

Фазовые переходы и стеклование в криозащитных средах и эмбрионах вьюна *Misgurnus fossilis* L.

К.Б. МИКСОН, А.В. ЗИНЧЕНКО, Е.Н. БОБРОВА

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Phase Transitions and Vitrification in Cryoprotective Media and Embryos of Loach *Misgurnus fossilis* L.

K.B. MIKSON, A.V. ZINCHENKO, E.N. BOBROVA

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

Сохранение исчезающих видов рыб и создание криобанков – важнейшие проблемы криобиологии. Однако до настоящего времени проблема криоконсервирования эмбрионов рыб изучена недостаточно. Это обусловлено как большим размером, сложностью мембранных систем, так и низкой проницаемостью эмбриональных оболочек. Поэтому разработка методов криоконсервирования стеклованием эмбрионов является перспективной. Цель данной работы – исследование фазовых переходов, стеклования криозащитных сред на основе сахарозы для эмбрионов вьюна (*Misgurnus fossilis* L.) для дальнейшей разработки витрифицирующих сред.

Эксперименты проводили на дифференциальном сканирующем калориметре (ДСК), разработанном и изготовленном в Институте проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины для исследования фазовых переходов в области температур от -196 до 0°C . Образцы массой 1 г охлаждали вне калориметрического блока погружением в жидкий азот со средней скоростью $3,3(3)^{\circ}\text{C}/\text{с}$. Затем образцы помещали в предварительно охлажденный калориметрический блок и нагревали со скоростью $8,3 \times 10^{-3}^{\circ}\text{C}/\text{с}$. Такой методологический подход позволяет выявить процессы, которые могут развиваться в этих системах при охлаждении, но тормозятся кинетическими факторами.

При нагреве раствора от температуры жидкого азота на термограммах регистрируется скачок теплопоглощения, соответствующий переходу вещества из твердоаморфного (стеклообразного) в жидкое переохлажденное состояние. Величина скачка указывает на количество стеклообразной фазы в системе после охлаждения ниже температуры стеклования (t_g). Мы использовали термин “расстеклование” для описания процесса обратного стеклованию. При дальнейшем повышении температуры наблюдается процесс кристаллизации, который сопровождается выделением тепла. При температуре, характерной для данной системы, начинается плавление закристаллизованной смеси. На термограммах этот процесс регистрируется пиком теплопоглощения.

Таким образом, на основании параметров t_g и величины скачка теплопоглощения было установлено, что среда, содержащая 30% сахарозы, 3% ПЭО-1500, 10% этиленгликоля и 20% 1,2-пропандиола, витрифицируется. Это подтверждает правильность ранее сделанной визуальной оценки витрификации этой среды.

Preservation of endangered fish species and establishing cryobanks are the vital problems in cryobiology. However the problem of fish embryo cryopreservation has remained poorly studied by now. This is stipulated by both big size, membrane system complication and low permeability of embryonic membranes. Therefore the designing of cryopreservation methods by embryo vitrification is perspective.

The research was targeted to study the phase transitions, vitrification and sucrose-based cryoprotective media for *Misgurnus fossilis* L. loach embryos to design vitrifying media in future.

Experiments were performed in differentiated scanning calorimeter (DSC), designed and manufactured at the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine to investigate the phase transitions within the temperature range from -196 to 0°C . The samples of 1g were cooled out of the calorimetric block by immersing into liquid nitrogen with $3.3(3)^{\circ}\text{C}/\text{sec}$ average cooling rate. Afterwards the samples were placed into preliminarily cooled calorimetric block and heated with $8.3 \times 10^{-3}^{\circ}\text{C}/\text{sec}$. This methodological approach enables revealing the processes, which may develop in these systems at cooling, but which are inhibited by kinetic factors.

When heating solution from liquid nitrogen temperature, the heat absorption jump, corresponding to the substance transfer from solid-amorphous (vitriform) state into liquid overcooled one, is registered in thermograms. The jump value indicates to the number of vitriform phase in system after cooling being lower than vitrification temperature (t_g). We used “devitrification” term to describe the process, reversible to vitrification. During following temperature increase, the crystallization process, accompanied by heat release, is observed. The melting of crystallized mixture begins at the temperature, typical for this medium. In thermograms this process is registered with heat-absorption peak.

Thus, basing on the parameters t_g and heat absorption jump value, the medium, containing 30% sucrose, 3% PEO-1500, 10% ethylene glycol and 20% 1,2-propane diol, was established to be vitrified. This confirms the correctness of previous visual estimation of this medium vitrification.