

УДК 577.3

НАНОЭМУЛЬСИИ НА ОСНОВЕ ГЛИЦЕРИДОВ МОНОНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ДЛЯ ДИСПЕРСНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ

И.С. МИХАЛОВСКИЙ¹⁺, Г.Б. МЕЛЬНИКОВА², Е.Н. ВОЛНЯНКО³

¹Белорусский государственный экономический университет, кафедра физикохимии материалов и производственных технологий, пр. Партизанский, 26, 220070, г. Минск, Беларусь

²Институт тепло- и массообмена имени А.В. Лыкова НАН Беларуси, ул. П. Бровки, 15, 220072, г. Минск, Беларусь

³Институт механики металлополимерных систем имени В.А. Белого НАН Беларуси, ул. Кирова, 32а, 246050, г. Гомель, Беларусь

Предложен способ получения эмульсий-носителей на основе глицеридов мононенасыщенных жирных кислот для биологически функциональных соединений. Методом атомно-силовой микроскопии изучены морфометрические характеристики дисперсных структур. Установлено, что эмульсия представляет собой нанодисперсную структуру со средним размером 40 нм. Такие наноэмульсии могут быть основой современных функциональных материалов различного промышленного назначения. На их основе получен экспериментальный образец дисперсной субстанции для биологической защиты технических сред, обладающий высокой агрегативной и седиментационной устойчивостью и биопротекторными характеристиками.

Ключевые слова: биологические полимеры, глицериды жирных кислот, эмульсии-носители, наноструктуры, функциональные соединения, технологические среды.

Введение

Задача переноса и доставки функциональных соединений (ФС) в активную зону их действия является наиболее важной и актуальной в области развития технологий изготовления продуктов определенного назначения. Она тесно связана с разработкой способов создания (конструирования) материалов с заданными свойствами и конкретной функцией (биозащита, защита от коррозии, улучшение триботехнических характеристик и т.д.) [1–4]. Важным принципом разработки функциональных материалов является поиск подходящих носителей (матриц) из соединений различной химической природы с включением в них ФС. Так в медицине коллоиды из биологических полимеров выполняют функции носителей лекарств [5]. В пищевой промышленности для обогащения продуктов физиологически важными нутриентами используют премиксы, в которых ФС связаны с полисахаридами (сахарозой, лактозой, др.), мукой, мелом [6]. Комбинированные присадки с ФС могут решить различные проблемы эксплуатации смазочных масел и других технологических сред [7].

Среди большого количества направлений по разработке новых функциональных материалов зна-

чительный интерес вызывают подходы к созданию их дисперсных форм [8, 9]. В этом плане наноэмульсии создают большие возможности при конструировании новых продуктов [10, 11]. С их помощью представляется возможным введение полярных соединений в гидрофобные среды [12]. С использованием наноэмульсий решаются задачи по созданию новых терапевтических субстанций [13]. Наноструктурирование поверхностно-активных веществ активно применяется при создании косметических продуктов [14]. В этой связи поиск новых подходов к разработке наноэмульсий является актуальным и расширяет возможность использования широкого спектра ФС для доставки в зону активного действия.

Подходящими системами для носителей ФС при создании новых нанодисперсных функциональных материалов являются липидные коллоиды благодаря структуре их дисперсной фазы. Попадая в полярную среду, в соответствии с законами термодинамики, молекулы липидов, имеющие в составе неполярные углеводородные остатки образуют низкоразмерные структуры (мицеллы, везикулы, др.) [15]. Процессы сборки молекулярных комплексов в значительной степени зависят от химической природы молекул (наличие в составе гидрофобных углеводородные остатки, полярных групп) [5, 16]. Так, амфифильные

⁺ Автор, с которым следует вести переписку. E-mail: jozef_m@tut.by

фосфолипиды в водной среде формируют глобулярные униламеллярные и мультиламеллярные липосомы [5, 18]. В обзоре [19] обсуждается практическое медицинское применение суспензий фосфолипидных наночастиц. Однако достаточно высокая стоимость фосфолипидов ограничивает их применение, например, при разработке технологических сред для промышленного использования.

В качестве основных компонентов технологических дисперсий большой интерес исследователей вызывают глицериды ненасыщенных жирных кислот масел растительного происхождения [20]. Жидкое агрегатное состояние глицеридов в стандартных условиях делает их удобными для использования в технологических процессах. Кроме того, экономическими преимуществами глицеридов являются природная воспроизводимость, низкая стоимость масличного сырья и возможность отечественного производства. Для использования особенно перспективны глицериды мононенасыщенных олеиновой и эруковой жирных кислот, составляющих основу отечественного рапсового масла.

Следует отметить, что в отличие от амфифильных фосфолипидов, симметричные молекулы глицеридов в полярных средах не образуют устойчивые дисперсные структуры путем самосборки. Это затрудняет создание носителей ФС на их основе и широкое промышленное применение. Предполагается, что внешнее энергетическое воздействие (ультразвуковые стоячие волны, кавитация, др.) позволит получить агрегативно и седиментационно устойчивые высокодисперсные системы на основе глицеридов, пригодные для практического применения в качестве эмульсий-носителей ФС.

Цель работы — разработка эффективного способа получения агрегативно и седиментационно устойчивых эмульсий-носителей ФС на основе глицеридов мононенасыщенных жирных кислот и водных растворов ФС с использованием внешнего воздействия (ультразвука) для создания материалов различного функционального назначения.

Материалы и методы исследования

В работе использовали глицериды мононенасыщенных (олеиновой, эруковой) жирных кислот растительного происхождения. Точные (до 0,0001 г) навески глицеридов осуществляли с использованием предварительно прокаленной микропипетки с наконечниками 20–200 мкл производства «Transferpette» (ФРГ) на электронных микровесах с самокалибровкой производства «Ohaus» (США).

В основу способа получения высокодисперсных эмульсий с заданными функциональными свойствами положен процесс ультразвуковой обработки. Приготовленную с помощью магнитной мешалки ММ-5 взвесь глицеридов мононенасыщенных жирных кислот в дистиллированной воде обрабатывали ультразвуком с использованием установки ИЛ100-6/1 производства ООО «Ультразвуковая техника – ИНЛАБ» (РФ). Частота ультразвуковых колебаний

составляла 22 кГц. В процессе ультразвуковой обработки температура образца не превышала 40 °С.

Полученная высокодисперсная эмульсия представляет собой основу (матрицу) для ФС заданного назначения. Введение в данную дисперсную основу выбранного ФС осуществляется в виде водного раствора. Система затем подвергается гомогенизации. После распределения молекул ФС и глицеридных структур образуется низкоразмерная эмульсия с заданными свойствами. Для апробации предложенного способа в глицеридный коллоид вводили дезинфектант третичного амина N,N-бис-аминопропилдодециламина [21] и получали дисперсную эмульсию для эффективной биологической защиты различных сред.

Функциональную эмульсию хранили в темноте при комнатной температуре 20 °С. Для исследований использовали фракцию дисперсии вдали от поверхности раздела фаз с воздушной средой.

Стабильность дисперсных систем, главным образом, определяется структурой и пространственно-временной динамикой образующихся частиц [8, 9]. Агрегативную и седиментационную устойчивость дисперсной фазы эмульсий исследовали спектральным методом на основании анализа оптической плотности D образца от времени его хранения t . Регистрировали изменение D эмульсии за счет ослабления света [22] вследствие светорассеяния. Для выбора длины волны регистрации кинетики изменения дисперсной фазы по светорассеянию определяли спектральный интервал, в котором отсутствуют процессы поглощения компонентов эмульсий. Как видно из спектральных данных, приведенных на рис. 1, глицериды мононенасыщенной жирной кислоты, третичный амин интенсивно поглощают на длинах волн менее 450 нм. В этой связи $D(t)$ регистрировали на длине волны 600 нм, чувствительной к изменениям и перестройкам дисперсных структур.

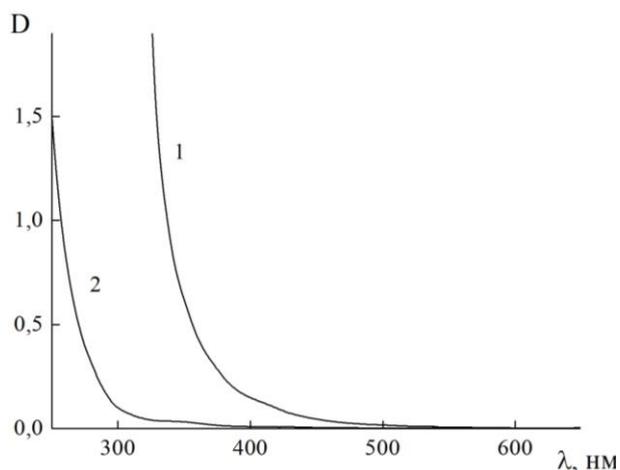


Рисунок 1 — Спектры поглощения глицеридов олеиновой кислоты (1) относительно воздуха и N,N-бис-аминопропилдодециламина (2) относительно дистиллированной воды.

Для этого предварительно гидрофилизированные смесью $\text{NH}_3:\text{H}_2\text{O}_2:\text{H}_2\text{O} = 1:1:5$ (по объему)

кремниевые пластинки выдерживали в эмульсии в течение 15 мин, затем промывали дистиллированной водой и высушивали на воздухе. Кинетику оптической плотности глицеридной эмульсии с третичным амином анализировали дискретным образом в течение 4 ч с интервалом 30 мин, а также в течение 7 сут с интервалом 1 сут. При этом образец дисперсии в закрытой кварцевой кювете хранили в темноте при комнатной температуре при 18–20 °С.

Спектральные измерения проводили с помощью цифрового спектрофлуориметрического комплекса СМ2203 производства «Солар» (РБ), работающего в режиме спектрофотометра. Регистрировали спектр поглощения образца коллоида от времени его инкубирования (режим «Кинетика») в термостатируемой кварцевой кювете (оптический путь 1 см) при равномерном перемешивании с помощью конструктивно встроенной в кюветное отделение и программно управляемой магнитной мешалкой. Шаг сканирования – 1 нм, оптическая щель – 2 нм.

Структуру дисперсной фазы функциональных эмульсий изучали методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) на приборе НТ-206 производства ОДО «Микротестмашины» (РБ). Использовали стандартные кремниевые зонды производства «Mikromasch» (Эстония) жесткостью 3 Н/м и радиусом кривизны не более 10 нм.

Результаты и их обсуждение

Наблюдение за изменением оптической плотности позволяет разделить период формирования эмульсии на две стадии, которые значительно отличаются кинетикой изменения оптической плотности и обусловлены процессами изменения структуры дисперсных частиц. На первой стадии, вероятно, протекают процессы образования частиц с формированием термодинамической структуры дисперсной фазы, агрегации частиц, седиментационными явлениями (рис. 2). На второй стадии трансформации дисперсной фазы, по-видимому, связано с процессами изменения фазы (структурные перестройки частиц, распределение компонентов эмульсий) (рис. 3).

Предполагая линейный характер процессов формирования дисперсных частиц, зависимость $D(t)$ можно аппроксимировать одной экспонентой с показателем вида $(-t \cdot k)$, используя программный пакет обработки данных Origin Pro for Windows. В данном приближении (процесс первого порядка) множитель k в экспоненциальном показателе является константой скорости [23, 24]. В нашем случае показатель k , имеющий размерность c^{-1} , является константой скорости динамических перестроек молекулярных структур (трансформации дисперсной фазы).

Кинетика образования коллоида хорошо аппроксимируется одной экспонентой как на первой стадии (в интервале 4 ч) (рис. 2), так и на второй стадии (интервале 7 сут) (рис. 3), что позволяет провести оценку константы скорости трансформации дисперсной фазы k . Установлено, что на

начальной (первой) стадии константа скорости имеет порядок $10^{-4} c^{-1}$. С данной скоростью, по всей видимости, дисперсная фаза приходит в термодинамически устойчивое равновесие за время 3–4 ч. Можно, предположить, что за данный период в отсутствие внешних воздействий (перемешивание, др.) имеет место формирование пространственной структуры дисперсных частиц.

Аппроксимация кинетики дисперсной системы на второй стадии в интервале 7 сут дает значение k порядка $10^{-6} c^{-1}$. Малый порядок константы скорости на второй стадии свидетельствует о том, что сформировавшаяся дисперсная структура (первая стадия) исследуемой функциональной эмульсии характеризуется высокой коллоидной устойчивостью. За время хранения 7 сут наблюдается снижение оптической плотности биоцидной эмульсии не более чем на 10%.

Дальнейшие наблюдения, включающие оценку оптической плотности, показали, что дисперсная структура коллоидов сохраняется длительное время, более 5 мес. Эти исследования подтверждают возможность использования полученного функционального материала в реальных технологических средах.

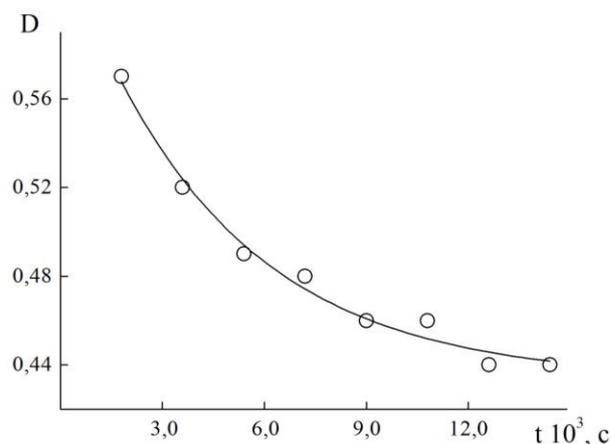


Рисунок 2 — Зависимость оптической плотности D эмульсии глицеридов олеиновой кислоты с N,N-бис-аминопропилдодециламином от времени t (интервал 4 ч).

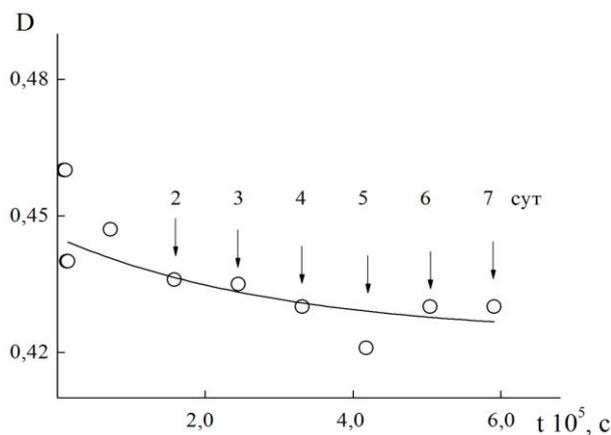


Рисунок 3 — Зависимость оптической плотности D эмульсии глицеридов олеиновой кислоты с N,N-бис-аминопропилдодециламином от времени t (интервал 7 сут).

Для визуализации дисперсных частиц применяли метод атомно-силовой микроскопии (АСМ), который позволил определить морфометрические особенности дисперсной фазы полученной эмульсии. На рис. 4 представлены 2D (а) и 3D (б) изображения структуры эмульсий на кремниевой подложке. Размер оценивали по 2D-изображению путем построения профиля по линии сканирования с использованием специализированного программного пакета SurfaceExplorer. Размер дисперсной структуры определяли, как перепад высоты (z) на профиле в нижней и верхней точке выделенной частицы.

Установлено, что частицы на гидрофилизированной кремниевой подложке образуют сегменты, близкие к сферическим. Среднее значение линейного размера сегмента триглицеридной структуры по высоте составляет от 2 до 20 нм. Среднее значение линейного размера ширины (диаметр основания сегмента) дисперсных структур колеблется в более широких пределах – от 150 до 500 нм. Аналогичным образом проведены измерения размера остальных дисперсных частиц.

Приведенные данные АСМ о сегментарном характере частиц на подложке позволяют предположить, что в полярной водной среде глицериды мононенасыщенных жирных кислот с амином образуют структу-

ры, близкие к сферическим. Сравнение объема сегмента частиц по данным АСМ с равным ему объемом сферы позволило определить среднее значения радиуса дисперсных структур, который составляет около 40 нм. Полученные результаты свидетельствуют, что эмульсия сформирована наноразмерной дисперсной фазой, чем вероятно и обусловлена ее высокая агрегативная и седиментационная устойчивость.

Были проведены исследования антимикробной активности полученной биоцидной наноземульсии (способность вызывать гибель клеток) по отношению к санитарно-показательным бактериям грамотрицательным *Escherichia coli* и грамположительным *Bacillus subtilis*, а также дрожжам *Candida tropicalis* H2. Рассчитывали фактор редукции, равный логарифму отношения концентрации жизнеспособных клеток после инкубирования в питательной среде без биоцида к аналогичному показателю в присутствии биоцида. Установлено, что экспериментальный образец наноземульсионного биоцида проявил более высокую антимикробную активность по сравнению с водным раствором амина (контрольным образцом) к *Escherichia coli* на 24%, к *Bacillus subtilis* на 5%, к *Candida tropicalis* H2 – на 30%, что делает наноземульсию перспективной в плане создания новых материалов для биологической защиты.

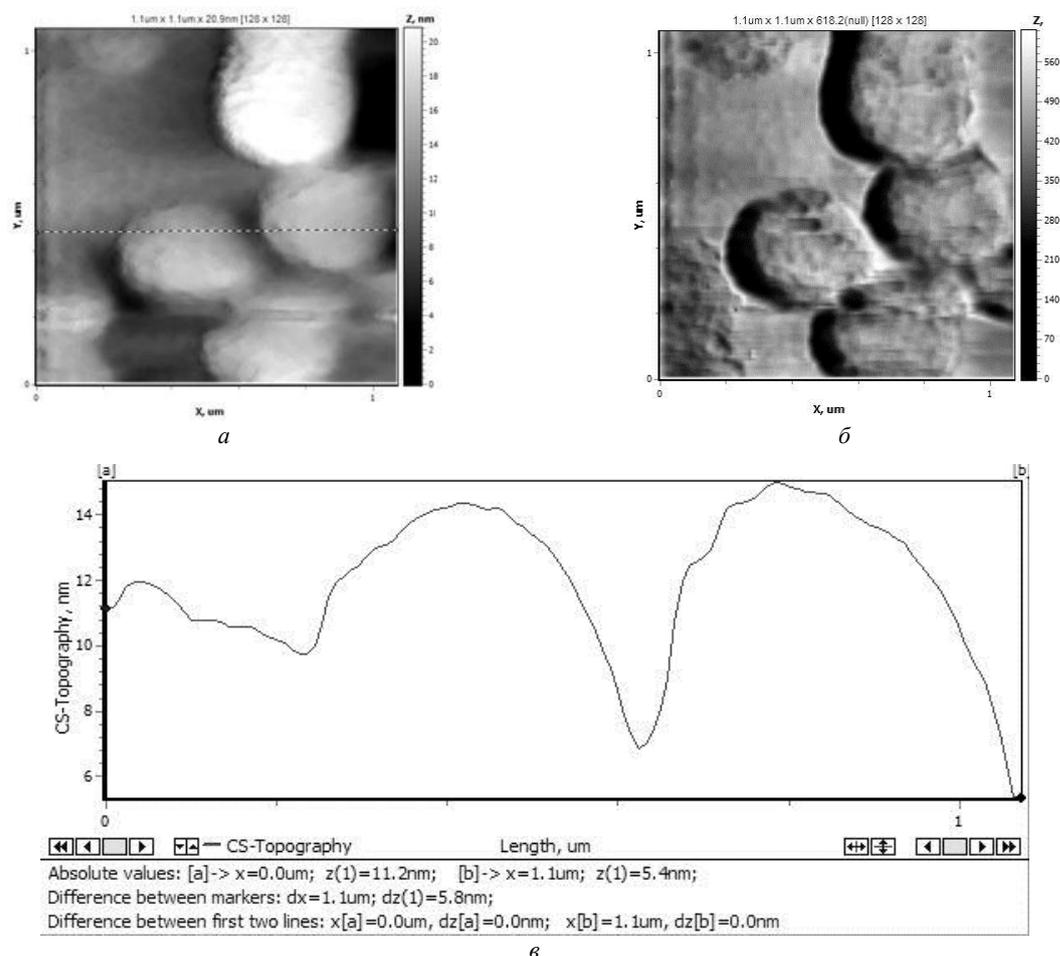


Рисунок 4 — 2D АСМ-изображения в режиме «топография» (а), латеральных сил (б) и профиля поверхности (в) наноземульсии глицеридов олеиновой кислоты с N,N-бис-аминопропилдодециламином (поле сканирования 1,5×1,5 мкм).

С использованием глицеридной эмульсии были изготовлены нанодисперсии композиций жирно- и водорастворимых витаминов, призванных заменить традиционные порошкообразные премиксы для обогащения витаминами кондитерских изделий [25, 26].

Заключение

Предложенный в работе способ обработки растворов глицеридов мононенасыщенных жирных кислот в полярных средах может быть использован для формирования коллоидно устойчивых наноразмерных эмульсий-носителей функциональных соединений, на основе которых целесообразно создавать дисперсные функциональные субстанции. Нанодисперсии глицеридов с биологически активными аммониевыми соединениями могут стать основой эффективных биоцидных составов для биологической защиты технологических сред (смазочно-охлаждающих жидкостей, смазочных материалов на основе растительных масел). В общем плане разработанный способ получения глицеридных наноэмульсий может быть положен в основу современных технологий изготовления новых промышленных дисперсных материалов функционального назначения.

Обозначения

АСМ — атомно-силовая микроскопия; ФС — функциональные соединения; D — оптическая плотность; k — константа скорости трансформации дисперсной фазы; t, с — время наблюдения; λ , нм — длина волны.

Литература

1. Leclerc M. Functional Materials / Ed. M. Leclerc, R. Gauvin. — Berlin, Boston: Walter de Gruyter GmbH, 2014. — 469 p.
2. Ebrahimi F. Nanocomposites — new trends and developments. — Rijeka, Croatia: InTech Pub., 2012. — 503 p.
3. Domone P., Ilston J. Construction materials. — London, New York: Spon Press, 2010. — 567 p.
4. Vattam D.A., Maitin V. Functional foods, nutraceuticals and natural products — Lancaster, Pennsylvania: DEStech Publ., 2016. — 820 p.
5. Gregoriadis G. Liposome technology. Liposome preparation and related techniques. — New York, Informa Healthcare, 2007. — Vol. 1. — 324 p.
6. Оттавей П.Б. Обогащение пищевых продуктов и биологически активные добавки: технология, безопасность и нормативная база. — СПб.: Профессия, 2010. — 312 с.
7. Rudnick L.R. Lubricant additives: chemistry and applications. — Cambridge: CRC Press, 2009. — 790 p.
8. Кошевар В.Д. Органо-минеральные дисперсии. Регулирование их свойств и применение. — Минск: Белорус. наука, 2008. — 312 с.
9. Tadros T.F. Rheology of dispersions: principles and applications. — Weinheim: Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA, 2010. — 199 p.
10. ГОСТ ISO/TS 80004-4-2016 Нанотехнологии. Материалы наноструктурированные. Термины и определения. — М: Стандартинформ. — 2016. — 14 с.
11. Wilking J.N., Meleson K., Chang C.B., Graves S.M. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties // J. Phys. Condens. Matter. — 2006. — Vol. 18. — R635–R666.
12. Odriozola-Serrano I., Oms-Oliu G., Martín-Belloso O. Nanoemulsion-based delivery systems to improve functionality of lipophilic components // Front. Nutr. — 2014. — Vol. 1. — P. 1–4.
13. Tiwari S.B., Shenoy D.B., Amiji M.M. Nanoemulsion formulations for improved oral delivery of poorly soluble drugs // NSTI-Nanotech. — 2006. — Vol. 1. — P. 475–478.
14. Sharma S., Sarangdevot K. Nanoemulsions for cosmetics // ПАРФВ. — 2012. — Vol. 2. — P. 408–415.
15. Ивков В.Г., Берестовский Г.Н. Динамическая структура липидного бислоя. — М.: Наука, 1981. — 293 с.
16. Sackmann E. Physical basis of self-organization and function of membranes: physics of vesicles // Handbook of biological physics / eds. R. Lipowsky, E. Sackmann. — Elsevier Science, 1995. — Vol. 1. — P. 213–303.
17. Волькенштейн, М.В. Биофизика. — М.: Наука, 1988. — 595 с.
18. Sipai Altaf Bhai. M., Yadav V., Mamatha Y., Prasanth V.V. Liposomes: an overview // J. Pharm. Sci. Innovation. — 2012. — Vol. 1. — P. 13–21.
19. Yadav N., Khatak S., Sara U.V.S. Solid lipid nanoparticles — a review // Int. J. Appl. Pharm. — 2013. — Vol. 5. — P. 8–18.
20. О'Брайен Р. Масла и жиры. Производство, состав и свойства, применение. — М.: Из-во «Профессия», 2007. — 752 с.
21. Антимикробная активность дезинфицирующих средств на основе N,N-BIS-(3-аминопропил)-додециламина [Электронный ресурс] // «НИОПИК». Дезинфицирующие средства. Антисептики. Разработка и производство. — Режим доступа: <http://dezniopik.ru/information/1323>. — Дата доступа: 10.10.2017.
22. Хюлст Г. Рассеяние света малыми частицами / Г. Хюлст. — Москва, Изд-во иностр. лит., 1961. — 536 с.
23. Леванов А.В., Антипенко Э.Е. Введение в химическую кинетику. — М.: МГУ, 2006. — 51 с.
24. Скоринкин А.И. Математическое моделирование биологических процессов. — Казань: Казан. ун-т, 2015. — 86 с.
25. Михаловский И.С., Мельникова Г.Б., Бабодей В.Н., Пчельникова А.В. Витаминные препараты на основе триглицеридных наноструктур // Наноструктурные материалы 2016: Беларусь-Россия-Украина (НАНО-2016): материалы V междунар. науч. конф., Минск, 22–25 ноя. 2016 г., Беларусь / НИЦ НАН Беларуси по материал. — Минск, 2016. — С. 431–434.
26. Михаловский И.С., Бабодей В.Н., Томашевич С.Е. Витаминные препараты в нанодисперсной форме для кондитерской продукции // Инновационные технологии в пищевой промышленности: материалы XVI междунар. науч.-практ. конф., Минск, 5–6 октября 2017 г., Беларусь / РУП НИЦ НАН Беларуси по продовольствию. — Минск, 2017. — С. 137–139.

J.S. Mikhlovsky, G.B. Melnikova, E.N. Volnyanko

Nanoemulsions based on monounsaturated fatty acids glycerides for dispersed functional materials

The preparation method of emulsions carriers based on monounsaturated fatty acids glycerides for biologically functional compounds is proposed. Using atomic force microscopy, the morphometric characteristics of dispersed structures has been studied. It was found that the emulsion has the nanodispersed structure with an average size of 40 nm. These nanoemulsions can be the basis of modern functional materials for various industrial applications. On their basis, an experimental sample of a dispersed substance for biological protection of technical media has been obtained, which possesses high aggregative and sedimentation stability and bioprotective characteristics.

Keywords: biological polymers, glycerides of fatty acids, emulsions carriers, nanostructures, functional compounds, technological media.

Поступила в редакцию 22.11.2017

© И.С. Михаловский, Г.Б. Мельникова, Е.Н. Волнянко, 2017