

11. *Агравал П.Г.* Автореф. дис. ... канд. хим. наук. - Киев, 2004.
12. *Thiedermann U., Rosner-Kuhn M., Drewes K. et al.* // J. Non-Crystalline Solids. -1999. -**250-252**. -P. 329—335.
13. *Guo Qiti, Kleppa O.J.* // J. Alloys Comp. -1998. -**269**, № 1-2. -P. 181—186.
14. *Сидоров О.Ю., Есин Ю.О., Гельд П.В.* // Расплавы. -1988. -№ 3. -С. 9—11.
15. *Arpshofen I., Luck R., Predel B., Smith J.F.* // J. Phase Equilibria. -1991. -**12**, № 2. -P. 141—147.
16. *Witusiewicz V.T., Sommer F.* // Metal. Trans. B. -2000. -**31**, № 4. -P. 277—284.
17. *Rosher-Kuhn M., Qin J., Schaefer K. et al.* // Int. J. Thermophysics. -1996. -**17**, № 4. -P. 959—966.
18. *Зайцев А.И., Зайцева Н.Е.* // Журн. неорган. химии. -2003. -**48**, № 2. -С. 313—319.
19. *Gachon J.C., Hertz J.* // CALPHAD. -1983. -**7**, № 1. -P. 1—12.
20. *Henaff M.P., Colinet C., Pasturel A.* // J. Appl. Phys. -1984. -**56**, № 2. -P. 307—310.
21. *Spit F.H.M., Drijver J.W., Radelaar S.* // Scripta Metallurgica. -1980. -**14**, № 10. -P. 1071—1076.
22. *Selhaoui N., Gachon J.-C., Hertz J.* // Metal. Trans. -1992. -**23B**, № 12. -P. 815—819.
23. *Судавацова В.С., Шаркина Н.О.* // Неорган. материалы. -1998. -**34**, № 12. -С. 1459, 1460.
24. *Bencze L., Hilpert K.* // Metall. Trans. -1996. -**27A**. -P. 3576—3589.
25. *Topor L., Kleppa O.J.* // High. Temp. Sci. -1988. -**25**, № 3. -P. 163—174.
26. *German R.M., Pierre G.R.St.* // Metal. Trans. -1972. -**3**, № 11. -P. 2819—2823.
27. *Зайцев А.И., Зайцева Н.Е.* // Журн. физ. химии. -2003. -**77**, № 12. -С. 2126—2139.

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, Київ

Надійшла 12.02.2007

УДК 541.183

Т.В. Крупская, В.М. Гунько, В.Н. Барвинченко, В.В. Туров, О.В. Шульга

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КРЕМНЕЗЕМА С КЛЕТОЧНОЙ ПОВЕРХНОСТЬЮ ДРОЖЖЕЙ И СОСТОЯНИЕ МЕЖФАЗНОЙ ВОДЫ В ЗОНЕ ИХ КОНТАКТА

Методами ^1H ЯМР спектроскопии, атомной силовой микроскопии, термогравиметрии исследовано взаимодействие поверхности частиц кремнезема с клеточной поверхностью дрожжей. Определено влияние межфазной границы дрожжевые клетки—частицы ВДК на формирование слоев связанной воды в условиях низкой гидратированности системы и установлены соответствующие структурные характеристики на основе уравнения Гиббса–Томсона.

Вопрос о влиянии наночастиц высокодисперсного кремнезема (ВДК) на процессы жизнедеятельности клеточных культур неоднократно обсуждался в литературе [1—6]. Исследования показали, что в широком концентрационном диапазоне ВДК может способствовать увеличению скорости накопления биомассы [5, 6]. В случае взаимодействия ВДК с репродуктивными клетками наблюдается изменение параметров их движения, свидетельствующее об активизации жизненных процессов [4]. Взаимодействие клеток с ВДК (особенно при больших его концентрациях) может приводить к их инактивации. Например, многие наноматериалы, в том числе и ВДК, обладают высокой гемолитической активностью [7]. Ингибирующее действие твердых наночастиц может быть обусловлено необратимой адсорбцией с участием гликокаликса и интегральных белков поверхности клеток [8]. Специфически взаимодействуя с мембранными белко-

выми молекулами, частицы ВДК при определенных условиях могут нарушить систему клеточных рецепторов и целостность мембраны, тем самым изменяя клеточный гомеостаз или полностью инактивируя клетки. Механизм стимулирующего действия наночастиц на клетки может быть весьма сложным и менее понятным. Положительное влияние может обуславливаться несколькими факторами: 1) адсорбция на наночастицах токсинов и метаболитов, ингибирующих жизнедеятельность клеток; 2) увеличение скорости переноса питательных веществ в клетки [1]; 3) увеличение скорости удаления продуктов, выделяющихся из клеток; 4) изменение состояния среды. Все эти факторы в той или иной степени предполагают стимуляцию массопереноса в зоне контакта клетка/частица. Появление вблизи клеточной поверхности большого количества наночастиц может приводить к локальному изменению вязкости среды (например, вследствие адсорбции орга-

© Т.В. Крупская, В.М. Гунько, В.Н. Барвинченко, В.В. Туров, О.В. Шульга, 2008

нических соединений), а, следовательно, к изменению параметров диффузионных процессов. Ускорение массопереноса может быть обусловлено формированием на границе клеток и твердых частиц межфазных слоев воды, проницаемость которых для веществ разной химической природы повышается в виду изменения структуры самой воды. Ранее [9—11], при изучении гидратированных порошков исходного и модифицированного кремнезема в среде слабополярных органических растворителей было обнаружено, что значительная часть межфазной воды может переходить в так называемое слабоассоциированное состояние, характеризующееся малым числом водородных связей, которое каждая молекулы воды образует со своими соседями. Большое количество слабоассоциированной (кластеризованной) воды обнаружено также в частично дегидратированных дрожжевых клетках [12] и в костях, где общее количество такой воды может достигать 20 % общей массы ткани [13]. Следует отметить, что слабоассоциированная вода может появляться только в наноразмерных полостях, ограниченных стенками с определенными гидрофобно-гидрофильными свойствами или в присутствии слабополярных органических молекул (слабополярных фрагментов макромолекул). В соответствии с предположением, высказанным в [9, 10], если в зоне контакта клеток с наночастицами появляется большое количество слабоассоциированной воды, то такие слои могут быть одинаково проницаемы как для воды, так и для слабополярных органических веществ, что может быть одним из факторов, ответственных за биологическую активность высокодисперсных материалов.

Для исследования характеристик межфазных слоев воды был разработан метод послойного вымораживания жидкой фазы с ^1H ЯМР регистрацией сигнала незамерзшей воды [14—16]. С помощью этого метода термодинамические характеристики межфазных слоев воды могут быть определены по изменению температуры их замерзания. Применение уравнения Гиббса–Томсона [17], которое связывает температуру замерзания воды (или иной жидкости) с размерами пор, в которых она адсорбирована, и параметрами взаимодействия жидкости с твердым телом, позволяет рассчитать размер полостей, заполненных водой и находящихся внутри биологических объектов, или зазоров между наночастицами. В то же время по величине химического сдвига соответствующей фракции воды можно судить о степени ее ассоциированности [16].

Цель настоящей работы — определение влияния межфазной границы дрожжевые клетки—час-

тицы ВДК на формирование слоев связанной воды в условиях низкой гидратированности и определение соответствующих структурных характеристик системы на основе уравнения Гиббса–Томсона.

В качестве твердой фазы использовали пирогенный ВДК А-300 (ГОСТ 1422-77) (производства Калужского опытно-экспериментального завода Института химии поверхности НАН Украины) с удельной поверхностью около $300 \text{ м}^2/\text{г}$, средним размером первичных частиц около 9 нм и размерами агрегатов первичных частиц — 50–1000 нм и агломератов агрегатов — более 1 мкм.

В исследованиях использовали хлебопекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Дрожжи культивировали в питательной среде (8 %-й раствор глюкозы) при температуре 20°C . При анализе их роста подсчитывали количество клеток и измеряли параметры [18], зависящие от числа клеток: мутность раствора и выделение углекислого газа. Кинетические константы рассчитывали по методике, подробно описанной ранее [18, 19].

Спектры ЯМР записывали на спектрометрах высокого разрешения Bruker WP-100 SY (Германия) и Varian 400 Mercury (США). Для получения ^1H ЯМР спектров использовался 90° -й зондирующий импульс. Температуру образца регулировали с помощью термодетектора Bruker VT-1000. Погрешность измерений составляла $\pm 10\%$ по интенсивности ^1H ЯМР сигнала и $\pm 1 \text{ K}$ — по температуре. Для предотвращения переохлаждения изучаемых систем концентрацию незамерзающей воды измеряли после предварительного охлаждения образца до 190–200 К [9, 10, 14]. Сигнал от молекул воды, входящих в состав льда (также, как и протонов макромолекул), не давал вклада в регистрируемый ^1H ЯМР сигнал подвижной воды вследствие малых времен ($\sim 10^{-6} \text{ с}$) поперечной релаксации протонов в твердых телах.

Измерение химических сдвигов протонов внутриклеточной воды проводили на воздухе (с использованием внешнего стандарта CHCl_3 , $\delta_{\text{H}}=7.26 \text{ м.д.}$) или в среде CDCl_3 . В хлороформе растворяется относительно небольшое количество воды ($<0.6\%$ мас. при $T < 295 \text{ K}$). Поэтому можно полагать, что вода, растворенная в хлороформе, не вносит существенного вклада в общий сигнал ^1H ЯМР. Следует отметить, что использование CDCl_3 позволяет более точно определять химический сдвиг протонного резонанса (δ_{H}) связанной воды, устранить неоднородное уширение сигнала ЯМР и замедлить молекулярный обмен между кластерами воды, связанными с разными активными центрами [9—14].

Замерзание внутриклеточной воды или воды

на межфазной границе твердое тело/жидкость происходит при равенстве свободных энергий Гиббса этой воды и льда. Понижение температуры замерзания структурированной воды ($T_f < 273.15$ К) обусловлено уменьшением свободной энергии Гиббса вследствие действия поверхности ($\Delta G = G - G_0 < 0$, где G_0 — свободная энергия льда при 273.15 К), которое приводит к возмущениям сетки водородных связей граничной воды. Изменение свободной энергии Гиббса льда с температурой описывает соотношение:

$$\Delta G_{ice} = -0.036 \cdot (273.15 - T). \quad (1)$$

Для граничной воды $T_f < 273.15$ К, поскольку ее свободная энергия Гиббса ниже, чем для объемной воды или объемного льда:

$$G_w^i < G_{ice}. \quad (2)$$

Дальнейшее понижение температуры смещает это неравенство к точке T_c , в которой замерзает некоторая фракция связанной воды:

$$\Delta G_w = \Delta G_{ice}, \quad (3)$$

где

$$\Delta G_w^i = G_w^i(T) - G_w^0 \quad (4)$$

(G_w^0 соответствует свободной энергии Гиббса невозмущенной объемной воды при 273.15 К, а индекс i показывает, что величина относится к межфазной границе) и

$$\Delta G_{ice} = G_{ice}(T) - G_{ice}^0, \quad (5)$$

G_{ice}^0 — свободная энергия Гиббса льда при 273.15 К.

В первом приближении можно предположить, что ΔG_{ice} не зависит от присутствия твердой поверхности. Таким образом, можно определить температурную зависимость концентрации незамерзшей граничной воды $C_{uw}(T)$. Температурные зависимости $\Delta G(T)$ и $C_{uw}(T)$ легко могут быть преобразованы в соотношение между ΔG и C_{uw} . Площадь, ограниченная кривой $\Delta G(C_{uw})$, определяет суммарное изменение свободной энергии Гиббса для внутриклеточной или межфазной воды:

$$\gamma_s = K \int_0^{C_{uw}^{\max}} \Delta G dC_{uw}, \quad (6)$$

где C_{uw}^{\max} — общее количество незамерзающей воды при $T \rightarrow 273$ К, а K — константа, зависящая от размерности используемых в уравнении параметров [9—14]. Параметры сильно- и слабо- связанной воды могут быть рассчитаны с использованием графика зависимости $\Delta G(C_{uw})$, поскольку соответствующие участки кривой $\Delta G(C_{uw})$ могут быть аппроксимированы прямыми с различным

наклоном. Слабосвязанная вода соответствует той части незамерзающей воды (малая величина $d(\Delta G)/dC_{uw}$), для которой свободная энергия лишь незначительно понижена межмолекулярными взаимодействиями с твердой поверхностью или молекулами биополимеров. Она замерзает при температуре вблизи 273 К. Сильно- связанная вода может находиться в незамерзшем состоянии при значительном понижении температуры (большая величина $d(\Delta G)/dC_{uw}$). Для гидрофильной поверхности она соответствует слою воды, максимально возмущенному в результате взаимодействия с поверхностью [9—14]. Объем слоя каждого типа связанной воды (C_{uw}^s и C_{uw}^w для сильно- и слабо- связанной воды соответственно) и максимальное понижение свободной энергии в этих слоях воды (ΔG_s и ΔG_w) могут быть оценены с использованием линейной экстраполяции участков зависимости $\Delta G(C_{uw})$, отвечающих этим слоям, к осям координат. Следует отметить, что используются две величины для определения количества воды — вода, оставшаяся незамерзшей при температуре измерений (C_{uw}) и общая величина воды в образце (C_{H_2O}), обычно относимые к единице массы твердого вещества. Часть незамерзающей воды, отвечающая $\Delta G > -0.8$ кДж/моль, может быть отнесена к слабо- связанной воде.

В более узких порах вода замерзает при более низких температурах, что описывается уравнением Гиббса–Томсона [17]:

$$\Delta T_m = T_m(R) - T_{m,\infty} = \frac{2\sigma_{sl}T_{m,\infty}}{\Delta H_f \rho R}, \quad (7)$$

где $T_m(R)$ — температура плавления льда, локализованного в порах радиуса R ; $T_{m,\infty}$ — температура плавления объемного льда; ρ — плотность твердой фазы; σ_{sl} — энергия взаимодействия твердого тела с жидкостью и ΔH_f — объемная энтальпия плавления. Это уравнение может быть использовано для вычисления распределения пор по размерам из температурной зависимости величины C_{uw} , полученной на основе метода ^1H ЯМР спектроскопии с послойным вымораживанием воды, для водных суспензий твердых тел или гидратированных биологических объектов, когда применение других методов анализа пористой структуры затруднительно. Для расчета распределения пор по размерам использовали уравнение [20]:

$$f(R) = \frac{10^3 k}{2\pi(RT_{m,\infty} - k)^2} \cdot \sum_{i=1}^N \frac{I_{0,i}}{\sigma_i} \exp \left[- \left(\frac{10^3 R - X_{ci}(RT_{m,\infty} - k)}{\sqrt{2\sigma_i}(RT_{m,\infty} - k)} \right)^2 \right], \quad (8)$$

где $X = 10^3/T$, X_{ci} — нормализованная обратная температура замерзания фазы i ; $I_{0,i}$ и σ_i — интенсивность и полуширина температурной зависимости вымораживания i -той фазы. Следует отметить, что мы использовали различные методы определения функций распределения пор по размерам на основании неинтегрального (уравнения (7) и (8)) и интегрального уравнения Гиббса–Томсона [9, 10, 13, 21, 22]. В целом эти уравнения дают согласованные и достаточно близкие результаты, поэтому в данной работе мы ограничились расчетами $f(R)$ только по уравнению (8).

Исследования с помощью атомносиловой микроскопии (АСМ) проводили на приборе Nanoscope III (Digital Instruments, USA). Суспензию кремнезема или смеси кремнезема с дрожжевыми клетками тщательно размешивали, помещали в чашку Петри и сушили при комнатной температуре до образования вязкой пластичной массы, которую помещали на плоскую подложку и сушили до равновесного состояния. Для измерений выбирали наиболее гладкий участок образца.

Термогравиметрические исследования выполняли на дериватографе Q-1500D (Paulik–Paulik–Erdely, MOM, Budapest). Скорость изменения температуры была постоянной и составляла 10 град/мин во всем температурном диапазоне.

Клетки *Saccharomyces cerevisiae* имеют эллипсоидальную форму с размерами малой и большой осей 2.5–10 и 4.5–21 мкм соответственно. На рис. 1 приведены АСМ-изображения высушенных суспензий дрожжевых клеток с пироженным кремнеземом при соотношениях компонент 7:1 и 1:1 соответственно. Как видно из рисунка, под влиянием кремнезема наблюдается заметная деформация поверхности клеток, что может свидетельствовать о биоактивности частиц кремнезема в контактных взаимодействиях с клетками.

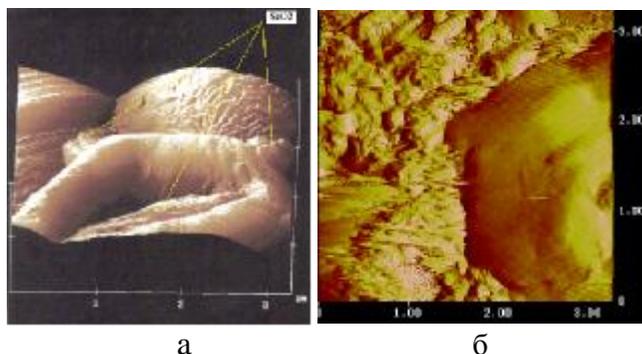


Рис. 1. АСМ-изображение дрожжевых клеток после высушивания суспензий, включающих ВДК, при соотношениях концентраций клетки: А-300 = 7:1 (а) и 1:1 (б).

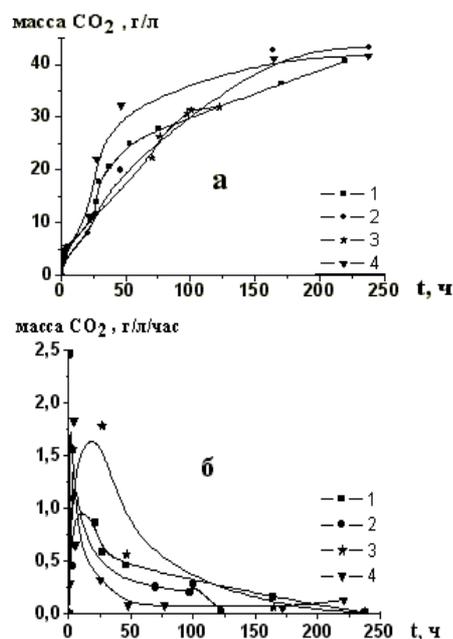


Рис. 2. Динамика выделения углекислого газа в процессе брожения дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*: 1 — чистые дрожжи; разное количество кремнезема (%): 2 — 0.034; 3 — 0.06; 4 — 0.1.

Для определения степени влияния кремнезема на жизнедеятельность дрожжевых клеток (в соответствии с методикой, изложенной в [19]) были определены абсолютные величины и динамика выделения углекислого газа в процессе брожения дрожжей в питательной среде, включающей глюкозу, при использовании чистой суспензии дрожжей и суспензий, содержащих добавки 0.034, 0.06 и 0.1 % мас. кремнезема (рис. 2, а). Из рисунка видно, что газовыделению соответствует кривая с насыщением, что характерно для процесса брожения [19]. На начальной стадии брожения происходит активный процесс деления клеток при условии достаточного количества питательных веществ. Со временем в растворе накапливаются продукты жизнедеятельности, а количество глюкозы уменьшается. Это приводит к замедлению процессов деления клеток и газовыделения.

Наиболее наглядно влияние добавок кремнезема на дыхательную активность дрожжей видно из графика зависимости массы углекислого газа, который образуется в результате брожения, отнесенной к единице времени (рис. 2, б). Как следует из этого рисунка, присутствие кремнезема приводит к существенному росту газовыделения, что свидетельствует об активирующем влиянии кремнезема на процессы жизнедеятельности клеток. Приведенный

результат хорошо согласуется с данными, полученными другими исследователями, в соответствии с которыми существует широкий диапазон концентраций ВДК, в котором наночастицы кремнезема положительно влияют на клеточные объекты [1, 4—6]. Одной из причин такого влияния может быть образование на межфазной границе клетка/кремнезем условий для формирования слоя воды, свойства которого существенно отличаются от объемных.

На рис. 3 приведены спектры ^1H ЯМР воды в частично дегидратированных дрожжевых клетках (рис. 3, *а, б*, образцы 1,2), в порошке кремнезема, полученном путем высушивания его водной суспензии, содержащем 4 % мас. адсорбированной воды (рис. 3, *в*, образец 3) и в композите, состоящем из высушенной смеси 2:1 дрожжевых клеток и кремнезема, содержащем разное количество связанной воды (рис. 3, *г-е*, образцы 4—6). Измерения проводили в среде слабополярного дейтерохлаороформа, присутствие которого существенно уменьшало ширину сигналов ЯМР, позволяло точно определять

химический сдвиг связанной воды и, отчасти, стабилизировало состояние воды на межфазной границе дрожжевых клеток и частиц высокодисперсного кремнезема. Концентрацию связанной воды в частично обезвоженных дрожжевых клетках (рис. 3, *а, б*) определяли по изменению интенсивности ЯМР сигнала воды после добавления определенного количества воды, а в порошке SiO_2 и композитах (рис. 3, *г-е*) — методом термогравиметрии, по уменьшению массы образца в процессе нагревания (рис. 4). Как видно из рис. 4, основная масса воды удаляется при $T < 120^\circ\text{C}$. При более высокой температуре происходит удаление воды, диффузия которой к поверхности частиц затруднена или она образуется в результате ассоциативной десорбции. Деструкция (окисление кислородом воздуха) клеточных структур начинается при 250°C (рис. 4).

Сигнал воды в дрожжевых клетках (рис. 3, *а, б*), содержащих 11—27 % мас. связанной воды, наблюдается в виде одиночного сигнала с химическим сдвигом $\delta_{\text{H}} \approx 1.3$ м.д. Следовательно, вся внутриклеточная вода является слабоассоцииро-

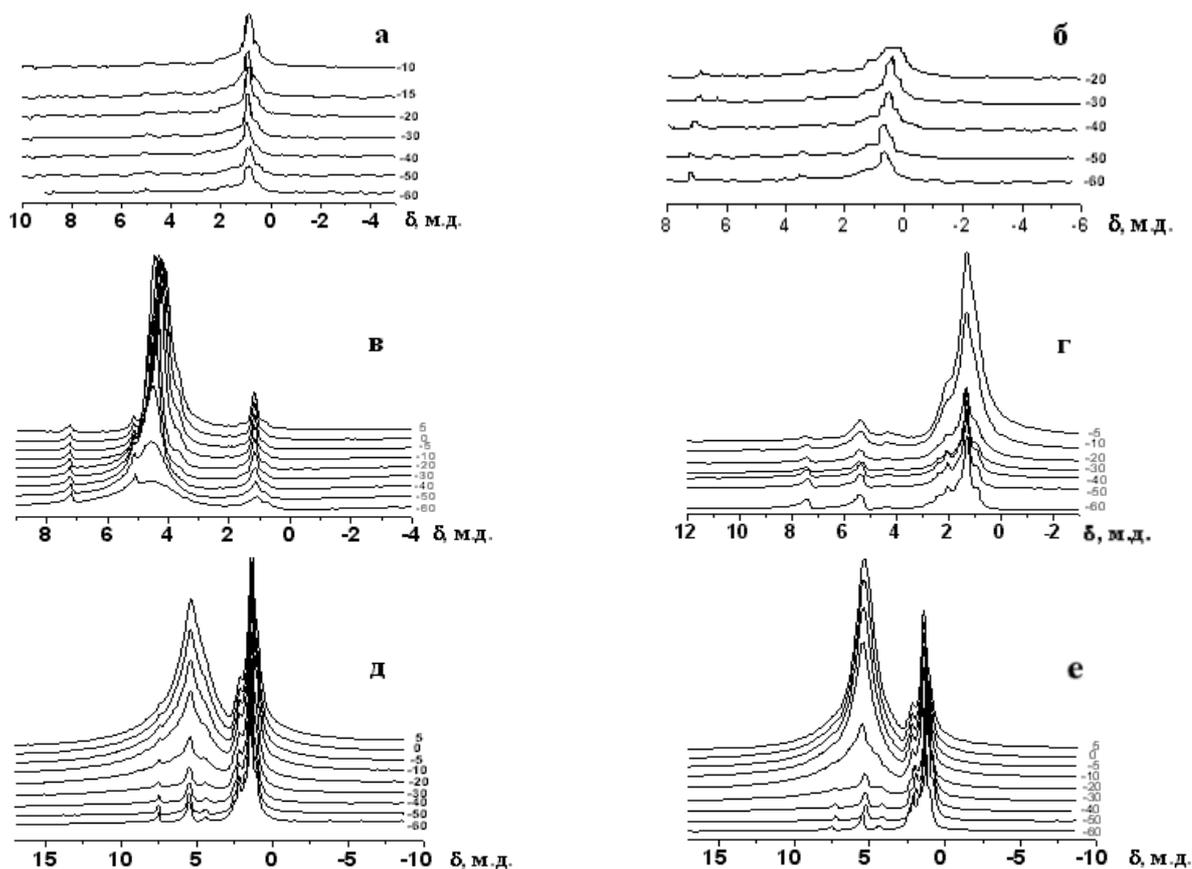


Рис. 3. Спектры ^1H ЯМР воды, связанной в частично дегидратированных дрожжевых клетках (*а* — 11 %, *б* — 27 % H_2O); порошке кремнезема, приготовленном путем высушивания суспензии А-300 (*в*); композитах клеточной массы с кремнеземом (2:1), содержащих разное количество воды (*г-е*), при различных температурах.

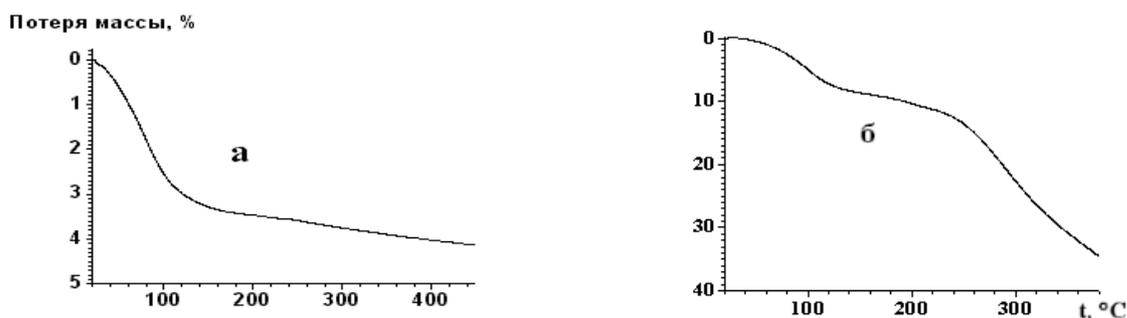


Рис. 4. Кривые дифференциального термического анализа: *a* – кремнезема; *б* – дрожжей.

ванной. В спектрах ^1H ЯМР порошка кремнезема, содержащего около 4 % мас. воды, фиксируется несколько сигналов. Наиболее интенсивным является сигнал сильноассоциированной воды, адсорбированной на поверхности кремнезема, с химическим сдвигом $\delta_{\text{H}} = 4.2\text{--}4.8$ м.д. Кроме него в спектрах наблюдаются сигналы: 1) СН-групп хлороформа (недейтерированная фракция составляет около 0.2 % мас.); 2) неассоциированной воды, растворенной в хлороформе ($\delta \approx 1.3$ м.д.); 3) воды, растворенной в хлороформе в виде нанокнопель ($\delta = 5$ м.д.); 4) слабоинтенсивный сигнал слабоассоциированной воды на межфазной границе кремнезем/хлороформ, химический сдвиг которого близок к химическому сдвигу сигнала воды, растворенной в хлороформе. Интенсивность этого сигнала не определяли вследствие трудности его отделения от сигнала воды, растворенной в хлороформе.

Для композитных систем, содержащих клеточную массу и кремнезем (рис. 3, *г–е*), высушенную в тех же условиях, что и суспензию кремнезема (спектр, которой приведен на рис. 3, *в*) при $\text{C}_{\text{H}_2\text{O}} = 12$ % мас. более 90 % общего количества связанной воды относится к слабоассоциированной. Однако в отличие от образца 1 (таблица) при добавлении фиксированных порций воды к образцу 3

интенсивный сигнал сильноассоциированной воды регистрируется при значительно меньшей концентрации связанной воды, чем это имело место для частично дегидратированной клеточной массы (рис. 3, *б, д, е*). В образце 5 (рис. 3, *д*) к слабоассоциированной относится примерно 30 % воды, а в образце 6 (рис. 3, *е*) — примерно 20 % от общего количества связанной воды.

На рис. 5 приведены графики зависимостей $\Delta G(C_{\text{иw}})$, построенные на основе соответствующих температурных зависимостей концентраций слабо- и сильноассоциированной воды, рассчитанные в соответствии с уравнением (1). Характеристики слоев связанной воды суммированы в таблице.

Из приведенных результатов следует, что гидратация композитного материала происходит иначе, чем его компонентов — клеточной массы и высокодисперсного кремнезема в отдельности. В присутствии кремнезема с ростом гидратированности системы наблюдается сильное уменьшение количества слабоассоциированной воды и рост концентрации сильноассоциированной воды. Причем последний эффект вдвое больше: при переходе от образца 4 к образцу 6 количество слабоассоциированной воды уменьшается на 55 мг/г, в то время как сильноассоциированной — возрастает на

Характеристики слоев связанной воды в частично дегидратированных дрожжевых клетках, порошке кремнезема и композитных материалах, содержащих клеточную массу и кремнезем

Образец	Содержание воды, % мас.	Слабоассоциированная вода				Сильноассоциированная вода			
		ΔG^s , кДж/моль	$C_{\text{иw}}^s$, мг/г	ΔG^w , кДж/моль	$C_{\text{иw}}^w$, мг/г	ΔG^s , кДж/моль	$C_{\text{иw}}^s$, мг/г	ΔG^w , кДж/моль	$C_{\text{иw}}^w$, мг/г
1	11	-3	110	—	—	—	—	—	—
2	27	-4	270	—	—	—	—	—	—
3	4	—	—	—	—	-3.5	40	—	—
4	12	< -5	35	-1	75	< -5	10	—	—
5	17	-4	70	—	—	-4	20	-1.5	80
6	21	< -5	55	—	—	-3.5	35	-1.5	125

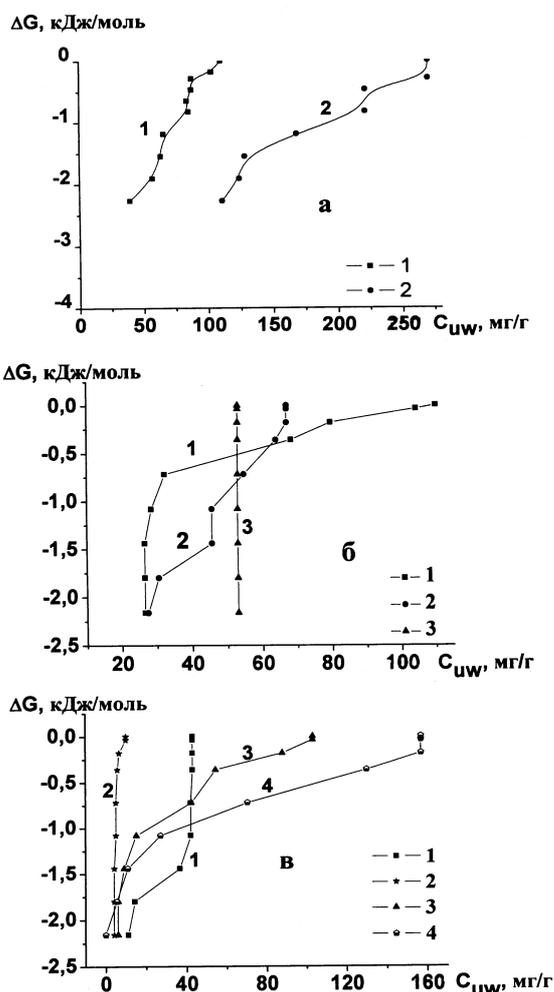


Рис. 5. Зависимость изменения свободной энергии Гиббса от концентрации слабоассоциированной (*a*, *б*) и сильноассоциированной (*в*) воды в частично дегидратированной клеточной массе, порошке кремнезема, полученном путем высушивания его водной суспензии, и композитном материале, полученном высушиванием суспензии 2:1 дрожжевых клеток и ВДК: *a*: 1 – 110 мг/г H₂O, 2 – 270 мг/г H₂O; *б*: 1 – (Dr+SiO₂) 12 % H₂O, 2 – (Dr+SiO₂) 17 % H₂O, 3 – (Dr+SiO₂) 21 % H₂O; *в*: 1 – A-300, 2 – (Dr+SiO₂) 12 % H₂O, 3 – (Dr+SiO₂) 17 % H₂O, 4 – (Dr+SiO₂) 21 % H₂O.

160 мг/г. Интересной особенностью изученных систем является то, что в отличие от ранее изученных материалов [9–12] слабоассоциированная вода может быть не только сильносвязанной, но и слабосвязанной (рис. 5, *б* и таблица, образец 5). Для сильноассоциированной воды (рис. 5, *в*) увеличение гидратированности сопровождается появлением и значительным ростом концентрации слабосвязанной воды. Поскольку при аналогичных условиях вся внутриклеточная вода в образцах 1, 2 является

сильносвязанной но слабоассоциированной, можно заключить, что наблюдаемые закономерности относятся к воде, сосредоточенной на межфазной границе клетки—кремнезем. Тот факт, что для образца *б*, содержащего максимальное количество воды, вся слабоассоциированная вода становится сильносвязанной, может быть обусловлен зависимостью проницаемости клеточных мембран от гидратированности межфазного слоя и, как следствие, проникновением части воды из зоны контакта клетки—частицы внутрь клеток, где она становится слабоассоциированной.

Расчеты распределений пор по размерам (рис. 6) по уравнению (8) (при $k = 40\text{--}67$ К·нм для разных систем) показывают, что наблюдается тенденция смещения максимума $f(R)$ для сильноассоциированной воды в сторону больших значений. В присутствии кремнезема сдвиг максимума при увеличении гидратированности происходит в противоположную сторону по сравнению с индивидуальными клетками (рис. 6. *a*). Это указывает на су-

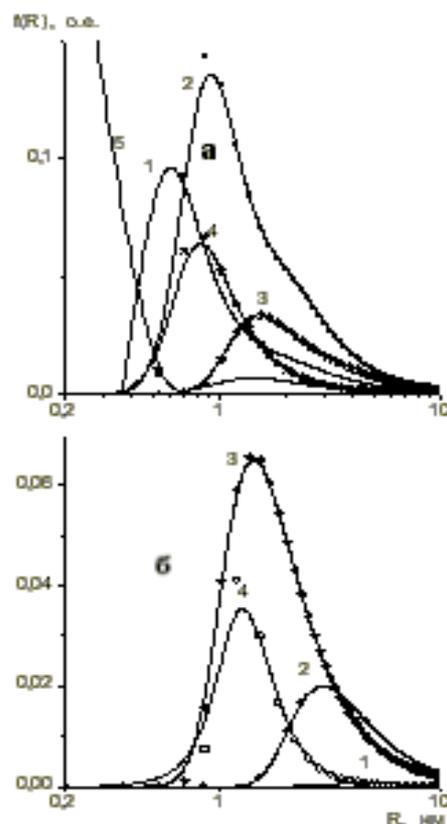


Рис. 6. Распределение по размерам пор, заполненных структурированной, слабоассоциированной (*a*) и сильноассоциированной (*б*) водой. *a* – клетки (CH₂O, г/г): 1 – 0.11, 2 – 0.27; клетки—A-300: 3 – 0.12, 4 – 0.17, 5 – 0.21; *б* – клетки—A-300, CH₂O, г/г: 1 – 0.12, 2 – 0.17, 3 – 0.21, 4 – A-300 ($C_{A-300} = 4.3\%$).

ществное влияние кремнезема на внутриклеточную воду, которое, вероятно, проявляется и в видимых изменениях формы клеток, регистрируемое методом АСМ (рис. 1).

Таким образом, ВДК оказывает существенное влияние на степень гидратированности клеток. При контакте поверхности частиц кремнезема с клеточной поверхностью происходит частичное вытеснение межфазной воды (рис. 5, в). Оставшаяся вода переходит из сильноассоциированного (рис. 4, в) в слабоассоциированное (рис. 4, з) состояние. В диапазоне гидратированности композитного материала, в котором вся внутриклеточная вода в отсутствие кремнезема была сильносвязанной и слабоассоциированной, часть воды локализуется на границе клетка—кремнезем, то есть частицы кремнезема вызывают некоторую дегидратацию клеток, которая происходит вследствие массопереноса части внутриклеточной воды на границу клетка/кремнезем. Эта вода может быть как в сильноассоциированном, так и в слабоассоциированном состоянии. Если общая концентрация воды достигает 20 % мас., то часть воды с границы раздела клетка/кремнезем может переноситься внутрь клеток, где она становится слабоассоциированной и сильносвязанной. Следовательно, частицы кремнезема, располагаясь на поверхности клеток, оказывают существенное воздействие на проницаемость клеточных мембран. Поскольку значительная часть межфазной воды в зоне контакта находится в слабоассоциированном состоянии (это та вода, которая на рис. 5, б идентифицируется как слабосвязанная), контактная область может обладать повышенной проницаемостью для питательных веществ и продуктов клеточного метаболизма, что активизирует жизнедеятельность клеток и приводит к усилению газовой выделению и росту биомассы, что и наблюдается экспериментально.

РЕЗЮМЕ. Методами ^1H ЯМР спектроскопії, атомної силової мікроскопії, термогравіметрії досліджено взаємодію поверхні часточок кремнезему з клітинною поверхнею. Визначено вплив міжфазної границі дріжджові клітини — часточки ВДК на формування шарів зв'язаної води в умовах низької гідратованості системи і визначення відповідних структурних характеристик на основі рівняння Гіббса–Томсона.

SUMMARY. Interaction of silica particles with a cellular surface was investigated by ^1H NMR spectroscopy, atomic force microscopy and thermogravimetry methods.

Институт химии поверхности НАН Украины, Киев

Поступила 25.03.2007

The influence of the interphases of yeast cells-silica nanoparticles on the characteristics of bound water layers was studied for lowly hydrated systems. The corresponding structural characteristics were determined using Gibbs–Thomson equation.

1. Курдюш И.К., Чуйко А.А. // Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / Под ред. А.А. Чуйко. -Киев: Наук. думка, 2003.
2. Depasse J., Warlus J. // J. Colloid and Interface Sci. -1976. -**56**, № 3. -P. 618—621.
3. Gerashchenko B.I., Gerashchenko I.I., Bogomaz V.I. // Cytometry. -1994. -**23**. -P. 174.
4. Галаган Н.П. // Кремнеземы в медицине и биологии / Под ред. А.А. Чуйко. -Киев; Ставрополь, 1993. -С. 212—233.
5. Цимберг Е.А., Титова Л.В., Курдюш И.К. // Микробиол. журн. -1991. -**53**, № 4. -С. 55—58.
6. Курдюш И.К., Цимберг Е.А., Бихтунов В.Л. и др. // Там же. -1991. -**53**, № 2. -С. 41—44.
7. Harley J.D., Margolis J. // Nature. -1961. -**189**. -P. 1010, 1011.
8. Bell G.I., Dembo M., Bongrad P. // Biophys. J. -1984. -**45**. -P. 1051—1064.
9. Gun'ko V.M., Turov V.V., Bogatyrev V.M. et al. // Adv. Colloid Interface Sci. -2005. -**118**. -P. 125—172.
10. Гунько В.М., Туранская С.П., Нечипор О.В. и др. // Химия, физика и технология поверхности. -2006. -С. 397—430.
11. Gun'ko V.M., Zarko V.I., Turov V.V. et al. // Colloidal Silica: Fundamentals and Applications / Ed. H.E. Bergna. -Salisbury: Taylor and Francis LLC, 2005. -P. 499—530.
12. Turov V.V., Gun'ko V.M., Bogatyrev V.M. et al. // J. Colloid Interface Sci. -2005. -**283**, № 2. -P. 329—343.
13. Turov V.V., Gun'ko V.M., Zarko V.I. et al. // Colloids and Surfaces. -2006. -**48**. -P. 167—175.
14. Turov V.V., Leboda R. // Adv. in Colloid and Interface Sci. -1999. -**79**. -P. 173—211.
15. Turov V.V., Barvinchenko V.N. // Colloids Surf. -1997. -**8**. -P. 125—132.
16. Gun'ko V.M., Turov V.V. // Langmuir. -1999. -**15**. -P. 6405—6415.
17. Gallegos D.P., Munn K., Smith D.M., Stermer D.L. // J. Colloid Interface Sci. -1986. -**119**. -P. 127—140.
18. Большой практикум по микробиологии / Под ред. Г.Л. Селибера. -М.: Высш. шк., 1962.
19. Практикум по микробиологии / Под ред. Н.С. Егорова. -М.: МГУ, 1976.
20. Aksnes D.W., Kimtys L. // Solid State Nuclear Magnetic Resonance. -2004. -**25**. -P. 146—152.
21. Mikhalovska L.I., Gun'ko V.M., Turov V.V. et al. // Biomaterials. -2006. -**27**, № 19. -P. 3599—3607.
22. Gun'ko V.M., Turov V.V., Shpilko A.P. et al. // Colloids Surf. B. -2006. -**53**. -P. 29—36.