

Hydratacja wybranych lipidowych kompleksów DNA

Jacek Nizioł^{1), *)}, Jan Kobierski²⁾, Hubert Harańczyk²⁾, Dorota Zalitacz²⁾,
Edyta Hebda³⁾, Jan Pielichowski³⁾

DOI: [dx.doi.org/10.14314/polimery.2015.018](https://doi.org/10.14314/polimery.2015.018)

Streszczenie: Zbadano dwa modelowe kompleksy lipidowe DNA z surfaktantami zawierającymi jeden (CTMA) lub dwa (DDCA) łańcuchy alifatyczne. Wyznaczono kinetykę ich hydratacji oraz izotermę sorpcyjną. Wykazano, że zastosowanie lipidowego surfaktantu z udziałem dwóch łańcuchów alifatycznych ogranicza liczbę cząsteczek wody trwale związanej z helisą DNA.

Słowa kluczowe: DNA, lipidowe kompleksy DNA, biopolimery, izoterma sorpcyjna, hydratacja.

Hydration properties of selected DNA-lipid complexes

Abstract: Two model DNA-lipid complexes with the surfactants containing single (CTMA) or double (DDCA) aliphatic chains were investigated. Hydration kinetics and sorption isotherms were determined. The data were interpreted using BET and Dent sorption isotherm models. It was found that the use of lipid surfactant with double aliphatic chain reduce the number of water molecules tightly and permanently bound to DNA helix.

Keywords: DNA, DNA-lipid complex, biopolymers, sorption isotherm, hydration.

Kwas deoksyrybonukleinowy stanowi podstawowy nośnik informacji genetycznej. Pod względem chemicznym to liniowy biopolimer charakteryzujący się regularną sekwencją nukleotydów zbudowanych z trzech podstawowych fragmentów — deoksyrybozy, kwasu fosforowego oraz jednej z czterech zasad: adeniny, tyminy, cytozyny lub guaniny. Kolejność występowania tych zasad określa naturalny DNA jako kopolimer statystyczny. W warunkach normalnych DNA tworzy podwójną helisę złożoną z dwóch łańcuchów. Łańcuchy te zawierają ciągi komplementarnych zasad (pary adenina-tymina, guanina-cytozyna), łączących się ze sobą za pośrednictwem wiązań wodorowych. Stwierdzono, że sekwencja (kolejność) występowania zasad praktycznie biorąc nie wpływa na właściwości fizykochemiczne DNA, traktowanego jako materiał ciągły w skali supramolekularnej. Właściwości te różnią się jednak, nawet pod względem jakościowym, od typowych właściwości polimerów otrzymywanych syntetycznie [1, 2].

W ostatniej dekadzie zaobserwowano znaczny wzrost zainteresowania możliwością zastosowania DNA w elektronice i fotonice wykorzystującej materiały organiczne [3]. Przedstawiono wiele elementów elektronicznych bazujących na tym biopolimerze. Przykładem mogą być

diody elektroluminescencyjne [4, 5], tranzystory polowe [6] lub światłowodów.

Podstawową formą materiałów polimerowych stosowaną w elektronice i fotonice organicznej jest cienka (submikronowa) warstwa tworząca się w wyniku kontrolowanego wylewania z roztworu. Silnie hydrofilowy charakter naturalnego DNA ogranicza jego rozpuszczalność. Poza trudnymi w stosowaniu lub powodującymi degradację chemiczną rozpuszczalnikami, rozpuszcza się wyłącznie w wodzie. Woda jako rozpuszczalnik ma wiele wad ujawniających się w procesie wylewania cienkich warstw, ponadto powstające warstwy wykazują niezadowalające właściwości mechaniczne. Aby można było zastosować inny rozpuszczalnik, należy najpierw wytworzyć trwałe kompleksy DNA-lipid. Amfifilowe lipidy o charakterze cieczy jonowych, składają się z części amonowej oraz łańcucha alkilowego. W środowisku wodnym „głowa” zawierająca kation amonowy zastępuje kation sodowy, który zapewnia elektryczną neutralność DNA. W taki sposób powstaje trwały kompleks. W warunkach odpowiedniej stechiometrii reakcji, na każdą resztę fosforanową przypada jedna cząsteczka lipidu. Alifatyczne „ogony” lipidów są skierowane na zewnątrz helisy i nadają hydrofobowy charakter zewnętrznej powierzchni kompleksu. Kompleks jest nierozpuszczalny w wodzie, ale łatwo rozpuszcza się w alkoholach oraz niektórych innych rozpuszczalnikach [7]. Stwierdzono, że w wyniku utworzenia kompleksu z lipidami podstawowe właściwości struktury elektronowej DNA nie ulegają zmianom [8].

Hydrofilowa natura DNA przyczynia się do trwałego związania cząsteczek wody, którą trudno usunąć, a usu-

¹⁾ Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Fizyki i Informatyki Stosowanej, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków.

²⁾ Uniwersytet Jagielloński, Instytut Fizyki, ul. Reymonta 4, 30-059 Kraków.

³⁾ Politechnika Krakowska, Samodzielna Katedra Chemii i Technologii Polimerów, ul. Warszawska 24, 31-155 Kraków.

^{*)} nizioj@agh.edu.pl

nięcie powoduje trwałe zmiany w strukturze [9, 10]. Stwierdzono, że naturalne uwodnienie DNA wpływa na wzmocnienie mechanizmów odpowiedzialnych za transport ładunku czyli — makroskopowo — za przewodnictwo elektryczne [11, 12]. Cechę tę wykorzystano w budowie działającego ogniwa paliwowego zawierającego w swym składzie DNA [13]. Nadmiar wody i tlenu przyspiesza natomiast degradację chemiczną DNA [14]. Dlatego, aby można było konstruować wydajne elementy elektroniczne z udziałem DNA, należy ograniczać stopień niekontrolowanej hydratacji tego biopolimeru. Elektronika organiczna nie jest jedynym obszarem zastosowań lipidowych kompleksów DNA. Równie ważną dziedziną jest terapia genowa oraz transport substancji leczniczych w terapiach celowanych [15–17].

Mobilność i funkcje chemiczne zaadsorbowanych w łańcuchu DNA cząsteczek wody zmieniają się płynnie, od cząsteczek całkowicie unieruchomionych do całkowicie swobodnych, wykazujących cechy rozpuszczalnika [18]. Część badaczy, dla uproszczenia, dzieli takie cząsteczki wody na bezpośrednio związane z materiałem sorbenta — woda związana (ang. *bound water*) — oraz wszystkie pozostałe — woda swobodna (ang. *free water*) [19]. Uważa się, że pierwszy typ cząsteczek wody tworzy monowarstwę, rozumianą jako zbiór cząsteczek pokrywających sorbent w miejscach dostępnych do tworzenia wiązań, określanymi jako centra wiążące. Natura takich wiązań może być bardzo różna [20]. Opisany podział wydaje się uproszczony. Dlatego wyróżniono dodatkowo pośredni typ cząsteczek, które nie wchodzi w skład monowarstwy, ale nie wykazują właściwości cząsteczek rozpuszczalnika utrzymywanego wewnątrz sorbenta wyłącznie dzięki siłom o charakterze kapilarnym [18, 20]. Uważa się, że takie cząsteczki wody układają się w kolejne monowarstwy, w wyniku związania z cząsteczkami wody znajdującymi się bliżej powierzchni sorbenta [21]. W dostępnej literaturze autorzy używają wielu określeń rozróżniających te trzy typy cząsteczek wody. Brakuje tu obowiązującej normy [18, 20–22]. W dalszym tekście będą stosowane terminy „woda bardzo ściśle związana”, „woda ściśle związana” oraz „woda luźno związana”, używane przez autorów niniejszej pracy konsekwentnie we wszystkich pracach poświęconych hydratacji materiałów biologicznych, np. [23].

Izoterma sorpcyjna wyraża zależność między masą wody zaadsorbowaną przez próbkę a względną prężnością pary wodnej w otoczeniu. Badaną próbkę umieszczoną w atmosferze o ściśle określonej wilgotności, waży się i ocenia przyrost jej masy aż do chwili uzyskania nasycenia [24]. Wyznaczanie izotermy sorpcyjnej jest najstarszą metodą stosowaną w tego typu badaniach DNA [25]. Mimo że jest bardzo pracochłonna, liczni badacze stosują ją ze względu na dokładność, czasem łączą ją z innymi technikami pomiarowymi [26].

Przyrost masy próbki oblicza się w odniesieniu do jej suchej masy. Zwykle kształt izotermy sorpcyjnej można zaliczyć do jednej z pięciu grup [27]. Zaproponowano

wiele modeli empirycznych lub pół-empirycznych wiążących kształt izotermy z postulowanym mechanizmem hydratacji [28, 29].

Izotermy sorpcyjne układów, takich jak omawiane w niniejszej pracy, najczęściej interpretuje się w ramach modelu BET [30] lub nowszego, będącego jego rozwinięciem — modelu GAB-Dent [31, 32]. Model ten określa zależność stopnia hydratacji w warunkach nasycenia, w postaci sigmoidalnej krzywej. Krzywą tę opisuje równanie (1) podane przez Denta [32] lub — w alternatywnej formie — zaproponowane przez Van den Berga w postaci (2) [31]. Bardziej intuicyjna jest interpretacja modelu przedstawiona przez Denta [33]. Zakłada ona, że woda hydratacyjna układu się warstwowo na powierzchni sorbenta. Jej cząsteczki dzielą się na dwa typy. Pierwszy stanowią cząsteczki bezpośrednio związane z centrami wiążącymi sorbenta, tworzące tzw. pierwszą monowarstwę (ang. *first layer*). Do drugiego typu zalicza się pozostałe cząsteczki wody, które przyłączają się do cząsteczek wody już związanych i tworzą warstwy wtórne (ang. *secondary layers*). Pojedyncza cząsteczka H_2O może wiązać się tylko z jedną cząsteczką z warstwy położonej niżej i jedną z warstwy położonej wyżej. Kolejne warstwy nie muszą być zapełniane sekwencyjnie, czyli po całkowitym wypełnieniu warstwy leżącej niżej. Zakłada się, że cząsteczki należące do warstw wtórnych są identyczne pod względem termodynamicznym, lecz inne niż cząsteczki pierwszej monowarstwy i cząsteczki tworzące fazę ciekłą. Jest to podstawowa różnica odróżniająca ten model od modelu BET, w którym warstwy wtórne są identyfikowane z cząsteczkami fazy ciekłej.

$$\frac{y}{y_m} = \frac{b_0 a_w}{(1 - b a_w)(1 - b a_w + b_0 a_w)} \quad (1)$$

$$M = \frac{C K a_w M_0}{(1 - K a_w)(1 - K a_w + C K a_w)} \quad (2)$$

gdzie: y — całkowita liczba zaadsorbowanych cząsteczek wody, y_m — maksymalna możliwa liczba cząsteczek stanowiących pierwszą monowarstwę przy $RH = 100\%$, a_w — wielkość określająca stosunek prężności pary wodnej w materiale do prężności pary nad powierzchnią wody w takich samych warunkach termodynamicznych (ang. *water activity*); w warunkach eksperymentu opisywanego w niniejszej pracy, za a_w można przyjąć wyrażoną ułamkiem wilgotność względną atmosfery inkubacji, b_0 — stosunek liczby obsadzonych do liczby nieobsadzonych centrów wiążących sorbenta przy $RH = 100\%$ (b_0 można więc traktować jako miarę hydrofobowości powierzchni sorpcyjnej), b — prawdopodobieństwo związania cząsteczki wody z inną cząsteczką wody w takich warunkach.

W równoważnym równaniu (2) $M = (m - m_s)/m_s$, gdzie m — masa próbki uwodnionej w warunkach równowagi, m_s — sucha masa próbki, M_0 — maksymalna masa wody w pierwszej monowarstwie (wyrażona w jednostkach suchej masy) K , C — bezwymiarowe stałe termodynamiczne.

Stwierdzono, że w przypadku wielu substancji model GAB-Dent przewiduje zaniżone wartości M dla $a_w > 0,9$. W celu rozwiązania tego problemu zaproponowano wiele modyfikacji. Najważniejsze z nich to modyfikacja GAB-Timmerman [34, 35] oraz GAB-Viollaz [36].

Model GAB-Timmerman uwzględnia trzeci rodzaj cząsteczek wody hydratacyjnej, wykazujących identyczne właściwości termodynamiczne jak cząsteczki fazy ciekłej. Prowadzi do stosunkowo skomplikowanego równania (3), w którym wyrazy H oraz H' zależą od bezwymiarowego parametru h . Gdy $h \rightarrow \infty$ równanie (3) przechodzi w (2).

$$M = \frac{CKa_w HH'M_0}{(1 - Ka_w)[1 + (CH - 1)Ka_w]} \quad (3)$$

$$H = 1 + \frac{1 - K}{K} \cdot \frac{(Ka_w)^h}{1 - a_w} \quad (4)$$

$$H' = 1 + \frac{H - 1}{H} \cdot \left(\frac{1 - Ka_w}{1 - a_w} \right) [h + (1 - h)a_w] \quad (5)$$

Model GAB-Viollaz jest modelem czysto empirycznym. Dodatkowy (w stosunku do modelu podstawowego) człon ze stałą K_2 , poprawia jakość dopasowania dla większych wartości a_w (6).

$$M = \frac{CKM_0 a_w}{(1 - Ka_w)[1 + (C - 1)Ka_w]} + \frac{CKM_0 K_2 a_w^2}{(1 - Ka_w)(1 - a_w)} \quad (6)$$

Nowszym, bardziej ogólnym modelem jest GDW [37]. Zakłada istnienie w sorbencie pierwotnych miejsc wiążących, z których każde może związać tylko jedną cząsteczkę wody, a każda z nich może się stać wtórnym miejscem wiążącym. Podstawową różnicą w odniesieniu do poprzednich modeli jest założenie, że nie każda cząsteczka wody przyłączona do pierwotnego miejsca wiążącego staje się automatycznie wtórnym miejscem wiążącym. Drugą różnicą jest dopuszczenie możliwości przyłączania do wtórnych miejsc wiążących więcej niż jednej cząsteczki wody. Model ten przewiduje kształt izotermy sorbcyjnej w postaci równania (7).

$$M = \frac{mKa_w}{1 + Ka_w} + \frac{1 - k(1 - w)a_w}{1 - ka_w} \quad (7)$$

Parametr w określa ułamek zaadsorbowanych na pierwotnych centrach wiążących cząsteczek wody, które stały się wtórnymi centrami wiążącymi. Stałe K oraz k odnoszą się do kinetyki zapełnienia, odpowiednio, pierwotnych i wtórnych miejsc wiążących, m to gęstość miejsc wiążących na powierzchni sorbenta.

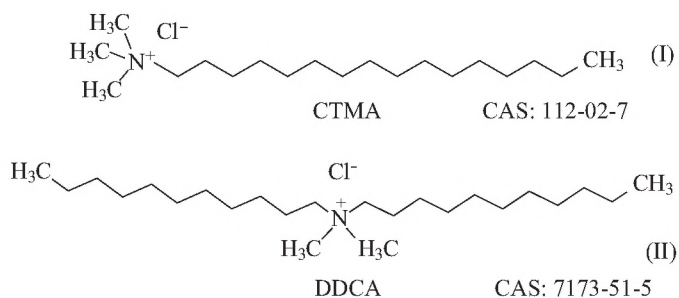
Wpływ strukturalnej wody w lipidowych kompleksach DNA na ich właściwości fizyczne jest zjawiskiem jeszcze niezbyt dobrze poznany. Niniejsza praca miała na celu lepsze zrozumienie procesu hydratowania takich kompleksów.

Kontrolowanemu uwadnianiu poddano dwa kompleksy lipidowe DNA, w których lipidy wykazywały różną funkcjonalność łańcuchów alifatycznych. Badano kinetykę hydratacji próbek oraz wyznaczono izotermy sorpcyjne.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Materiał

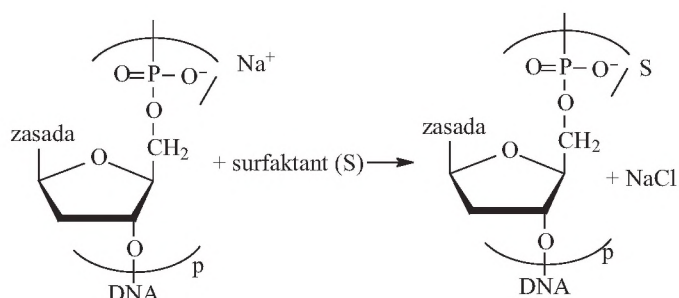
W badaniach wykorzystano DNA pozyskane ze spermy łosia i dostarczone przez CIST (Chitose Institute of Science and Technology, Japonia) oraz dostępne w handlu surfaktanty: chlorek heksadecylotrimetyloamoniowy (CTMA) (I) oraz chlorek didecyldimetyloamoniowy



(DDCA) (II). Taki wybór miał umożliwić ocenę wpływu obecności podwójnego lub pojedynczego łańcucha alifatycznego lipidu o takim samym ciężarze cząsteczkowym na hydratację całego kompleksu.

Otrzymywanie kompleksów lipidowych DNA

Kompleksy lipidowe DNA uzyskano w wyniku mieszania rozpuszczonego Na^+ -DNA (0,06 g) w 10 cm^3 wody dejonizowanej w ciągu 12 h w temperaturze pokojowej (otrzymany roztwór był przezroczysty, bezbarwny, lecz o dużej lepkości, zawierał zamknięte pęcherzyki powietrza). Aby zmniejszyć lepkość roztworu poddano go sonikacji w myjce ultradźwiękowej. Ta standardowa metoda wykorzystywana do fragmentacji DNA, dzięki doborowi energii ultradźwięków oraz czasu sonikacji pozwala w kontrolowany i stosunkowo powtarzalny sposób zmniejszyć ciężar cząsteczkowy DNA [38]. Porcję sporządzonego roztworu DNA przelewano do zlewki o poj. 50 cm^3 , którą umieszczano w myjce ultradźwiękowej generującej ultradźwięki o częstotliwości 40 kHz. Proces prowadzono przez 100 min, w temperaturze pokojowej.



Schemat A

Przyjmuje się, że wydajność przyłączania kationowych surfaktantów do reaktywnych miejsc jest lepsza, gdy łańcuchy DNA są krótsze.

Roztwór surfaktantu w wodzie dodawano do wodnego roztworu DNA, intensywnie mieszając. Po wkropleniu całości układ mieszano jeszcze ok. doby. W wyniku reakcji (schemat A) wytrącił się osad DNA-surfaktant. Osad odsączano i przemywano wodą do chwili uzyskania czystego przesączu, a następnie suszono w temperaturze pokojowej.

Metody badań

- Budowę kompleksu DNA-surfaktant badano metodą spektroskopii w podczerwieni.
- Temperaturę rozkładu termicznego próbek DNA-surfaktant wyznaczono metodą termogravimetryczną (TGA) opisaną w pracy [39].

T a b e l a 1. Prężności pary wodnej w temp. 25 °C nad nasyconymi roztworami soli, wykorzystywanymi do kontrolowanej hydratacji próbek DNA-surfaktant

T a b l e 1. Water vapour pressures at 25 °C over saturated solutions of salts used for a controlled hydration of DNA-surfactant samples

Substancja	RH, %
Kwas fosforowy(V) (H_3PO_4)	9 [40]
Octan potasu (CH_3COOK)	23 [41]
Chlorek wapnia (CaCl_2)	32 [40]
Węglan potasu (K_2CO_3)	43 [41]
Dichromian sodu(VI) ($\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)	54 [41]
Azotan(V) amonu (NH_4NO_3)	63 [40]
Tiosiarczan sodu ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)	81 [42]
Chromian(IV) potasu (K_2CrO_3)	88 [43]
Siarczan(VI) sodu (Na_2SO_4)	93 [44]
Siarczan(VI) potasu K_2SO_4	97 [41]

— Oznaczenie wartości suchej masy: bezpośrednio przed badaniami kinetyki hydratacji, próbkę przeznaczoną do badania (przechowywaną wcześniej w warunkach pokojowych) ważono, a następnie inkubowano przez 240 h nad żelem krzemionkowym w eksykatorze (przyjmuje się, że w takich warunkach wilgotność względna RH wynosi 0 %). Tak przygotowaną próbkę hydratowano w zamkniętym eksykatorze nad nasyconym roztworem sporządzonej uprzednio wybranej soli. Roztwór nasycony otrzymywano w wyniku rozpuszczania soli w dejonizowanej wodzie w $T = 40^\circ\text{C}$ do chwili, kiedy rozpuszczalność ustawała. Dodawano wtedy do roztworu tyle substancji, ile już się rozpuściło. Całość ochładzano do temperatury pokojowej, równej w trakcie pomiaru $T = 25 \pm 1^\circ\text{C}$. W tabeli 1 zamieszczono spis wykorzystywanych soli wraz z literaturowymi wartościami

względnych prężności pary wodnej (RH) nad ich roztworami nasyconymi, potwierdzonymi w bezpośrednim pomiarze za pomocą higrometru laboratoryjnego (firmy LAB-EL, typ 705A z sondą typ 701).

Podczas inkubowania próbki nad powierzchnią wody dejonizowanej ($RH = 100\%$), zachodziło zjawisko pęcznienia, dlatego wynik ten pominięto w dalszych rozważaniach. Po wyjęciu z eksykatora próbkę ogrzewano w temp. 70°C w suchym powietrzu. Ważono ją po 30 min suszenia a potem kontrolnie po upływie 300 h. Ważenie kontrolne nie wykazywało dodatkowych zmian masy próbki, wykraczających poza dokładność metody. Tak wyznaczoną wartość przyjęto jako suchą masę m_s . Aby uniknąć możliwych zmian strukturalnych materiału na skutek ogrzewania [45] zastosowano stosunkowo niską temperaturę suszenia (70°C). Jak wskazują pomiary TGA [39], jest możliwe skuteczne usuwanie wody w taki sposób. Nie następuje wówczas mierzalny spadek masy tak przygotowanej próbki aż do temperatury, w której zaczyna się jej rozkład termiczny. Trzeba jednak zaznaczyć, że cząsteczki wody w DNA pełnią funkcje strukturalne i części z nich nie da się usunąć z lipidowych kompleksów DNA w temperaturze niższej niż temperatura rozkładu termicznego. Taki wybór metody wyznaczania suchej masy można traktować jako arbitralny, jednak inne sposoby usuwania wody z układów biologicznych (na przykład technika liofilizacji kriogenicznej), również nie dają pewności usunięcia wszystkich cząsteczek wody zawartych w materiale. Temperatura ogrzewania równa 70°C przez wielu autorów jest wymieniana jako standardowa w procesie dehydratacji układów organicznych, np. [21].

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Budowa kompleksów DNA-surfaktant

W widmie próbek DNA-surfaktant zaobserwowano obecność pasm charakterystycznych dla naturalnego DNA, pasm pochodzących od symetrycznych drgań rozciągających grupy fosforanowej oraz drgań charakterystycznych dla grup metylenowych. Obecność w widmie dwóch ostatnich pasm świadczy o wytworzeniu się stabilnych kompleksów lipidowych DNA.

Kinetyka hydratacji kompleksów DNA-surfaktant

Stwierdzono, że hydratacja kompleksów DNA, suchych w atmosferze powietrza, wynosiła 7,5–8,0 %, co stanowi wartość mniejszą niż w wyjściowym DNA (15 %).

Wszystkie procedury numeryczne opisane w dalszej części tekstu przeprowadzono z wykorzystaniem programu Origin 9.5 Pro. Kinetykę procesu hydratacji w atmosferze o niewielkiej wilgotności względnej (RH) opisuje w zadowalający sposób równanie (8). Parametr A_0^h odpowiada zawartości wody nieusuniętej w procesie

inkubacji próbki nad żelem krzemionkowym, wyznaczone wartości A_0^h praktycznie biorąc nie zależą od wilgotności względnej atmosfery inkubacyjnej, wartość uśredniona dla wszystkich RH jest zatem obciążona niewielkim odchyleniem standardowym (tabela 2). Frakcję wody opisywaną parametrem A_0^h można więc identyfikować jako wodę bardzo ściśle związaną.

$$\frac{\Delta m(t)}{m_s} = \frac{[m(t) - m_s]}{m_s} = A_0^h + A_1^h \cdot \left[1 - \exp\left(-\frac{t}{t_1^h}\right) \right] \quad (8)$$

T a b e l a 2. Uśrednione wartości parametrów kinetyki hydratacji kompleksu z odchyleniem standardowym

T a b l e 2. Averaged values of parameters of hydration kinetics with standard deviation

Parametr	DNA-CTMA	DNA-DDCA
A_0^h	$0,061 \pm 0,004$	$0,033 \pm 0,003$
$A_1^h(maks)$	$0,039 \pm 0,011$	$0,063 \pm 0,004$
t_1^h, h	$1,0 \pm 0,2$	$0,6 \pm 0,04$
t_2^h, h	$19,1 \pm 3,2$	$20,9 \pm 2,9$

Graniczne wartości wilgotności względnej atmosfery, dla których dopasowanie według równania (8) przestało być zadowalające, wynosiły 32 % w przypadku DNA-CTMA oraz 63 % w odniesieniu do DNA-DDCA. Wybór (dokonany arbitralnie) tych wartości wynika ze skokowej poprawy dopasowania do danych pomiarowych w równaniu (9) o dwóch eksponentach, zastępujących równanie (8). Wskazane progi RH należy jednak traktować jako orientacyjne ze względu na brak w stosowanej metodzie pomiarowej możliwości zmiany w spo-

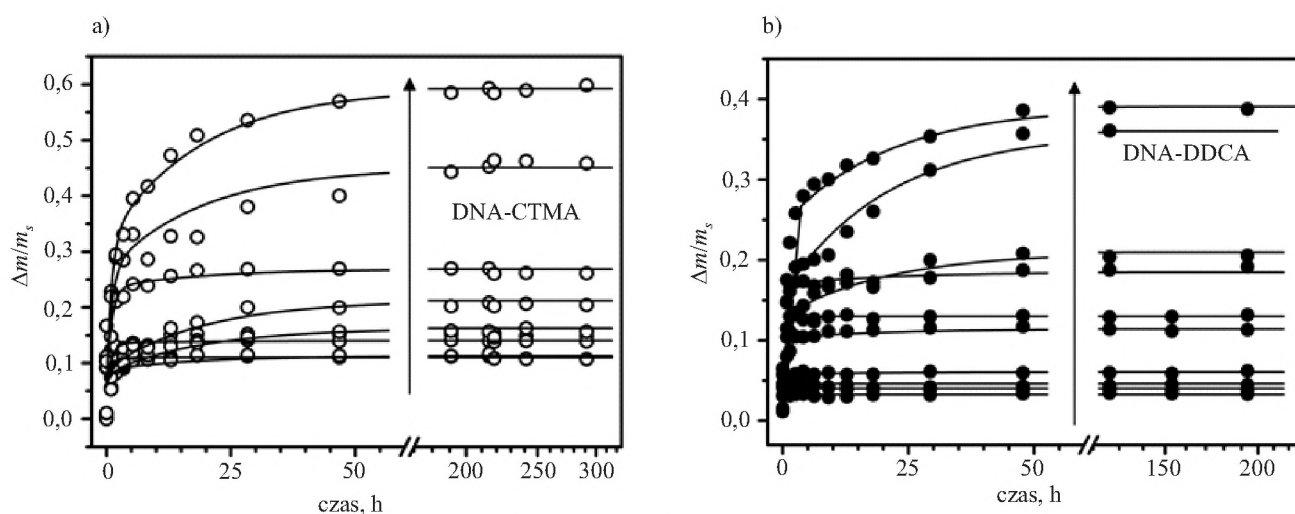
sób ciągły prężności pary wodnej. Można przyjąć, że każda z obu eksponent wyraża hydratację innego rodzaju.

$$\frac{\Delta m(t)}{m_s} = \frac{[m(t) - m_s]}{m_s} = A_0^h + A_1^h \cdot \left[1 - \exp\left(-\frac{t}{t_1^h}\right) \right] + A_2^h \cdot \left[1 - \exp\left(-\frac{t}{t_2^h}\right) \right] \quad (9)$$

Konieczność wprowadzenia składowej opisywanej drugą eksponentą wynika z faktu, że została wyczerpana zdolność do opisu sorpcji za pomocą pierwszej eksponenty. Wartość parametru A_1^h osiągnęła maksymalną możliwą wartość $A_1^h(maks.)$ i wyraża udział wody ściśle związanej w warunkach nasycenia. W tabeli 2 podano wartości średnie $A_1^h(maks.)$. Wartość parametru A_2^h zwiększała się sukcesywnie wraz ze wzrostem RH otoczenia i dlatego nie wyznaczono $A_2^h(maks.)$. Przeszkodą dodatkową było występowanie zjawiska pęcznienia próbek w warunkach RH bliskiej 100 %.

Stosunkowo niewielkie różnice czasów t_1^h oraz t_2^h wyznaczonych w odniesieniu do próbek tego samego materiału pozwalają sądzić, że opisują one kinetykę procesów w dużym stopniu niezależnych od przypadkowych różnic w morfologii badanego materiału. W tabeli 2 podano wartości czasów t_1^h oraz t_2^h uśrednione dla wszystkich dopasowań.

Wartości t_2^h są ok. dwudziestokrotnie większe niż t_1^h . Fakt ten sugeruje, że obecność frakcji wody opisywanej przez t_2^h jest efektem działania sił kapilarnych [46]. Można ją więc identyfikować jako wodę luźno związaną. Wyznaczone wartości czasów t_2^h są identyczne (z dokładnością niepewności statystycznej). Świadczy to o zbliżonej, a nawet identycznej dostępności hydrodynamicznej obu rodzajów kompleksów DNA-surfaktant — własność



Rys. 1. Względna zmiana masy próbek: a) DNA-CTMA, b) DNA-DDCA w czasie na skutek kontaktu z powietrzem o różnej prężności pary wodnej; wilgotność względna powietrza zwiększa się w kierunku oznaczonym strzałką i przyjmuje wartości: 23 %, 32 %, 44 %, 52 %, 63 %, 76 %, 88 %, 93 % oraz 97 %

Fig. 1. Relative change in sample mass versus time as a result of contact with air at different water vapour pressures: a) DNA-CTMA, b) DNA-DDCA; relative air humidity increases in the direction of arrow and assumes the values: 23 %, 32 %, 44 %, 52 %, 63 %, 76 %, 88 %, 93 % and 97 %

ci rozumianej jako zdolność cząsteczek wody do penetracji w głąb próbki. Kinetykę hydratacji oraz dopasowanie wg (8) oraz (9) przedstawia rys. 1.

Z porównania wartości parametrów A_0^h , A_1^h (maks.) oraz t_1^h , odnoszących się do próbek DNA-CTMA i DNA-DDCA, wynika, że dostęp cząsteczek wody do pierwotnych miejsc wiążących jest znacznie trudniejszy w przypadku kompleksu DNA z DDCA – surfaktantem zawierającym dwie grupy alifatyczne. Liczba cząsteczek wody związanej w DNA/DDCA jest jednak większa i próbka szybciej osiąga poziom nasycenia. Z tego faktu wynika większa stabilność czasowa kompleksu DNA-DDCA, gdyż woda bardzo ściśle związana ma znacznie mniejszy wpływ na procesy degradacyjne.

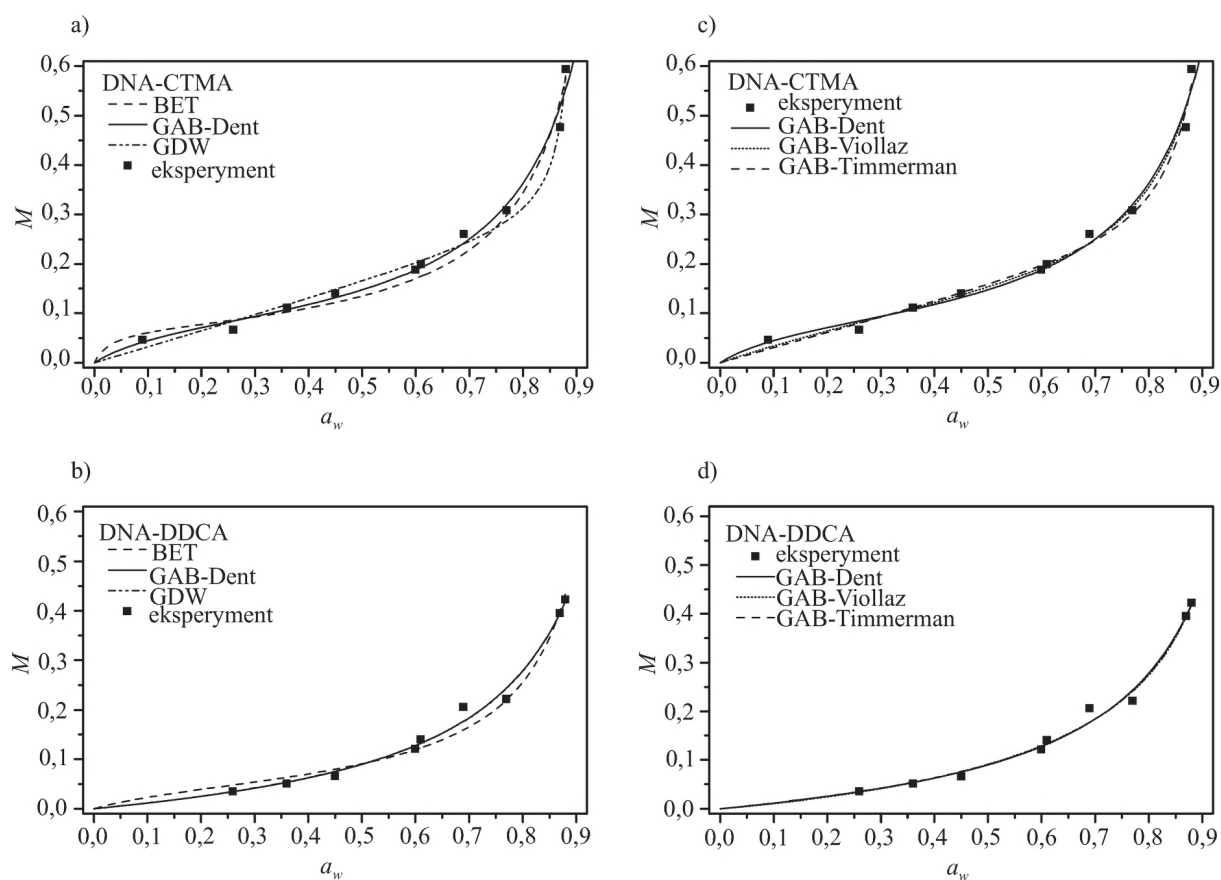
Rysunek 2 przedstawia izotermy sorpcyjne kompleksów DNA-CTMA (2a, c) oraz DNA-DDCA (2b, d) oraz dopasowanie ich do uzyskanych danych doświadczalnych. Ze względu na niepewność dotyczącą wartości a_w przy których rozpoczyna się pęcznienie, dopasowania ograniczono do zakresu $a_w \leq 0,9$.

Na rys. 2a, b można zauważyć, że dopasowanie zgodnie z modelem BET w istotnym stopniu się różni od dopasowania za pomocą modeli GAB-Dent oraz GDW, różna jest też wartość współczynnika determinacji R^2 , równa

0,96 w porównaniu z wartością 0,99 odpowiadającą dwóm ostatnim przypadkom. Zastosowanie modelu GAB-Dent i GDW do danych dotyczących kompleksu DNA-CTMA prowadzi do nieco innych, choć statystycznie równoważnych izoterm sorpcyjnych. W odniesieniu do DNA-DDCA uzyskane izotermy praktycznie biorąc się pokrywają.

Rysunek 2c, d przedstawia izotermy sorpcyjne wyznaczone na podstawie rozszerzonych modeli GAB-Timmerman oraz GAB-Viollaz. W przypadku DNA-DDCA krzywe się pokrywają, a w przypadku DNA-CTMA istniejące między nimi różnice są statystycznie nieistotne. Do dalszych rozważań pozostawiono więc model GAB-Dent jako najprostszy. W tabeli 3 przedstawiono wyniki liczbowe dopasowania izotermy sorpcyjnej za pomocą równania Denta.

Większa wartość b_0 dla DNA-DDCA sugeruje, że centra wiążące w tym kompleksie są wysycane wodą w większym stopniu niż centra wiążące w DNA-CTMA. Podobnie, większa wartość b oznacza, że cząsteczki wody tworzą warstwy wtórne. Można zatem uznać kompleks DNA-DDCA za bardziej hydrofilowy. Z drugiej strony jednak, pojemność pierwszej monowarstwy wody (M_0) w przypadku DNA-DDCA jest prawie dwukrotnie



Rys. 2. Izotermy sorpcyjne kompleksów: a) DNA-CTMA, b) DNA-DDCA, c, d) dopasowania według modeli BET, GAB-Dent oraz GDW; dopasowania za pomocą modelu GAB-Dent i jego modyfikacji – GAB-Viollaz oraz GAB-Timmermann

Fig. 2. Sorption isotherms of the complexes: a) DNA-CTMA, b) DNA-DDCA, c, d) fitted to BET, GAB-Dent and GDW models; fittings according to GAB-Dent, its modification – GAB-Viollaz and GAB-Timmermann

mniejsza niż M_0 DNA-CTMA. Najprawdopodobniej woda nasycająca pierwotne centra wiążące kompleksu przyłącza się bezpośrednio do helisy DNA lub blisko niej, ponieważ fragmentami cząsteczek surfaktantu zwróconymi na zewnątrz są grupy alifatyczne. Mniejsza liczba cząsteczek wody w otoczeniu helisy DNA wpływa na większą odporność kompleksu DNA-DDCA na rozkład, ponadto kolejne warstwy zaadsorbowanej wody tworzą ściślej wypełnione powłoki co, być może, stabilizuje cały układ.

T a b e l a 3. Wyniki dopasowań parametrów izoterm sorpcyjnej za pomocą równań Denta

T a b l e 3. Results of the fittings of sorption isotherm parameters using Dent equations

Parametr	DNA-CTMA	DNA-DDCA
b	$0,81 \pm 0,04$	$0,93 \pm 0,01$
b_0	$14,5 \pm 1,5$	42 ± 3
M_0	$0,10 \pm 0,02$	$0,043 \pm 0,006$

PODSUMOWANIE

Zbadano kinetykę hydratacji dwóch kompleksów lipidowych DNA. Wykazano, że zastosowanie lipidowego surfaktantu zawierającego dwa łańcuchy alifatyczne ogranicza liczbę cząsteczek wody wiążącej się trwale z helisą DNA. Wynik ten ma duże znaczenie ze względu na możliwość zwiększenia stabilności czasowej produktów z udziałem DNA stosowanych zarówno w elektronice organicznej, jak i w medycynie.

Niniejsza praca była finansowana ze środków na działalność statutową, otrzymanych z Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

LITERATURA

- Saenger W.: "Principles of Nucleic Acid Structure", Springer 1983.
- Dobrowolski J.C.: *Polimery* **2003**, 48, 3.
- Steckl A.J., Spaeth H., You H., Gomez E., Grote J.: *OPN* **2011**, 22, 35.
- Hagen J.A., Li W., Steckl A.J., Grote J.G.: *Appl. Phys. Lett.* **2006**, 88, 171 109. <http://dx.doi.org/10.1063/1.2197973>
- Gomez E.F., Spaeth H.D., Steckl A.J., Grote J.G.: *Proc. SPIE* **2011**, 8103.
- Stadler P., Oppelt K., Singh T.B., Grote J.G., Schwodiauer R., Bauer S., Piglmayer-Brezina H., Bauerle D., Sariciftci N.S.: *Org. Electron.* **2007**, 8, 648. <http://dx.doi.org/10.1016/j.orgel.2007.05.003>
- Okahata Y., Tanaka K.: *Thin Solid Films* **1996**, 284–285, 6. [http://dx.doi.org/10.1016/S0040-6090\(96\)08830-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0040-6090(96)08830-X)
- Wang L., Yoshida J., Ogata N.: *Chem. Mater.* **2001**, 13, 1273. <http://dx.doi.org/10.1021/cm000869g>
- Prive G.G., Heinemann U., Chandrasegaran S., Kan L.S., Kopka M.L., Dickerson R.E.: *Science* **1987**, 238, 498. <http://dx.doi.org/10.1126/science.3310237>
- Tanaka K., Okahata Y.: *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 10 679. <http://dx.doi.org/10.1021/ja9617855>
- Kutnjak Z., Filipic C., Podgornik R., Nordenskiöld L., Korolev N.: *Phys. Rev. Lett.* **2003**, 90, 098101/1. <http://dx.doi.org/10.1103/PhysRevLett.90.098101>
- Briman M., Armitage N.P., Helgren E., Gruner G.: *Nano Lett.* **2004**, 4, 733. <http://dx.doi.org/10.1021/nl049961s>
- Matsuo Y., Kumasaka G., Saito K., Ikehata S.: *Solid State Commun.* **2005**, 133, 61. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ssc.2004.09.055>
- Bonnet J., Colotte M., Coudy D., Couallier V., Portier J., Morin B., Tuffet S.: *Nucleic Acids Res.* **2010**, 38, 1531. <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkp1060>
- Pedroso de Lima M.C., Simões S., Pires P., Faneca H., Düzgüneş N.: *Adv. Drug Deliver. Rev.* **2001**, 47, 277. [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-409X\(01\)00110-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-409X(01)00110-7)
- Cheung W., Pontoriero F., Taratula O., Chen A.M., He H.: *Adv. Drug Deliver. Rev.* **2010**, 62, 633. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2010.03.007>
- Caracciolo G., Amenitsch H.: *Eur. Biophys. J.* **2012**, 41, 815. <http://dx.doi.org/10.1007/s00249-012-0830-8>
- Barbosa-Cánovas G.V., Fontana Jr. A.J., Schmidt S.J., Labuza T.P.: "Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications", Blackwell Publishing 2007.
- Franks F.: "Hydration Phenomena in Colloidal Systems, Water Science Reviews", Cambridge University Press 1989.
- Kinsella J.E., Fox P.F., Rockland L.B.: *CRC Critical Rev. Food Sci. Nutr.* **1986**, 24, 91. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398609527434>
- Troller J.A., Christian J.H.B.: "Water Activity and Food", Academic Press 1978.
- Basu S., Shivhare U.S., Mujumdar A.S.: *Drying Technol.* **2006**, 24, 917. <http://dx.doi.org/10.1080/07373930600775979>
- Harańczyk H., Kobierski J., Nizioł J., Hebda E., Pielichowski J., Zalizcz D., Marzec M., El-Ghayoury A.: *J. Appl. Phys.* **2013**, 113, 044702. <http://dx.doi.org/10.1063/1.4789011>
- Roos Y.H.: "Water Activity and Glass Transition" in: "Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications" (Eds. Barbosa-Cánovas G.V., Fontana Jr. A.J., Schmidt S.J., Labuza T.P.), Blackwell Publishing 2007.
- Falk M., Hartman K.A., Lord R.C.: *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, 84, 3843. <http://dx.doi.org/10.1021/ja00879a012>
- Guzmán M.R., Liquier J., Taillandier E.: *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2005**, 23, 331. <http://dx.doi.org/10.1080/07391102.2005.10507068>
- Brunauer S., Deming L.S., Deming W.E., Teller E.: *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, 62, 1723. <http://dx.doi.org/10.1021/ja01864a025>
- Chirife J., Iglesias H.A.: *Int. J. Food Sci. Technol.* **1978**, 13, 159. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1978.tb00792.x>
- Furmaniak S., Terzyk A.P., Gołębiewski R., Gauden P.A., Czepirski L.: *Food Res. Int.* **2009**, 42, 1203. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2009.06.004>

- [30] Brunauer S., Emmett P.H., Teller E.: *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, 60, 309. <http://dx.doi.org/10.1021/ja01269a023>
- [31] Van den Berg C.: "Development of B.E.T.-Like Models for Sorption of Water on Foods, Theory and Relevance" in: "Properties of Water in Foods" (Eds. Simatos D., Multon J.L.), Springer Netherlands 1985, p. 119.
- [32] Dent R.W.: *Textile Res. J.* **1977**, 47, 145. <http://dx.doi.org/10.1177/004051757704700213>
- [33] Dent R.W.: *Polym. Eng. Sci.* **1980**, 20, 286. <http://dx.doi.org/10.1002/pen.760200411>
- [34] Timmermann E.O., Chirife J.: *J. Food Eng.* **1991**, 13, 171. [http://dx.doi.org/10.1016/0260-8774\(91\)90025-N](http://dx.doi.org/10.1016/0260-8774(91)90025-N)
- [35] Timmermann E.O.: *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1989**, 85, 1631. <http://dx.doi.org/10.1039/F19898501631>
- [36] Viollaz P.E., Rovedo C.O.: *J. Food Eng.* **1999**, 40, 287. [http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774\(99\)00066-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774(99)00066-7)
- [37] Furmaniak S., Terzyk A.P., Gauden P.A.: *J. Food Eng.* **2007**, 82, 528. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.03.012>
- [38] Elsner H.I., Lindblad E.B.: *DNA* **1989**, 8, 697. <http://dx.doi.org/10.1089/dna.1989.8.697>
- [39] Nizioł J., Sniechowski M., Hebda E., Jancia M., Pielichowski J.: *Chem. Chem. Technol.* **2011**, 5, 397.
- [40] Wexler A., Hasegawa S.: *J. Res. Natl. B. Stand.* **1954**, 53, 19. <http://dx.doi.org/10.6028/jres.053.003>
- [41] Greenspan L.: *J. Res. Natl. B. Stand. A.* **1977**, 81A, 89. <http://dx.doi.org/10.6028/jres.081A.011>
- [42] Apelblat A., Korin E.: *J. Chem. Thermod.* **1998**, 30, 459. <http://dx.doi.org/10.1006/jcht.1997.0311>
- [43] Young J.F.: *J. Appl. Chem.* **1967**, 17, 241. <http://dx.doi.org/10.1002/jctb.5010170901>
- [44] Brien F.E.M.O.: *J. Sci. Instr.* **1948**, 25, 73. <http://dx.doi.org/10.1088/0950-7671/25/3/305>
- [45] Nizioł J., Dendzik M., Sitarz M., Hebda E., Pielichowski J., Łojewska J., Rogulska A., Bakasse M.: *Opt. Mater.* **2013**, 36, 36. <http://dx.doi.org/10.1016/j.optmat.2013.06.022>
- [46] Guillard V., Bourlieu C., Gontard N.: "Food Structure and Moisture Transfer: A Modelling Approach", Springer 2013.

Wersja skorygowana
22 IV 2014 r.

W kolejnym zeszycie ukaza się m.in. następujące artykuły:

- R. Szweda, D. Lipowska, J. Silberring, A. Dworak, B. Trzebicka — Polimery w macierzach peptydowych/białkowych (*j. ang.*)
- D. Chelminiak, M. Ziegler-Borowska, H. Kaczmarek — Nanocząstki magnezytu powlekane polimerami do zastosowań biomedycznych. Cz. II. Nanocząstki Fe₃O₄ z powłokami z polimerów syntetycznych
- Y.-H. Cai, Y.-H. Zhang, L.-S. Zhao — Wpływ modyfikowanego węglanu wapnia na termiczne i mechaniczne właściwości biodegradowalnego poli(kwasu L-mlekowego) (*j. ang.*)
- A. Nassar, A.A. Yehia, S.H. El-Sabbagh — Ocena fizyko-mechanicznych i elektrycznych właściwości kauczuku butadienowo-styrenowego napełnionego proszkami aluminium lub siarczanu(VI) ceru(IV) (*j. ang.*)
- K. Wrześniewska-Tosić, S. Zajchowski, J. Ryszkowska, J. Tomaszewska, J. Mirowski, K. Szotła — Wpływ sposobu przygotowania włókien keratynowych z piór drobiowych na właściwości kompozytów z recyklatów polietylenu dużej gęstości
- J. Rajewski, P. Łobodzin, P. Gierycz — Polimerowa membrana inkluzyjna z trioctanu celulozy (CTA) plastyfikowanego eterem 2-nitrofenylooktylowym
- L. Song-tao, L. Zhaohui, X. Juan — Odporność zmęczeniowa starzonych mieszanek asfaltowych (*j. ang.*)
- P. Palutkiewicz — Symulacje komputerowe procesu wtryskiwania porującego
- W. Ciesińska — Właściwości reologiczne bitumów węglowych modyfikowanych poliestrami (*j. ang.*)