

PÅ GRÆNSEN MELLEM MATERIALER

Med en mikroskopiteknik, der oprindeligt blev udviklet til at studere membraner, kan forskerne nu undersøge fænomener på grænsen mellem forskellige typer materialer. Det kan for eksempel bruges til udvikling af nye fødevarer og nye metoder til langtidsmedicinering.

Om forfatterne



Anders Utoft er postdoc i biofysik i PHYLIFE gruppen på IMM, SDU aum@health.sdu.dk



Koji Kinoshita er adjunkt i biofysik i PHYLIFE gruppen på IMM, SDU koji@health.sdu.dk



David Needham er dr. scient. og professor i materialevidenskab på Duke universitetet i USA og æresprofessor i translational kræftforskning på Nottingham universitetet i England d.needham@duke.edu

De fleste af os tænker til dagligt ikke så meget over de forskellige faser og tilstande, ting befinder sig i, eller de interaktioner, der sker mellem helt almindelige hverdagsting. Der er dog et utal af fysiske og kemiske parametre, som vi alle kommer i kontakt med hver dag, der faktisk er med til at styre vores valg, selvom vi måske ikke lige tænker over det. Når vi for eksempel skal gøre noget så simpelt som at koge en portion pasta, bruger vi allerede mange fysiske principper samt materialer i flere faser. Udover pasta bruger man typisk til dette formål vand, olie og salt – altså en hydrofil væske, en hydrofob væske samt et materiale på fast form (en krystal). Her har vi allerede tre faser, som kan interagere på flere forskellige måder.

For eksempel siger vi normalt, at olie og vand ikke blander sig eller er opløselige i hinanden, men når vi bevæger os ned på et mikroskopisk niveau, er olie og vand faktisk opløselige i hinanden til en vis grænse. Derudover flyder olien ovenpå vandet på grund af dens lavere massefylde, mens saltet synker til bunden på grund af dets højere massefylde. De mange små oliedråber samler sig tit til en stor oliepøl på grund af overfladespændingen, der eksisterer, hvor vand og oliefaserne

mødes. Salt tilsættes som en fast krystal, der ikke går i opløsning i olien, men derimod bliver opløst til ioner, når den blandes med vandet, og resulterer i en saltvandsopløsning i stedet for en rent vand. Når vi så koger denne blanding af ingredienser, vil vandet fordampe først, da det har det laveste kogepunkt af de tre ingredienser på 100 °C. Derefter vil olien fordampe, da eksempelvis olivenolie har et rygepunkt (temperaturen hvorved olien begynder at ryge) på cirka 200 °C og et kogepunkt på cirka 300 °C. Til sidst står vi så med en gryde, hvor der igen er saltkrystaller tilbage på bunden, da disse smelter ved cirka 800 °C og først koger ved næsten 1500 °C. På grund af saltkrystallernes dårlige opløselighed i olien vil de dog allerede krystallisere, inden det sidste af vandet er fordampet, da saltvandsopløsningen vil have passeret opløseligheden af salt i vand (den koncentration, hvorved der ikke kan opløses mere salt i vandet) og have nået den kritiske grænse for overmætning og dermed resultere i krystallisering.

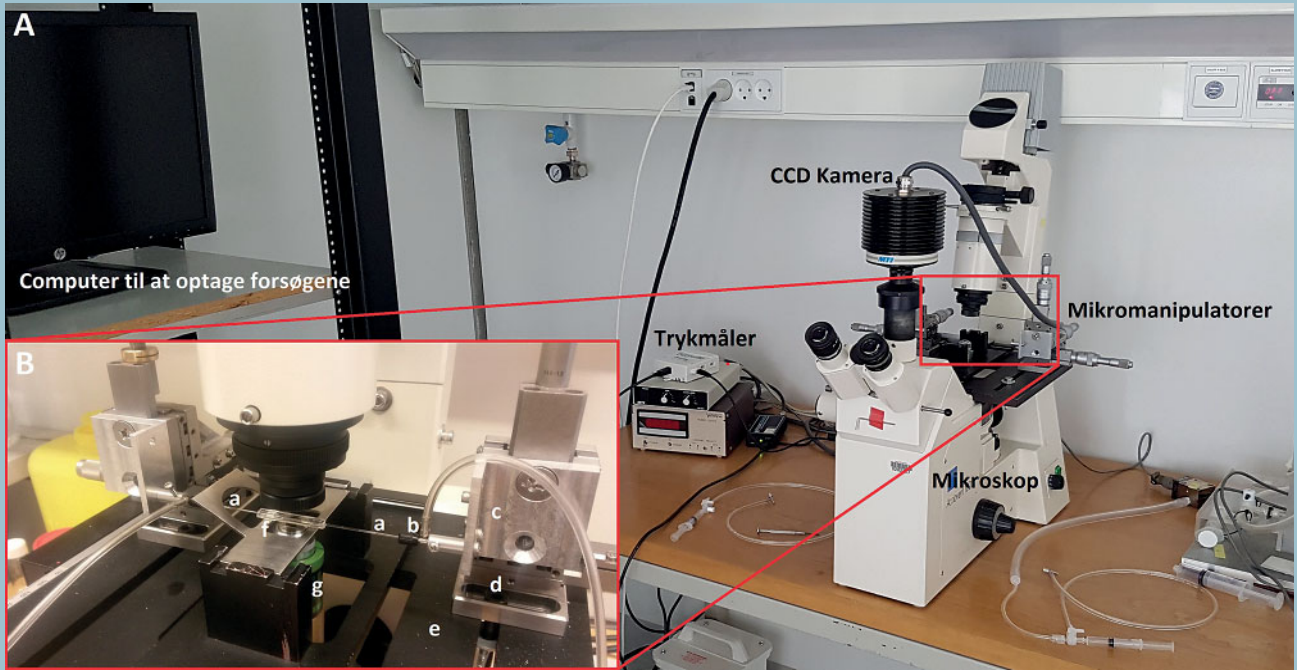
Mikropipetter afslører detaljerne

Hvis man er interesseret i nærmere at undersøge, hvad der på mikroskopisk niveau foregår, når materialer som de nævnte vekselvirker i en kogende gryde eller i alle mulige

andre sammenhænge, kan man anvende mikroskopi og præcis 3D-håndtering af mikropipetter. Det er en teknik, der tidligere er blevet udviklet og anvendt til studier af membraner og lipider, og som nu også anvendes til forskning indenfor medicin og mad.

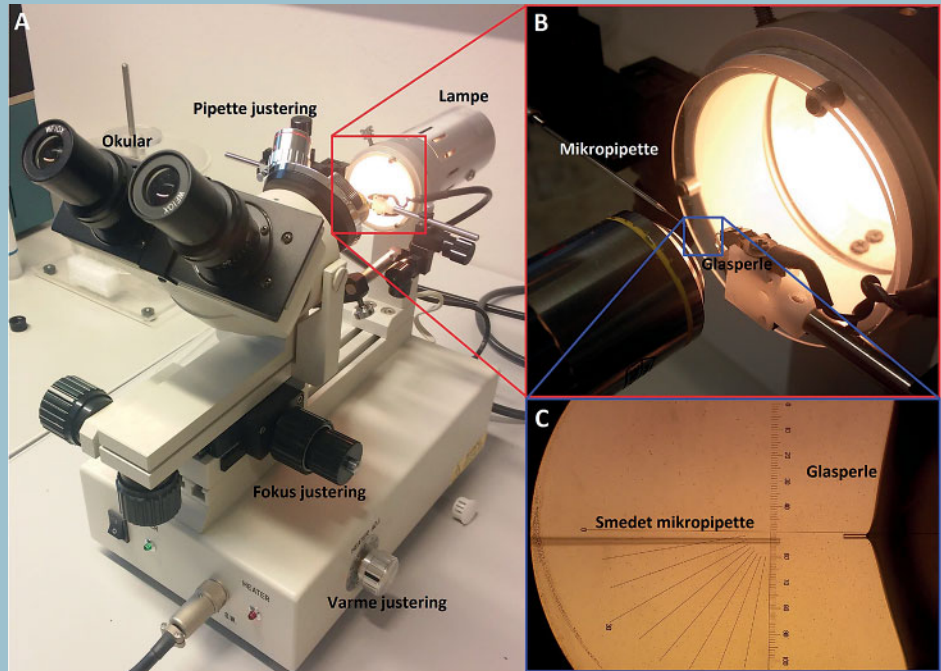
Mikropipettesystemet er en opsætning på et mikroskop, der tillader undersøgelse og 3D-håndtering af mikroskopiske objekter ned til 1-2 µm, hvilket svarer til cirka 1/40 af et hårs bredde. Til sammenligning er størrelsen på en enkelt rød blodcelle 5-7 µm. Selve mikropipetterne laves af glaskapillærrør på en mikrosmedje, så man kan lave præcis den pipetteform, man skal bruge. Med mikropipettesystemet kan vi undersøge fænomener som overfladespænding, opløselighed, diffusion, overmætning, nukleation (når molekyler går sammen og danner en ny fase, eksempelvis når vand i luften kondenserer, eller når salt/sukker krystalliserer fra en opløsning) og faseadskillelse. Når man undersøger fænomener som overfladespænding og adsorption til grænseflader med mikropipette-teknikken, vil de undersøgte materialer oftest være indeni mikropipetten. En anden måde at bruge teknikken på er ved at fremstille mikrodråber af forskellige materialer udenfor pipetten, der kan observeres og ma-

Mikropipetter



Mikropipetteplatformen består overordnet af tre dele: En trykmåler til undersøgelse af overfladespænding; et mikrokammer, hvori forsøgene foregår og mikromanipulatorer med fin 3D-kontrol. Dette giver mulighed for at etablere en veldefineret grænseflade mellem eksempelvis luft-vand eller olie-vand. Det indsatte billede viser mikropipetterne (a) monteret i 3D-manipulatorerne (b-e). Spidserne føres ind i mikrokammeret (f), hvor forsøgene foregår og observeres via objektivlinsen (g).

A) Mikrosmedjen består af en pipetteholder, der kan justeres i tre dimensioner, en lampe for oplysning af pipettespidser samt en linse til at se pipetten, mens den smedes. B) Mikropipetten fastgøres og føres hen til en lille glasperle, der bruges til smedningen. Glasperlen er lavet af en anden type glas, der smelter ved en lavere temperatur og kan derfor varmes op, så det flydende glas kan løbe ind i mikropipetten til den diameter, der ønskes. C) Der stoppes med at varme på glasset, så det størkner og får mikropipetten til at revne præcist der, hvor det flydende glas nåede til (stumpen til højre er mørkere, fordi den er fyldt med glas fra glasperlen), og vi har således den færdig smedede mikropipette til venstre.



nipuleres med flere mikropipetter for at måle for eksempel diffusion og opløselighed. Den sidstnævnte teknik kan også bruges til at studere biologiske systemer som røde blodceller og deres reaktion på ændringer i deres omgivelserne.

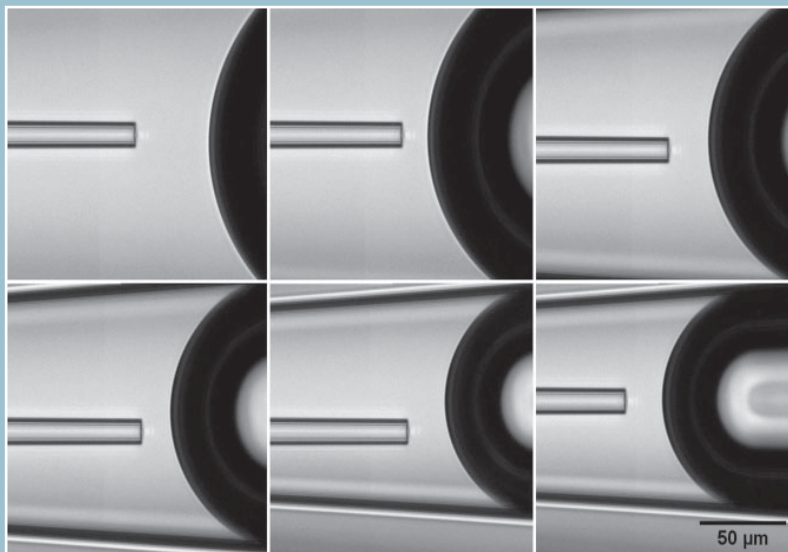
Overfladespænding kan manipuleres

Et af de fænomener, vi kan undersøge ved hjælp af mikropipetter, er som nævnt overfladespænding. Når man i eksemplet med at koge pasta ofte tilsætter olie til det kogende

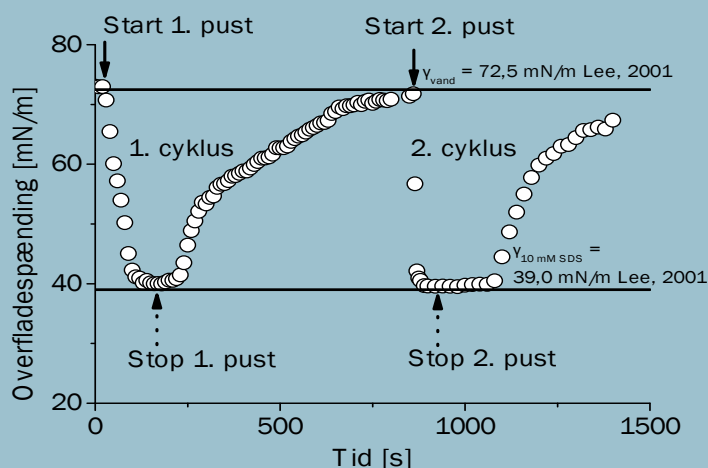
vand, er det primært for at undgå, at pastaen klister sammen, men også for at gryden ikke så nemt koger over. Hvis man bare har en gryde med vand, vil der være en overfladespænding mellem vand og luft på cirka 73 mN/m. Tilsætning

På grænsefladen mellem luft og vand

Ved at lave en mikroskopisk grænseflade mellem vand og luft (luften er den mørke fase på billedet) indeni mikropipetten, kan man ved at måle krumningen af overfladen samt det tryk, der skal til for at holde grænsefladen stille, udregne overfladespændingen ved grænsefladen. Den lille pipette til venstre i billederne indeholder et amfifilt molekyle, dvs. et stof, der i den ene ende kan opløses i vand og i den anden ende kan opløses i olie eller i dette tilfælde luft. Ved forsigtigt at blæse denne opløsning af amfifile molekyler ud på grænsefladen kan vi i realtid følge bevægelsen af grænsefladen til en mindre diameter indeni den store pipette på grund af et fald i overfladespændingen, når de amfifile molekyler adsorberer på grænsefladen.



Ved at fortsætte med at blæse de amfifile molekyler ud på grænsefladen kan vi sænke overfladespændingen fra 73 mN/m til 39 mN/m. Så snart vi stopper med at blæse opløsning ud af den lille pipette, vil systemet langsomt vende tilbage til ligevægt, og det ses tydeligt, at overfladespændingen igen nærmer sig de 73 mN/m. Denne cyklus med at blæse amfifile molekyler, sænke overfladespændingen, stoppe med at blæse og vende tilbage til ligevægt kan udføres stort set lige så mange gange, man ønsker. Denne cyklus er et eksempel på, hvad der også foregår i vores lunger, hvor amfifile molekyler ligeledes dækker overfladen af alveolerne (de små luftsække i lungerne) og sænker overfladespændingen. Det betyder, at det ikke gør ondt at trække vejret.



af olie vil forstyrre overfladen, da olien vil lægge sig ovenpå vandet og danne en olie-luft-grænseflade, der har en meget lavere overfladespænding. Det er stort set det samme fænomen som i forsøget, som mange kender, hvor man får en mønt af et let metal som aluminium til at flyde i en skål med vand, og derefter får mønten til at synke, når man tilsætter en dråbe opvaskemiddel. Overfladespændingen opstår, fordi der er en større tiltrækning mellem molekylerne i en væske som vand end der er mellem vandmolekylerne og luften. Det er disse kræfter, der er skyld i, at væsker trækker sig sammen til en dråbeform og dermed mindsker overfladearealet, hvor det er i kontakt med omgi-

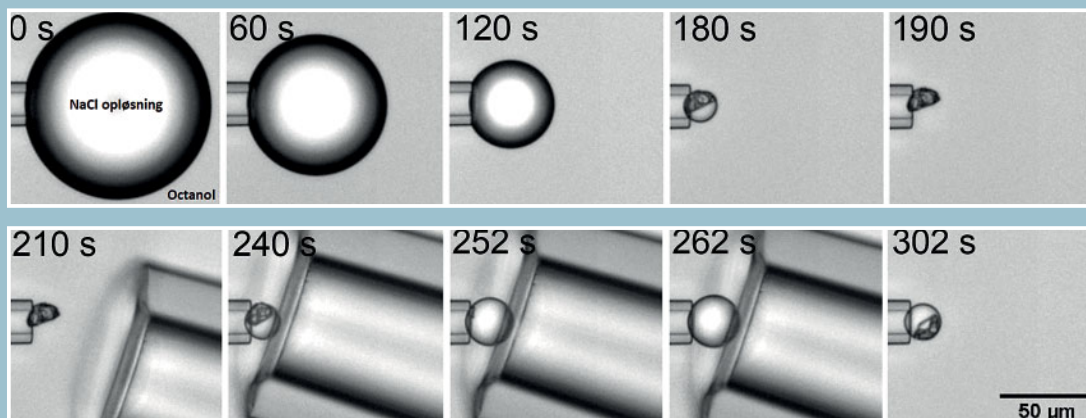
velserne. Overfladespænding kan påvirkes ved at tilsætte andre materialer som lipider eller andre amfifile molekyler (molekyler der både er hydrofile og hydrofobe). Dette bruges i mad, hvor olie-i-vand-emulsioner (for eksempel mayonnaise) og vand-i-olie-emulsioner (for eksempel smør) er afhængige af amfifile molekyler til at stabilisere emulsionen og undgå, at de forskellige faser skilles fra hinanden.

Super høj overmætning og krystallisering

Saltet i vores gryde med pasta er et eksempel på krystaller, som vi bruger i det daglige. Et andet eksempel er sukker, og begge er eksempler på vandopløselige krystal-

ler. Der findes flere forskellige typer af krystaller, for eksempel er salt (NaCl) en ionisk krystal – det vil sige en krystal, hvor molekylerne er bundet sammen af atomernes individuelle ladning (i dette tilfælde Na^+ og Cl^-). Sukrose (sukker) og is er derimod molekulære krystaller, det vil sige en krystal, hvor molekyler uden ladning er bundet sammen af svagere kræfter som hydrogenbindinger. Derudover findes der også kovalente krystaller, hvilket betyder at der er en kemisk binding mellem de individuelle atomer – et eksempel er diamant. Det unikke ved krystaller er, at de på molekylært niveau har et krystalgitter, som gentager sig selv. Typen af gitter kan være vigtig for, hvilket

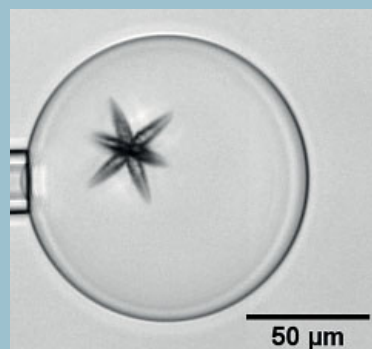
Krystallisering og opløsning af salt



En mikrodråbe bestående af saltvand befinder sig i et miljø bestående af octanol, hvori vand langsomt opløses, mens saltet bliver i vandfasen (0 – 120 s). Når koncentrationen af salt (NaCl) indeni dråben bliver for høj, krystalliserer det (180 – 190 s).

Hvis en stor pipette med rent vand bliver ført tæt på saltkrystallen, vil vandmolekyler langsomt diffundere gennem octanolen og sætte sig på overfladen af saltkrystallen og dermed danne en helt ny vandfase, der nu kan opløse krystallen. Dette sker, fordi det rene vand i den store pipette opløses i octanolen, som dermed mættes. Vandet i octanolen (ved mætning) har et højt kemisk potentiale (energiniveau), og det er derfor energimæssigt favorabelt for vandet at sætte sig på saltkrystallen (240 – 262 s).

Hvis den store pipette fjernes, vil systemet igen begynde at opløse vandet i dråben, og saltkrystallen vil igen krystallisere (302 s).



Lige i de millisekunder, hvor krystalliseringen af salt finder sted, sker forløbet så hurtigt og voldsomt, at det nærmest minder om en mikroskopisk eksplosion. Den frigivne energi gør det også meget svært ikke at tabe/miste dråben fra spidsen af pipetten. De gange, hvor det lykkes at fastholde dråben, kan man se den flotte krystalsymmetri under den meget hurtige nukleation.

materiale der bliver dannet. For eksempel kan kulstof både danne diamant (kubisk gitter) og grafit (hexagonal gitter).

Når et stof går fra opløsning til krystalform, er det en proces, der indebærer opkoncentrering, overmætning, nukleation (dannelse af en ny fase) og vækst. Og den proces kan vi undersøge ved at bruge mikropipette-teknikken. Vi kan for eksempel lave saltvandsopløsninger, hvor vi langsomt fjerner vandet fra dråben. Der sker så en opkoncentrering af salt, indtil vi passerer koncentrationen, der svarer til salts opløselighed. Ved at fjerne yderligere vand når vi nu op i det overmættede område, hvor

der er opløst mere salt, end der egentlig kan være. På et tidspunkt når vi en kritisk grænse, hvor der er opløst næsten dobbelt så meget som ved ligevægt, og næsten halvdelen af den flydende dråbe består af salt-ioner. Her er salt-ionerne kommet så tæt på hinanden, at det er fysisk umuligt for dem at forblive i opløst form. Der sker nu en nukleation af salt, og i løbet af mindre end 1 sekund vil alt det overmættede salt i opløsningen blive deponeret på den nye krystal, som dermed vokser. Studier af, hvornår og hvordan disse begivenheder finder sted, er vigtige, fordi det fortæller os, hvordan vi kan styre processen, så vi kan opnå det ønskede produkt.

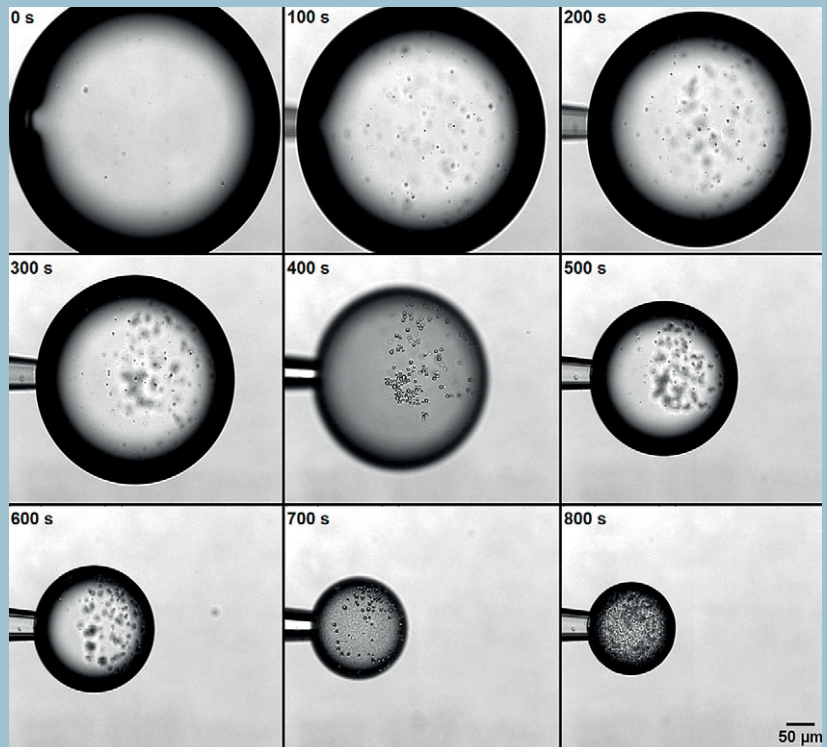
Fra sundere madvarer til ny medicin

Studiet af disse fysiske og kemiske egenskaber ved materialer og deres vekselvirkninger har ikke kun akademisk interesse. For eksempel kan sådanne studier bruges til at optimere nye madvarer, hvor man prøver at udskifte de mættede fedtsyrer med et sundere alternativ. Man kan eksempelvis udskifte palmeolie (cirka 50% mættet fedtstof) med solsikkeolie (cirka 10% mættet fedtstof). En sådan udskiftning vil dog ofte resultere i en ændret konsistens, som man ikke er interesseret i. Ved at benytte viden om interaktionen mellem faser og overflader kan det lade sig gøre at finjustere disse systemer, så man opnår den ønskede konsistens, men

Formulering af ny medicin og sundere is

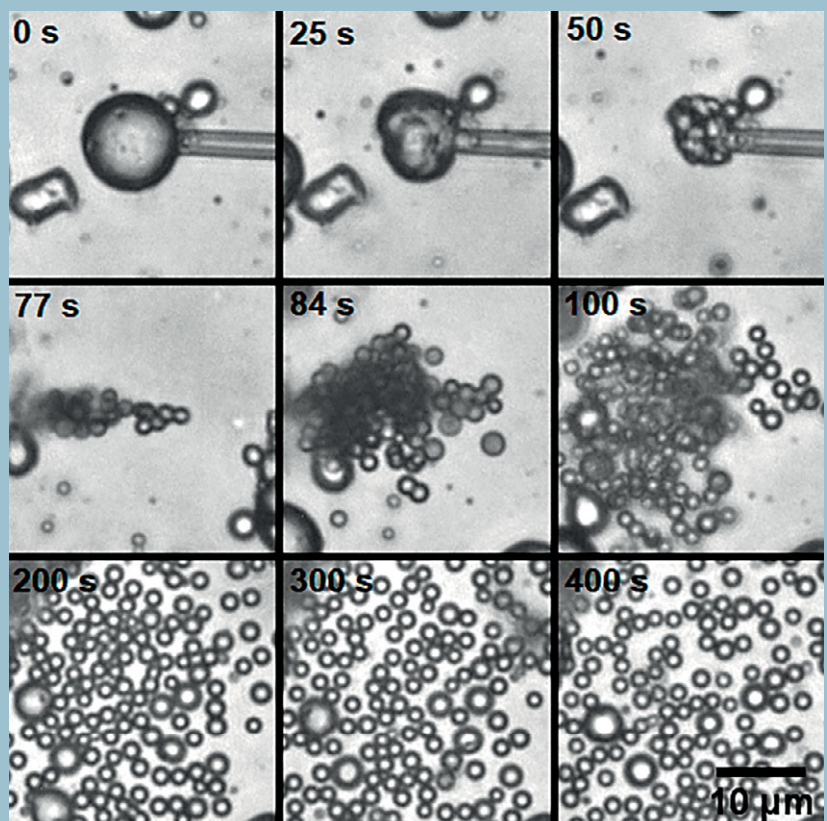
Her ses en dispersion (en blanding af en væske og små partikler), hvor dråben består af diklormetan med opløst polymer, og partiklerne består af glasificeret protein, der er lavet ved at have en vandig opløsning af protein, hvor vandet er blevet fjernet, ligesom i eksemplet med saltkrystallen. Ved langsomt at opløse diklormetan fra dråben ud i den omkringværende vandfase (0 – 700 s) vil polymeren ved opkoncentrering størkne, mens glasperlerne af protein stadig befinder sig indeni (700 – 800 s).

Dette er en metode, der er blevet brugt til at lave nye formuleringer af proteiner, der kan bruges til behandling af sygdomme. Ved at inkorporere proteinerne i en polymer, der langsomt bliver nedbrudt i kroppen, vil man kunne styre frigivelsen af medicin over længere tid, og man vil derfor kunne undgå daglig medicinering ved at anvende disse depoter af medicin.



Ethylcellulose er en polymer indenfor fødevarer, der kan strukturere olie, eksempelvis solsikkeolie, og dermed bruge det som erstatning for mættede fedtsyrer, der ofte kommer fra palmeolie.

De 3 øverste billeder viser en dråbe af solsikkeolie med en "skal" af ethylcellulose. Den indre olie, der nu er mere tyktflydende, kan suges ud med mikropipetten, og når man blæser olien ud igen, danner den mange små dråber, der er stabile i længere tid uden at gå sammen til større dråber, selv ved direkte kontakt med hinanden. Dette er blevet brugt til at lave nye formuleringer af is.



med en sundere sammensætning.

Man kan også bruge sådanne studier til formulering af nye typer medicin, hvor man for eksempel

kan være interesseret i at ændre daglig medicinering til kun at være månedlig eller endda halvårlig. Man kan prøve at ændre på, hvilken fase en medicin befinder sig i eller pakke

den ind på en anden måde ved at anvende stoffers opløselighed og få dem til at udfælde på forskellige tidspunkter under dannelsen af mikroskopiske medicinske partikler. ■