

УДК 538.975; 535.361

ОРИЕНТИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПЛАЗМОХИМИЧЕСКИХ СИСТЕМ

В. В. Зайцев, Н. В. Каледенкова, Н. Б. Зайцева, Н. В. Усольцева
Ивановский государственный университет, г. Иваново, Россия

Н. А. Савченко, В. Е. Гуль

Московская государственная академия прикладной биотехнологии, Москва, Россия

Разработана методика получения ориентирующих подложек в неравновесной плазме тлеющего разряда для выявления жидкокристаллических текстур плазмы крови с целью диагностики заболеваемости инфарктом миокарда. Установлено, что растворы целлюлозы позволяют получать упорядоченные структуры. Ориентирующее действие тонких плазмохимических покрытий обеспечивает быстрое (до 24 ч) время выявления текстур доноров в виде жидкокристаллических линий (маслянистых бороздок). В плазме крови больных инфарктом миокарда выявлены веерные текстуры, сферолиты, гандриты, игольчатые кристаллы; у больных, перенесших инфаркт миокарда, псевдоизотропные текстуры с маслянистыми бороздками, иногда правильной шестиугольной формы. Установлена перспективность исследований Фурье-спектроскопии и обычной ИК-спектроскопии.

Известно, что ряд молекул (липиды, белки и полипептиды, нуклеиновые кислоты, полисахариды) биологического происхождения проявляют жидкокристаллические свойства [1]. Нарушение нормальной деятельности живого организма приводит к изменению химического состава сложных молекул и обуславливает возможность диагностики заболеваний по регистрации физико-химических и жидкокристаллических свойств тех или иных препаратов [2]. Ранним индикатором патологии в организме при заболеваниях может быть изменение жидкокристаллических свойств крови и ее компонент. Методом, удобным для исследования фазового состояния плазмы крови, является молекулярная спектроскопия. Увеличение заболеваемости инфарктом миокарда делает актуальным изучение изменения фазового состояния плазмы крови как на ранних стадиях болезни, так и в процессе ее развития. Это требует разработки новых независимых методик и набора банка данных по текстурным изменениям, характерным для определенного типа патологии. В текстурных исследованиях определяющую роль играют ориентирующее действие и свойства подложки, применяемой при изготовлении ячеек для поляризационной микроскопии [3].

Цель настоящей работы — разработка методики получения ориентирующих подложек с последующим набором банка данных по виду текстур плазмы крови больных рабочей возрастной группы с различным клиническим течением острого инфаркта миокарда.

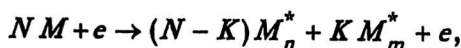
Методика получения ориентирующих подложек для экспериментальных ячеек

Подложки получали плазмохимическим методом [4]. Низкотемпературная плазма создавалась в реакторе диаметром 4,5 см и длиной 36 см. Рабочее давление смесей мономера и плазмонесителя криптона составляло 0,5—1 торр, ток тлеющего разряда 1—2 мА. Перед вакуумированием до 10^{-3} торр в реактор помещались стеклянные пластины-подложки. Определялась скорость роста

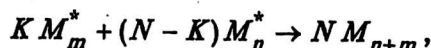
$\Gamma = F/S\tau$ весовым методом, где F — масса пленки; S — площадь подложки; τ — время пленкообразования.

Методом двух зондов определялась напряженность электрического поля E (В/см). Структура получаемых пленок исследовалась с помощью электронного микроскопа ЭМВ-100 А, а состав через ИК-спектроскопию — с помощью спектрометра Spexord-75. Критическое поверхностное натяжение пленок γ_c [5] вычислялось из значений краевых углов θ , определяемых методом лазерного отражения и проекций. Отработка ориентирующего эффекта осуществлялась на нематическом жидком кристалле МББА (4-метоксибензилиден-4'-бутиланилине) в ячейке типа "сэндвич". Использовался поляризационный микроскоп МИН-8. Были сделаны опыты по модификации полимерных покрытий из полиметилметакрилата в проточном режиме в плазме воздуха [6].

В табл. 1 приведены скорости роста пленок в плазме. Скорость роста слабо зависит от концентрации мономера в плазме, что связано, по-видимому, с условиями деструкции



процессами диффузии и поверхностной полимеризацией



где M_n^* , M_m^* — радикалы, образующиеся под действием электронного удара.

Таблица 1

Скорость роста пленок $\lg \Gamma$

Состав	С, %				
	10	20	30	40	50
Kz + С, % метилметакрилат	8,5	8,65	8,8	8,9	8,9
Kz + стирол	8,3	8,3	8,45	8,4	8,4

Рост скорости образования активных частиц $\Gamma^* = KN_M n_e$ (где N_M , n_e — концентрации мономера и электронов соответственно за счет роста N_M (С, %, см. табл. 1)) компенсируется уменьшением концентрации электронов. Выбранные условия работы плазменного реактора обусловили и слабую связь с напряженностью электрического поля, отнесенной к суммарному давлению $E/\Sigma P_i = E/P$ (В/(см·торр)), см. табл. 2.

Таблица 2

Зависимость γ_c от E/P , $\gamma_c \cdot 10^{-3}$ Н/м

Состав	E/P , В/(см·торр)				
	30	35	40	45	50
Kz + стирол	33,5	33,7	34,3	34,6	34,9

Состав ИК-спектров ν (CH₂) = 2920 см⁻¹; ν (CH₂) = 1450 см⁻¹; ν (OH) = 3450 см⁻¹; ν (C=C) = 1700 см⁻¹, а также ν_n (мономеров) позволил сделать вывод о полимер-мономерном составе подложки, быстром ступечатом механизме полимеризации. Структурные исследования подложек позволили лишь для пленок S_xN_x, полученных на основе S₄N₄, по наличию двух колец и пиков на денсито-

грамме установить определенную упорядоченность слоев молекул. Пленки на основе органических мономеров в соответствии с правилом Фриделя-Крейг-Кметца [1, 5] ориентировали нематические жидкие кристаллы в плоскости подложки ($\gamma_c > \gamma_\alpha$), где γ_α — поверхностное натяжение жидкого кристалла. На ориентирующее действие подложек указывает увеличение модуля упругости K_{33} при исследовании эффекта Фредерикса для пленок S_xN_x в 1,45 раза. При этом возможно изменение как порогового напряжения U_n (в эксперименте U_n увеличивается), так и диэлектрической анизотропии $\epsilon_a = |\epsilon_{\parallel} - \epsilon_{\perp}|$

$$K_{33} = \left\{ U_n^2 \epsilon_o \epsilon_a \right\} / \pi^2.$$

К аналогичным выводам можно прийти при исследовании времени релаксации и критической частоты ЭГД-неустойчивости. Из зависимостей $(Y^2 - 1)/v^2 \rightarrow Y^2$, где $Y = U_n(v) / U_n(0)$, сравнивались подложки, подготовленные по методу Шатлена и плазмохимическим способом, полученные значения $\tau_c = 2,2 \cdot 10^{-3}$ с, $\nu_c = 220$ Гц, $\tau_c = 2,4 \cdot 10^{-4}$ с, $\nu_c = 5000$ Гц соответственно.

Плазмохимическое травление пленок из полиметилметакрилата приводило к возрастанию полярного вклада в поверхностное натяжение подложки ($\Delta\gamma_s^p \leq 36 \cdot 10^{-3}$, Н/м) и уменьшению дисперсионного вклада. Изменение поверхностных свойств полимерных слоев влияет на поверхностную энергию взаимодействия жидкого кристалла с подложкой $W_{s\alpha}$ (табл. 3). Данные табл. 3 позволяют установить время модификации полимерных пленок.

Таблица 3
Изменение $W_{s\alpha}$ в зависимости от времени обработки подложки в плазме, $W_{s\alpha} \cdot 10^{-2}$ Дж/м²

Ток разряда	τ , с					
	6	12	18	24	30	54
1 мА	0,7	1,8	2	2	2	2
2 мА	0,6	1,4	1,6	1,6	1,6	1,6

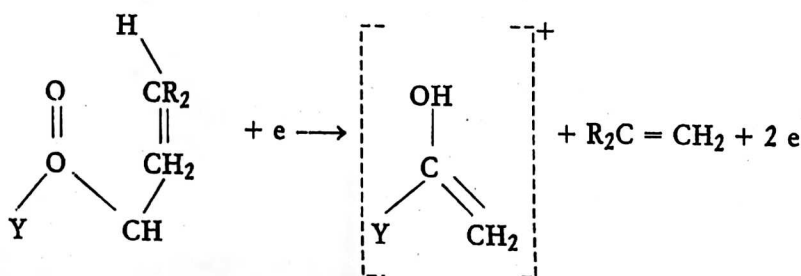
Структурный состав плазмы крови исследовался спектральными методами. В области $0-600$ см⁻¹ использовался Фурье-спектрометр ЛАФС-1000, в области $400-4000$ см⁻¹ — Specord-75.

Среди ориентирующих покрытий, которые могут использоваться как подложки для плазмы крови, нужно выделить покрытия на основе целлюлозы.

Для исследования были приготовлены растворы с составом, приведенном в табл. 4. Масс-спектры паров неводных растворов [7] исследовались на приборе МИ-1201. Образцы растворов предварительно вакуумировались до 10^{-4} торр ($1,3 \cdot 10^{-2}$ Па). Для всех растворов (см. табл. 4) давление паров над поверхностью составило $< 1,3$ Па. Достоверность результатов и их расшифровки затруднялись отсутствием образцовых масс-спектров при ионизации электронным ударом и химической ионизации в рабочем объеме масс-спектрометра МИ-1201. В исследуемых смесях при действии электронного пучка можно ожидать лишь фрагментные ионы, образующиеся при разрыве связей с одновременной миграцией атомов типа перегруппировки Мак-Лафферти [7].

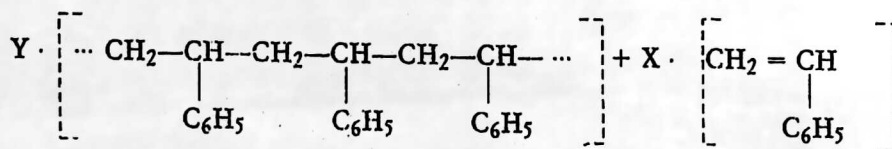
Таблица 4

№ п/п	Наименование ингредиента	Состав	Т, К
1	Диацетат целлюлозы $[C_6H_7O_2OH(COOCCH_3)_2]_x = 400$ Молекулярный порошок (ДАЦ 400) Диактиловый эфир фталиевой кислоты $\left[\begin{array}{l} \text{— OSOCH}_2(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3 \\ \text{— OSOCH}_2(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3 \end{array} \right]$ (ДЭФ)	500 мг 10 мл	293
2	ДАЦ мелкодисперсный порошок Триацетат глицерина (ТАГ) $CH_2 - OCO - CH_3$ $ $ $CH - OCO - CH_3$ $ $ $CH_2 - OCO - CH_3$	500 мг 10 мл	293
3	Триацетат целлюлозы (ТАЦ) $[C_6H_7O_2(COOCCH_3)_3]_x = 275 - 300$ ТАГ	500 мг	293
4	ДАЦ 250, тонкие волокна ДЭФ	200 мг 4 мл	293
5	ДАЦ 250 ТАГ	200 мг 4 мл	293
6	ТАЦ 300 ДЭФ	500 мл 10 мл	293

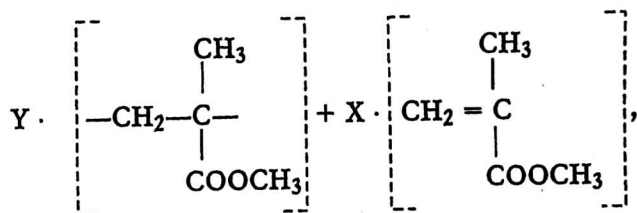


ИК-спектры исследовались на приборах ЛАФС-1000 (область исследования $\nu = 0 - 600 \text{ см}^{-1}$) и Specord-M-80 ($\nu = 400 - 4000 \text{ см}^{-1}$). При этом использовались кристаллические подложки из КВг для плазмохимических покрытий и твердых пленок, получаемых поливом растворов, и специальные кюветы для жидких растворов ($\nu - \text{до } 600 \text{ см}^{-1}$).

Используя свойства плазмохимических подложек из стирола



и метилметакрилата



в работе получены пленки из паров неводных растворов из табл. 4.

Образование молекулярной упорядоченности исследовалось методом поляризационной микроскопии (МИН-8) с микрофотонасадкой МФН-12.

Получение и исследование покрытий на основе целлюлозы

ИК-спектры растворов и пленок, получаемых методом полива на кристаллах КВг, представлены в табл. 5. Калибровка ИК-Spexord-80 осуществлялась по стандартным спектрам полистирола, описанным в работе [8]. Совпадения ИК-спектров полистирола в работе [8] и в табл. 5 — 1:1. Отличие ν_i ИК-спектров пленок растворов в табл. 4 незначительные по числу и значению волновых чисел.

Интенсивность пиков для одних и тех же ν существенны из-за разной толщины пленок, получаемых методом полива. Детальное сравнение плазмохимических покрытий, получаемых в плазме тлеющего разряда в смеси, состоящей из аргона при $P = 0,5$ и 10^{-2} торр паров растворов из табл. 4 (вентиль на ампулу с раствором был открыт; время горения разряда над подложками до 12 ч; подложка из КВг или с ориентирующим покрытием помещалась на входе из ампулы с раствором в реактор) указывает, с одной стороны, на идентичность составов (см. табл. 5), а с другой, если при $\nu = 1800 \text{ см}^{-1}$ в методе полива редкие полосы, то в плазмохимической пленке — размытый максимум с $\nu 1600\text{—}1900 \text{ см}^{-1}$. Практически в плазмохимической подложке отсутствует система полос с $1080, 1100, 1250, 1450, 1480 \text{ см}^{-1}$. В этой области резко прописывается лишь полоса с $\nu = 1100 \text{ см}^{-1}$. Наблюдаемое различие связано прежде всего с трудностями получения плазмохимических пленок необходимой толщины [8]. Различны и составы газовой и жидкой фаз.

Трудно предположить в газовой фазе наличие молекул типа $[\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_2\text{OH}(\text{COOCH}_3)_2]_x$, тем более в плазме с частотами неупругих столкновений электронов с атомами, например, $\text{Ag} (^1S_0) + e \rightarrow \text{Ag} (^3P_2) + e$; $K = 10^{-12} \text{ см}^3 \cdot \text{с}^{-1}$; $n\text{Ag} \cdot \langle V_e S_{ea} \rangle = \nu_{ae} = 1,5 \cdot 10^{16} \cdot 10^{-12} = 1,5 \cdot 10^4 \text{ с}^{-1}$.

Масс-спектральные исследования газовой фазы показали, что можно уверенно идентифицировать лишь диоктил-фталат, при молекулярной массе которого 390 в смесях уверенно регистрировалась масса 149, что является типичным пиком масс-спектров фталатов при ионизации электронным ударом [7]. Присутствие в масс-спектрах "кольцевых" групп целлюлоз позволяет предположить испарение при давлении 10^{-2} торр как растворителей растворов (см. табл. 4), так и молекул типа $\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_2(\text{OSCOCH}_3)_3$ с массой 288. Концентрация таких молекул не превышает $10^{-3} \%$ в растворах, 50% — в газовой фазе и 10^{14} молекул/см³ — в плазменном растворе в газовой фазе.

Полученные на ориентирующих плазмохимических пленках $33 \cdot 10^{-3} \text{ Н/м}$ пленки на основе газовой фазы (см. табл. 4), помещенные в скрещенных поляроидах микроскопа МИН-8, явно проявляли насыщенные цветные полосы, в черно-белой фотографии — чередование черных и белых полос (рис. 1). Определить тип ориентации по аналогии нематическим жидким кристаллом можно из соотношения γ_c и γ_a . При $\gamma_c > \gamma_a$ молекулы расположены параллельно в плоскости подложки, и рис. 1 свидетельствует о планарной ориентации.

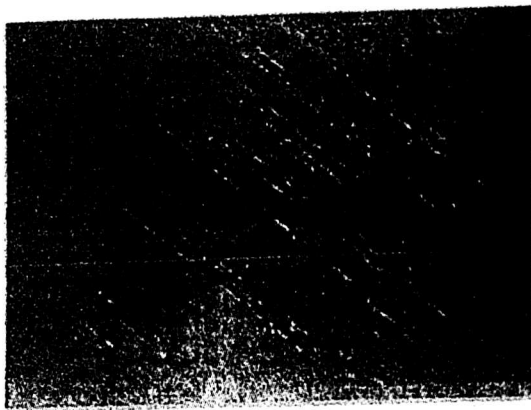


Рис. 1. Молекулярная кристаллическая структура смесей ДАЦ + ТАГ

Анализ текстур плазмы крови

В соответствии с теорией [5] подложки с коэффициентом поверхностного натяжения $\gamma_\alpha \geq 30 \cdot 10^{-3}$ Н/м при взаимодействии с жидкостью $\gamma_\alpha < \gamma_c$ ориентируют молекулы жидкого кристалла в плоскости подложки. Таким образом, при смачивании плазмой крови поверхности ориентирующих подложек можно ожидать планарную ориентацию входящих в нее молекул, а при переходе к подложкам $\gamma_\alpha > \gamma_c$ (случай $S_x N_x$) — гомеотропную.

Лучшим ориентирующим действием обладают подложки, получаемые из смеси Кг + стирол ($Kg + C_6H_5 - CH = CH_2$). Размеры капель крови, которая предварительно центрифугировалась в течение 10 мин со скоростью 2500 об/мин, на наших подложках значительно превышали 6—7 мм, что свидетельствует об их высокой ориентирующей способности. Для исследования были отобраны больные с диагнозом инфаркт миокарда с осложнениями. Контрольную группу составили студенты 4—5-го курсов физического факультета Ивановского государственного университета. В отличие от подложек [3], обработанных лецитином, стеклянных подложек, протравленных муравьиной кислотой и покрытых металлическим напылением, подложки с плазмохимическим полимер-мономерным покрытием на базе стирола ($\gamma_c = 30\text{—}35 \cdot 10^{-3}$ Н/м), для доноров выявили структуры, напоминающие псевдоизотропные текстуры с маслянистыми бороздками (ламеллярная фаза) (рис. 2), у больных с крупноочаговым инфарктом миокарда в первые дни были взяты пробы, на которых немедленно проявились крупные веерные текстуры и крупные сферолиты (рис. 3). Логично предположить влияние на текстурообразование ферментов крови, вымываемых из пораженной ткани [9]: лактатдегидрогеназа (ЛГД), аспартат-аминотрансферазы (АсАТ), креатинфосфокиназы (КФК). Практически у всех больных, перенесших инфаркт миокарда, ориентирующие подложки выявили псевдоизотропные текстуры с линейными двулучепреломляющими, иногда правильной шестиугольной формы, областями (см. рис. 3).

Характерная особенность таких текстур — правильное через 120° погасание сходящихся линий при вращении столика микроскопа со скрещенными николями. У больных с острым инфарктом миокарда наряду с такими “правильными” линейными двулучепреломляющими элементами (рис. 4), ориентирующие подложки выявили веерные текстуры, мелкие и крупные дендриты, различающиеся по величине сферолиты и игольчатые кристаллы.

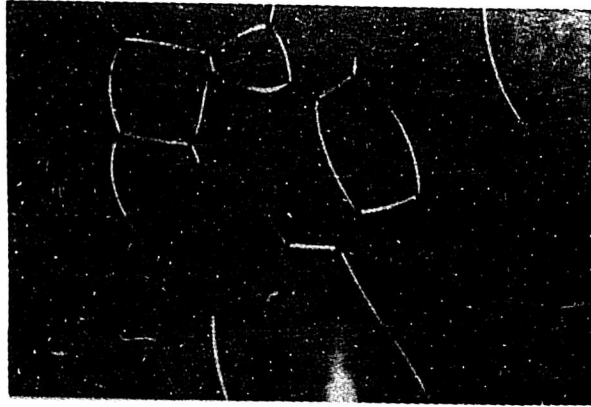


Рис. 2. Псевдоизотропная текстура с маслянистыми бороздками

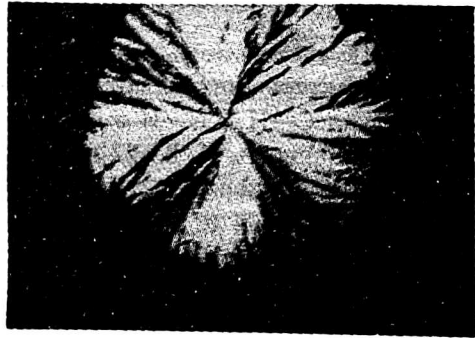


Рис. 3. Текстуры больных с крупноочаговым инфарктом миокарда (ИМ): а — веерная текстура; б — сферолит

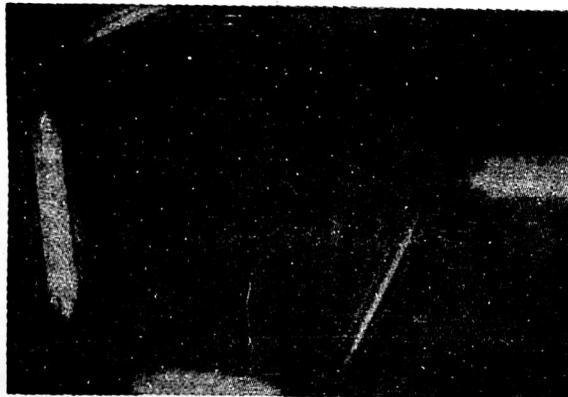


Рис. 4. "Правильная" нитчатая структура — крупноочаговый ИМ

Спектральные исследования плазмы крови

В табл. 6 приведены примеры данных Фурье-спектров. Из данных видно, что Фурье-спектроскопия может нести определенную информацию о состоянии плазмы крови человека. Так, Фурье-спектр плазмы крови донора А.Н.В., (22 года) имеет абсолютно низкие интенсивности сигнала во всем исследуемом интервале по сравнению с подозреваемым пациентом (Я.М.А., 40 лет) и больным инфарктом миокарда (П.А.Т., 48 лет).

Таблица 6

Данные Фурье-спектров (интенсивность пиков)

Ф. И. О., возраст	Волновое число											
	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
А. Н. В. (22 года)	1,6	16,6	1,8	1,6	1,3	1,2	1,2	1,2	1,3	1,6	6,3	1,2
Я. М. А. (40 лет)	20	60	25	55	55	20	18	18	10	28	30	180
П. А. Т. (48 лет)	25	5	70	60	50	30	120	40	40	500	3	100

Анализ ИК-спектров здоровых и больных людей показал, что для плазмы крови характерными являются группы аминов и амидов в области $3000-3500\text{ см}^{-1}$, групп С—Н и N—H в области $2500-3000\text{ см}^{-1}$. Следует отметить, что для группы доноров (А. Н. В., 22 года, и др.) в области $2500-3000\text{ см}^{-1}$ регистрируется полоса поглощения, которой соответствует группа Р—Н (фосфолипиды). Эта группа выявляется и у подозреваемых пациентов, не перенесших инфаркт миокарда.

ИК-спектры в области 1000 см^{-1} и ниже дают почти полное отсутствие молекулярных групп в отличие от спектров здоровых доноров, в остальном спектры имеют сходный характер и отличаются лишь интенсивностью пиков.

Заключение

В работе получены ориентирующие покрытия плазмохимическим методом на основе мономеров: стирола, метилметакрилата и целлюлозы с заданными физико-химическими свойствами.

Особый интерес представляют покрытия на основе целлюлозы. Применены неводные растворы целлюлозы. Методом масс-спектроскопии исследован состав их паров. Методами ИК-спектроскопии и Фурье-спектроскопии исследовался структурный состав целлюлозных пленок, получаемых методом полива и плазмохимическим методом на кристаллических пластинах КВг.

Методом поляризационной микроскопии выявлена молекулярная упорядоченность пленок на основе целлюлозы.

Проведен анализ жидкокристаллических текстур плазмы крови на получаемых ориентирующих подложках. У здоровых доноров выявлены псевдоизотропные текстуры с маслянистыми бороздками, у больных с крупноочаговым инфарктом миокарда — веерные текстуры, сферолиты, дендриты, игольчатые кристаллы, у больных, перенесших инфаркт миокарда, — псевдоизотропные текстуры с маслянистыми бороздками, иногда правильной шестиугольной формы при погасании сходящихся линий через 120° при вращении столика поляризационного микроскопа.

Установлена возможность применения метода Фурье-спектроскопии для качественной оценки здоровья человека по спектрам плазмы крови, возможность применения метода ИК-спектроскопии для диагностики заболеваний инфарктом миокарда. В частности, в группе здоровых доноров отмечаются полосы поглоще-

ния фосфолипидов при совершенном отсутствии таких групп у больных инфарктом миокарда.

Поляризационная микроскопия, Фурье-спектроскопия, ИК-спектроскопия дают согласующиеся друг с другом данные, позволяющие сделать правильный вывод о состоянии здоровья человека, что говорит о перспективности предложенных методов, дополнительных к традиционным.

Л и т е р а т у р а

1. Brown G. H., Wolken J. J. Liquid Crystals and Biological Structures/ Academic Press. — New York, San Francisco, London, 1979.
2. Heidel W. Wert und Grenzen Ambulanter Diagnostik bei Herzfehlerkranken. Yeb.G. F., Verlag Jena, 1979.
3. Габинский Я. Л., Яковлев Ю. Р., Яковлева С. В. Текстурированный атлас. — г. Екатеринбург/ Инфарктный центр, 1994.
4. Зайцев В. В., Каледенкова Н. В.// Международный симпозиум по теоретической и прикладной плазмохимии: Тез. докл. — Рига, 1991, с. 154.
5. Зайцев В. В., Каледенкова Н. В.// Жур. физической химии, 1993. Т. 67. № 9. С. 1896.
6. Каледенкова Н. В., Зайцев В. В.// Там же, № 12. С. 2439.
7. Карасик Ф., Клемент Р. Введение в хромато-масс-спектрометрию. — М.: Мир, 1993.
8. Hannah R. W., Swinehart L. S. Experiments Zur Infrarotspek troskoric// Uworl. Perkin — Elmer. Printed in West Germany 039323, 1979.
9. Alpert J., Francis G. Handbook of Coronazy Care. Little Browl and Company. — Weston (Toronto), London, 1993.

ORIENTATING PROPERTIES OF THE MOLECULAR PLASMACHEMICAL SYSTEMS

V. V. Zaitsev, N. V. Kaledenkova, N. B. Zaitseva, N. V. Usolseva
Ivanovo State University, Ivanovo, Russia

N. A. Savchenko, V. E. Gul
Moscow State Academy of Applied Biotechnology, Moscow, Russia

Methods of obtaining of orientating substrates in nonequilibrium plasma of glow discharge for exposing liquid crystal textures of blood's plasma has been worked up with purpose of diagnostics myocardial infarction's morbidity. The fact has been established, that solutions of cellulose provide the opportunity to obtain the regular structures. Orientating effect of thin plasmachemical coverings provides quick (as far as 24 hours) time of exposing dono's textures in aspect of liquid crystal lines (oily furrows). In blood's plasma of patients with myocardial infarction has been exposed: fan-chaped textures, spherulites, dendrites, needle shaped crystals. Patients, that had an myocardial infarction, show pseudoisotropic textures with oily furrows, sometimes of correcting hexagonal form. The perspective of investigations of Furey-spectroscopy and ordinary infrared spectroscopy has been established.