzchni w zakresie $0,625 \div 2,5 \text{ cm}^2/\text{s}$.

5. Przygotowanie układu wagi Langmuira-Wilhelmy'ego

Co najmniej 0,5 h przed planowanymi badaniami uruchomić łaźnię wodną i ustawić temperaturę termostatu na 37 °C. Przed przystąpieniem do pomiaru korytka oraz barierek urządzenia dokładnie przemyć etanolem. Pozostałości etanolu zebrać z powierzchni korytka za pomocą mikrossawki podłączonej do pompki wodnej, a następnie opłukać czystą wodą w celu zapewnienia czystości układu, niezbędnej do prawidłowego przeprowadzenia doświadczeń. Płytkę Wilhelmy'ego wyjąć pęsetą z naczynia z etanolem, opalić w płomieniu palnika gazowego i przemyć wodą. Następnie podwiesić na haczyku połączonym z czujnikiem siły tak, aby znajdowała się w centralnej części korytka i była zanurzona w cieczy do około $\frac{1}{3}$ swojej wysokości. Wszystkie czynności związane z obsługą wagi Langmuira-Wilhelmy'ego wykonywać w rękawicach jednorazowych.

6. Przeprowadzenie pomiarów

Napełnić korytka wagi Langmuira-Wilhelmy'ego roztworem tak, aby powierzchnia menisku cieczy znajdowała się około 1 mm powyżej powierzchni brzegu korytka. Po upływie około 20 min uruchomić przesuwanie w stronę płytki barierek, które zetrą zanieczyszczenia z powierzchni cieczy. Następnie odessać te zanieczyszczenia za pomocą mikrossawki podłączonej do pompki wodnej. Utworzyć monowarstwę lipidową na powierzchni fazy ciekłej przez ostrożne naniesienie strzykawką Hamiltona 15 μl chloroformowego roztworu lipidu (wg punktu 3.5.) na powierzchnię fazy ciekłej. Nie zanurzać igły pod powierzchnię cieczy. Krople roztworu lipidu umieszczać równomiernie w pobliżu płytki Wilhelmy'ego. Krople dozować z małej wysokości, aby nie spowodować ich zatopienia w fazie ciekłej. Układ pozostawić na 20 min do odparowania chloroformu. Po tym czasie uruchomić prze-

suw barierek zadaną szybkością, rozpoczynając w ten sposób kompresję powierzchni monowarstwy i pomiar ciśnienia powierzchniowego. Rejestrować wartości ciśnienia powierzchniowego π [(mN)/m] w funkcji powierzchni międzyfazowej A [$\text{\AA}^2/\text{cząsteczkę}$]. Pomiary wykonać dla trzech próbek czystej fazy ciekłej stanowiącej układ odniesienia.

W celu określenia wpływu badanych nanocząstek na właściwości powierzchniowe monowarstwy lipidowej, korytka wagi napełnić w podany wyżej sposób dokładnie wymieszaną zawiesiną nanocząstek (wg punktu 3.6.). Następnie na powierzchni zawiesiny wytworzyć monowarstwę. Pomiary przeprowadzić dla trzech próbek zawiesiny o danym stężeniu nanocząstek.

7. Obliczanie wyników pomiarów

Wyznaczyć przebieg izotermy kompresji określony jako

$$\pi = f(A),$$

gdzie:

π – ciśnienie powierzchniowe, (mN)/m

A – powierzchnia międzyfazowa w \AA^2 przypadająca na jedną cząsteczkę lipidu, $\text{\AA}^2/\text{cząsteczkę}$.

Następnie na podstawie przebiegu krzywej izotermy kompresji wyznaczyć zależność $\kappa(\pi)$:

$$\kappa = -\left(\frac{1}{A}\right)\left(\frac{dA}{d\pi}\right)_T, \quad (3)$$

gdzie:

κ – ściśliwość powierzchni ciec-z-gaz, m/N.

Dla każdej izotermy kompresji wyznaczyć minimalną wartość ściśliwości powierzchni κ_{\min} [m/N], uzyskaną podczas kompresji monowarstwy lipidowej, na podstawie wzoru:

$$\kappa_{\min} = \min\{\kappa(\pi)\}$$

Średnią wartość minimalnej ściśliwości powierzchni dla każdego układu obliczyć jako średnią arytmetyczną z trzech wartości minimalnej ściśliwości powierzchni uzyskanych w poszczególnych pomiarach.

Ponadto dla każdej izotermy kompresji wyznaczyć maksymalną wartość ściśliwości powierzchni κ_{\max} [m/N] na podstawie wzoru:

$$\kappa_{\max} = \max\{\kappa(\pi)\}.$$

Średnią wartość maksymalnej ściśliwości powierzchni dla każdego układu obliczyć jako średnią arytmetyczną z trzech wartości maksymalnej ściśliwości powierzchni uzyskanych w poszczególnych pomiarach.

Adres do korespondencji/Contact details:

dr inż. DOROTA KONDEJ
e-mail: dokon@ciop.pl
Centralny Instytut Ochrony Pracy –
Państwowy Instytut Badawczy
00-701 Warszawa, ul. Czerniakowska 16
POLAND