

Dorota KONDEJ¹, Tomasz R. SOSNOWSKI²

e-mail: dokon@ciop.pl

¹ Zakład Zagrożeń Chemicznych, Pyłowych i Biologicznych, Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy, Warszawa² Katedra Inżynierii Procesów Zintegrowanych, Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Warszawska, Warszawa

Analiza cech monowarstwy lipidowej poddanej deformacji w obecności nanocząstek metali

Wstęp

Rozwój gospodarczy i pojawiające się w jego wyniku nowe zagrożenia wymagają opracowania produktów i technologii, które muszą być bezpieczne dla zdrowia i środowiska. Do produkcji nowoczesnych wyrobów stosowane są materiały o rozdrobnieniu w skali nano, które przyczyniają się do poprawy parametrów użytkowych produktów, ale mogą również oddziaływać niekorzystnie na organizm człowieka. Bezpieczeństwo stosowania nanomateriałów jest m.in. jednym z głównych obszarów zainteresowań Organizacji Współpracy Gospodarczej i Rozwoju OECD (*Organisation for Economic Cooperation and Development*), zrzeszającej przedstawicieli 34 krajów świata i promującej zrównoważony wzrost gospodarczy. Nanocząstki metali zostały zaliczone przez OECD do grupy nanomateriałów, które są szeroko stosowane w praktyce, a zbadanie ich wpływu na zdrowie człowieka zostało uznane za jeden z priorytetowych obszarów działania. Na liście wytypowanych nanomateriałów umieszczono m.in. nanocząstki srebra, złota, żelaza oraz tlenków glinu, tytanu, ceru i cynku.

Podstawową drogą wchłaniania nanocząstek obecnych w środowisku pracy do organizmu człowieka jest układ oddechowy. Długi czas retencji nanocząstek sprzyja ich penetracji do komórek nabłonka dróg oddechowych, krwioobiegu lub układu limfatycznego [Creutzenberg, 2012]. Poszczególne struktury organizmu są chronione przed wpływem środowiska błonami biologicznymi, które służą jako selektywne bariery kontrolujące i regulujące ich skład [Chekman i Simonov, 2012]. Nanocząstki metali wdychane przez pracowników na stanowisku pracy mogą zaburzać aktywność błon biologicznych, stwarzając tym samym zagrożenie dla ich zdrowia.

Ze względu na złożoność strukturalną i dynamiczną błon biologicznych, eksperymentalne badania ich właściwości prowadzi się na układach modelowych wykorzystujących różnego typu membrany. Najprostszymi biomimetycznymi układami membranowymi są agregaty tworzone przez związki powierzchniowo czynne, tj. micelle, odwrócone micelle, monowarstwy, wielowarstwy oraz obiekty kuliste [Reimhult i in., 2010; Hou i in., 2012].

Celem pracy była ocena wpływu nanocząstek metali na właściwości powierzchniowe monowarstwy lipidowej utworzonej z fosfatydylocholiny, która znajduje się m.in. w błonie erytrocytów oraz jest głównym składnikiem fosfolipidowym surfaktantu płucnego tworzącego cienką błonę oddzielającą wdychane powietrze od nabłonka pęcherzyków płucnych. W pracy przedstawiono wyniki badań przeprowadzonych z udziałem nanocząstek tlenku cynku, które są stosowane m.in. w produkcji kosmetyków, materiałów kompozytowych, środków dezynfekcyjnych, środków smarnych oraz farb.

Metodyka badań

Materiały

W badaniach stosowano 1,2-dipalmitylo-*sn*-glycero-3-fosfocholinę (DPPC) o masie molowej 734,1 g/mol (nr CAS: 63-89-8) i czystości 99% oraz nanocząstki tlenku cynku (nr CAS: 1314-13-2) o wymiarach mniejszych niż 50 nm (*Sigma-Aldrich*, USA).

Metodyka

Badania przeprowadzono z wykorzystaniem wagi Langmuira - Wilhelmy'ego model *MiniTrough LB5000* (*KSV Instruments Ltd.*, Finlandia). Polegały one na wytworzeniu monowarstwy lipidowej na po-

wierzchni fazy ciekłej przez naniesienie roztworu chloroformowego DPPC o stężeniu 1 mg/ml i odparowanie rozpuszczalnika. Powstałą w ten sposób monowarstwę poddawano kompresji w temperaturze 36,6°C z szybkością 1,25 cm²/s w celu wyznaczenia chwilowych wartości ciśnienia powierzchniowego z zależności:

$$\pi = \sigma_c - \sigma \quad (1)$$

gdzie:

 π – ciśnienie powierzchniowe, [N/m] σ_c – wartość napięcia powierzchniowego czystej fazy ciekłej w temperaturze pomiaru, [N/m] σ – aktualna wartość napięcia powierzchniowego w badanym układzie, [N/m]

Następnie wyznaczono przebiegi izoterm kompresji określonych jako:

$$\pi = f(A) \quad (2)$$

oraz przebiegi krzywych ściśliwości określonych jako:

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

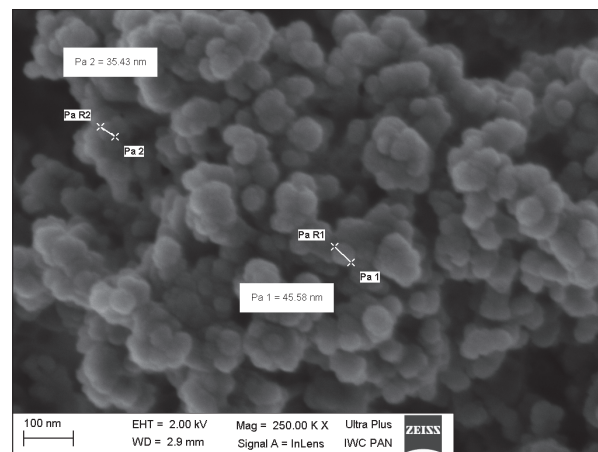
gdzie:

 A – powierzchnia międzyfazowa przypadająca na jedną cząsteczkę DPPC, [Å²/cząsteczka] κ – ściśliwość powierzchni ciecz-powietrze zawierającej DPPC, [m/N]

W celu określenia wpływu nanocząstek tlenku cynku na właściwości powierzchniowe monowarstwy lipidowej poddano analizie przebiegi izoterm kompresji $\pi(A)$ i krzywych ściśliwości $\kappa(\pi)$ monowarstwy DPPC utworzonej na powierzchni zawieszin badanych nanocząstek o stężeniach w zakresie do 1 mg/ml sporządzonych w soli fizjologicznej (*Baxter Manufacturing Sp. z o.o.*, Polska) oraz na powierzchni czystej fazy ciekłej (sól fizjologiczna bez dodatku nanocząstek) stanowiącej układ odniesienia.

Wyniki i dyskusja

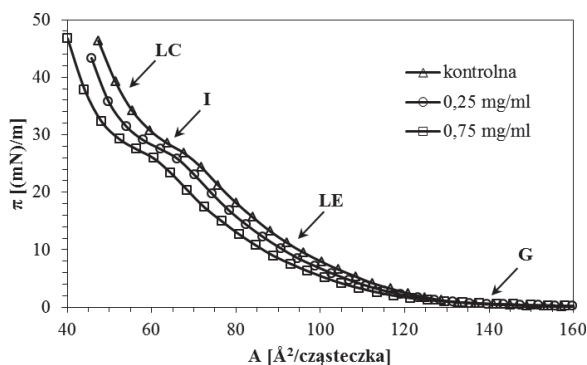
Na rys. 1 przedstawiono obraz cząstek tlenku cynku uzyskany przy wykorzystaniu skaningowego mikroskopu elektronowego model 1530 (*Carl Zeiss*, Niemcy) zmodernizowanego przez zastosowanie elementów optycznych *Supra*.



Rys. 1. Morfologia nanocząstek tlenku cynku

Analiza mikroskopowa potwierdziła wymiary nanocząstek tlenku cynku deklarowane przez dostawcę nanoprozsku.

Na rys. 2 przedstawiono izotermę kompresji monowarstwy DPPC utworzonej na powierzchni czystej fazy ciekłej (krzywa kontrolna) oraz na powierzchni fazy ciekłej stanowiącej zawiesiny nanocząstek tlenku cynku o stężeniu 0,25 i 0,75 mg/ml.

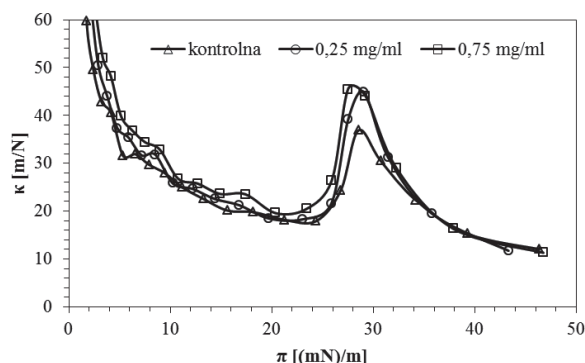


Rys. 2. Izotermę kompresji monowarstwy DPPC (36,6°C; 1,25 cm²/min) utworzonej na powierzchni: (a) fazy ciekłej bez dodatku nanocząstek (kontrolna), (b) zawiesiny o stężeniu nanocząstek 0,25 mg/ml, i (c) zawiesiny o stężeniu nanocząstek 0,75 mg/ml. Na wykresie wskazano stany organizacji cząsteczek w monowarstwie: stan gazowy (G), stan cieczy rozprężonej (LE), stan przejściowy (I) oraz stan cieczy skondensowanej (LC)

W przebiegu poszczególnych izoterm można wyróżnić obszary, które charakteryzują się różną organizacją cząsteczek DPPC w monowarstwie: stan gazowy (G), stan cieczy rozprężonej (LE), stan przejściowy (I) oraz stan cieczy skondensowanej (LC). Na krzywych wyraźnie zarysowany jest obszar plateau, który odpowiada położeniu stanu przejściowego (I) (pośredniego, tj. stanu koegzystencji faz LE i LC). Dla izotermi kontrolnej przejście ze stanu gazowego (G) w stan cieczy rozprężonej (LE) ma miejsce przy powierzchni ok. 135 Å². Stan pośredni (I) występuje przy ciśnieniu powierzchniowym wynoszącym ok. 28±30 (mN)/m i przy powierzchni przypadającej na jedną cząsteczkę DPPC zmieniającej się o ok. 10 Å². Poniżej wielkości powierzchni cząsteczkowej wynoszącej ok. 60 Å²/cząst. rozpoczyna się kondensacja powierzchni, a więc przejście do fazy (LC), a potem (S), po którym dochodzi do złamania monowarstwy (nie pokazane na rys. 2). W początkowym etapie kompresji monowarstwy DPPC, izotermi dla badanych układów pokrywają się. We wszystkich przypadkach stan gazowy (G) monowarstwy utrzymuje się do wielkości pola powierzchni przypadającego na jedną cząsteczkę DPPC wynoszącej ok. 135 Å². W obszarze stanu cieczy rozprężonej (LE), stanu przejściowego (I) oraz stanu cieczy skondensowanej (LC) izotermi kompresji monowarstwy DPPC utworzonej na powierzchni fazy ciekłej zawierającej nanocząstki tlenku cynku są przesunięte względem izotermi kontrolnej w kierunku niższych wartości ciśnienia powierzchniowego. Najniższe wartości ciśnienia powierzchniowego osiąganego przy tym samym stopniu kompresji obserwuje się dla układu o stężeniu badanych nanocząstek wynoszącym 0,75 mg/ml. W tym układzie najpóźniej rozpoczyna się również stan przejściowy (I). Przesunięcie izoterm wyznaczonych w układach zawierających nanocząstki zostało stwierdzone również w badaniach przeprowadzonych z zastosowaniem nanocząstek mineralnych [Kondej i Sosnowski, 2013; 2014].

Na rys. 3 przedstawiono krzywe ścisłości monowarstwy DPPC wyznaczone w poszczególnych układach.

Obecność nanocząstek tlenku cynku w fazie ciekłej powoduje wzrost maksymalnej i minimalnej wartości ścisłości i niewielkie przesunięcie położenia maksimum i minimum w kierunku niższych wartości ciśnienia powierzchniowego wraz ze wzrostem stężenia badanych nanocząstek w zawieszynie. W tab. 1 podano minimalne i maksymalne wartości ścisłości monowarstwy DPPC w badanych układach oraz odpowiadające im wartości ciśnienia powierzchniowego. Wzrost wartości κ_{max} w obecności nanocząstek świadczy o spadku elastyczności monowarstwy, co może zaburzać dynamikę zmian napięcia powierzchniowego w warunkach występowania warstwy fosfolipidowej w układzie oddechowym (surfaktant płucny).



Rys. 3. Krzywe ścisłości monowarstwy DPPC utworzonej na powierzchni: (a) fazy ciekłej bez dodatku nanocząstek (kontrolna), (b) zawiesiny o stężeniu nanocząstek 0,25 mg/ml, (c) i zawiesiny o stężeniu nanocząstek 0,75 mg/ml

Tab. 1. Minimalne i maksymalne wartości ścisłości κ monowarstwy DPPC oraz odpowiadające im wartości ciśnienia powierzchniowego π wyznaczone w układzie bez dodatku nanocząstek oraz z dodatkiem nanocząstek o stężeniu 0,25 mg/ml i 0,75 mg/ml

Badany układ	κ_{min} [mN]	π_1 [(mN)/m]	κ_{max} [mN]	π_2 [(mN)/m]
faza ciekła bez dodatku nanocząstek (kontrolna)	17,9 ± 0,2	22,7 ± 2,0	35,5 ± 1,5	29,1 ± 0,6
zawieszina o stężeniu nanocząstek 0,25 mg/ml	18,6 ± 0,3	22,5 ± 0,7	44,9 ± 0,6	28,5 ± 0,7
zawieszina o stężeniu nanocząstek 0,75 mg/ml	19,4 ± 0,2	21,8 ± 1,5	48,6 ± 2,9	28,1 ± 0,5

Wnioski

Badania wykazały, że nanocząstki tlenku cynku o wymiarach mniejszych niż 50 nm powodują zmianę właściwości powierzchniowych monowarstwy lipidowej podczas dwuwymiarowej izotermicznej kompresji.

Uzyskane wyniki wskazują na możliwość zaburzenia aktywności błon biologicznych przez nanocząstki metali wdychane przez pracowników w środowisku pracy, co może stanowić zagrożenie dla ich zdrowia.

LITERATURA

- Chekman I.S., Simonov P.V., 2012. Structure and function of biological membranes: the impact of nanoparticles. *Int. J. Phys. Pathophys.*, **3**, 187-208. DOI: 10.1615/IntJPhysPathophys.v3.i2.80
- Creutzenberg O., 2012. Biological interactions and toxicity of nanomaterials in the respiratory tract and various approaches of aerosol generation for toxicity testing. *Arch.Toxic.*, **86**, 1117-1122. DOI: 10.1007/s00204-012-0833-3
- Kondej D., Sosnowski T.R., 2013. Organizacja cząsteczek monowarstwy fosfolipidowego składnika surfaktantu płucnego podczas kompresji w obecności nanocząstek mineralnych. *Inż. Ap. Chem.*, **52**, nr 4, 338-339
- Kondej D., Sosnowski T.R., 2014. Physicochemical mechanisms of mineral nanoparticles effects on pulmonary gas/liquid interface studied in model systems. *Physicochem. Probl. Mineral Proc.*, **50**, nr 1, 57-69. DOI: 10.5277/ppmp140105
- 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. *Environmental Science and Technology*, **46**, 1869-1876. DOI: 10.1021/es203661k
- Reimhult E., Baumann M., Kaufmann S., Kumar K., Spycher P., 2010. Advances in nanopatterned and nanostructured supported lipid membranes and their applications. *Biotechnol. Genetic Eng. Rev.*, **27**, 185-216. DOI: 10.1080/02648725.2010.10648150

Publikacja została opracowana na podstawie wyników III etapu programu wieloletniego pn. „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy” w latach 2014-2016 dofinansowywanego w zakresie zadań służb państwowych przez Ministerstwo Pracy i Polityki Społecznej. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.