

Поляризационная микроскопия как метод изучения фазовых превращений в криобиологических системах

А.Т. Ходько

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Polarization Microscopy as Method to Study Phase Transitions in Cryobiological Systems

A.T. Khodko

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

При изменении параметров состояния (температура, давление, концентрация) криобиологических систем, являющихся водными растворами, возможны два типа фазовых переходов (ФП): жидкость-жидкость (PTL-L), жидкость-кристалл (PTL-K). В настоящей работе для идентификации природы ФП использовали метод поляризационной микроскопии, основанный на свойстве кристаллической фазы вращать плоскость поляризации света.

Цель работы – определить тип фазовых переходов при охлаждении растворов глицерина различных концентраций в криоконсерванте ЦНИИГПК-115 на основе глицерина и эритроконцентрате, охлаждаемом под защитой этого криоконсерванта.

Образец исследуемой системы в виде капли, помещенной на поверхность чашки Петри, охлаждадали путем обдува парами жидкого азота и жидким азотом (LN₂), который наливали в чашку непосредственно под объективом поляризационного микроскопа «МИН-8» (ЛОМО, СССР). Наблюдение проводилось визуально и с фиксацией в видеорежиме цифровой микроскопической камерой «С 130» («Levenhuk», Китай) при $\times 54$.

При скрещенном положении поляризаторов и отсутствии оптической активности препарата поле зрения будет темным. Если препарат обладает свойством двойного лучепреломления, то часть потока от источника света пройдет через анализатор. На основании результатов наблюдения этого явления можно сделать вывод об образовании в криобиологической системе упорядоченной кристаллической фазы.

Используя описанную методику, нами было установлено наличие только PTL-L в растворах глицерина концентрацией 20, 40 и 50 масс. %, приготовленном на изотоническом растворе NaCl при охлаждении непосредственно в LN₂. При охлаждении в парах азота 20- и 40%-е растворы кристаллизовались после PTL-L, кристаллизация носила вторичный характер. В 50%-м растворе наблюдался только PTL-L, а в 60%-м происходило стеклование, сопровождающееся растрескиванием, что обусловлено концентрацией внутренних напряжений.

При охлаждении растворов обоими способами в криоконсерванте ЦНИИГПК-115 признаков кристаллизации не обнаружено. В эритроконцентрате, охлаждаемом под его защитой, наблюдается критическая опалесценция, характерная только для PTL-L. Свечение в скрещенных поляроидах при этом также отсутствует.

Метод поляризационной микроскопии процесса охлаждения-отогрева позволяет идентифицировать природу фазовых переходов в криобиологических системах.

Changing the parameters of state (temperature, pressure concentration) in cryobiological systems, which are aqueous solutions, could lead to appearance of two types of phase transitions (PT), *i. e.* liquid-liquid phase transition (PTL-L), and liquid-crystal (PTL-C) phase transition. In this research to identify the nature of PT the polarization microscopy was used basing on the feature of crystalline phase to turn the light polarization plane.

The research aim was to determine the type of phase transitions during cooling the glycerol solutions of various concentrations, cryopreservative CNIIGPK-115 based on glycerol and in erythroconcentrate, cooled under protection of this cryopreservative.

The studied specimen in the shape of a drop placed on a Petri dish surface was cooled down by means of blowing with vapors of liquid nitrogen (LN₂) as well as by direct pouring of LN₂ directly into a Petri dish just under objective of polarization microscope MIN-8 (LOMO, USSR). The observation was made visually and recorded with digital microscope camera Levenhuk C 130 (China) at $\times 54$.

The vision field will be dark when the polarizers are in the crossed state and if specimen has no an optical activity. If the specimen has the property of double refraction the part of light transits through the analyzer. On the basis of the results of this phenomenon observation one can conclude about the formation of an ordered crystalline phase in cryobiological system.

Using the described technique, there was found the presence of only PTL-L in glycerol solutions with concentrations of glycerol of 20, 40 and 50 wt% prepared with isotonic solution of NaCl if direct cooling with LN₂ was performed. When the specimen was cooled in the vapours of LN₂ the 20 and 40% solutions were crystallized after PTL-L transition, that is, crystallization was secondary. In the 50% solution it was observed only PTL-L, and in 60% solution the vitrification occurred. The latter was accompanied by cracking, stipulated by the concentration of internal strains.

During cooling with both methods no crystallization signs were found in the cryopreservative CNIIGPK-115. In the erythroconcentrate cooled under its protection we observed critical opalescence, typical only for PTL-L. There is also no glow in crossed polarized light.

Thus, the method of polarization microscopy of the cooling-warming processes enables the identifying the nature of phase transitions in cryobiological systems.

