

文章编号:1007-2780(2017)10-0772-11

外界激励对生物类溶致液晶的影响

吴赛博, 沈 冬*, 严仕凯, 张 桐, 卫炳铄, 王丽玲

(华东理工大学 理学院, 上海 200237)

摘要:为了探究不同环境因素对人体生物膜结构的影响,建立了由磷脂酰胆碱分子构筑的脂质体泡囊模型。对该生物溶致液晶体系在各类外界激励下的响应进行研究。首先,观测了温度、电场、磁场不同激励作用下液晶相态的变化,并对结构的损伤破坏临界条件进行测定。其次,通过引入乙醇、石油醚等化学物质,研究了生物膜在体液环境变化前后的结构与性质差异。实验结果表明,生物膜层相的维持温区在 $-17.3\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 94.8\text{ }^{\circ}\text{C}$,高温损伤临界值在 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右;人体电磁场短时间接触限值(4 h 以内)分别为 20 kV/m 和 40 mT ;乙醇与石油醚在体液中的浓度临界值均在 630 mg/100 mL 以下。可见,生物膜结构只能在特定温区内维持完整;一定强度稳恒电磁场能使膜结构发生变形;无机盐离子有利于温度变化时生物膜的维持,但加剧电磁场下损伤;乙醇与石油醚能抑制膜结构形成,影响生物膜的稳定性。

关键词:生物膜;溶致液晶;外界激励;磷脂酰胆碱

中图分类号:O753+.2 **文献标识码:**A **doi:**10.3788/YJYXS20173210.0772

Effects of external excitations on biological lyotropic liquid crystals

WU Sai-bo, SHEN Dong*, YAN Shi-kai, ZHANG Tong, WEI Bing-shuo, WANG Li-ling

(School of Science, East China University of Science and Technology,
Shanghai 200237, China)

Abstract: In order to explore the effects of different environmental factors on the structure of human biofilm, a lipoidal vesicle model constructed by phosphatidylcholine was established. The response of the biological lyotropic liquid crystal system under various external excitations was studied. Firstly, changes of LC phase driven by different excitations, such as temperature, electric field and magnetic field, was investigated, and the critical values or numerical ranges of the damage to the structure were measured. Then, by doping with ethanol or petroleum ether, variations of the biofilm structure and performance in different body fluid environment were analyzed. The results show that the temperature range of biofilm lamellar phase is $-17.3\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 94.8\text{ }^{\circ}\text{C}$, and the critical value of structure damage is about $45\text{ }^{\circ}\text{C}$. The limitation of constant electromagnetic field for human exposure is 20 kV/m (4 h) and 40 mT (4 h). Critical concentrations of ethanol and petroleum ether in body fluid are both less than 630 mg/100 mL . The results show that the biofilm structure can only be maintained in a specific temperature range, and a certain strength of constant electric and magnetic field can make the membrane

收稿日期:2017-04-19;修订日期:2017-05-20.

基金项目:国家自然科学基金(No.61435008);华东理工大学大学生创新项目(No.S15073)

Supported by National Natural Science Foundation of China(No.61435008); Student Research Project of East China University of Science and Technology (No. S15073)

* 通信联系人, E-mail: shen@ecust.edu.cn

structure deformed. The inorganic ion is beneficial to the biofilm maintenance when temperature varies, but it increases the damage of the electromagnetic field. Ethanol and petroleum ether can inhibit the formation and the stability of biofilm.

Key words: biomembrane; lyotropic LC; external excitations; phosphatidylcholine

1 引言

液晶广泛存在于生物体中^[1],生物的某些组织结构以及各类生命活动的实现,如细胞间相互作用、神经刺激的传递、脂肪吸收等,均与液晶的聚集状态密切相关^[2]。早在 1854 年,Virchow 便发现神经细胞髓磷脂溶液具有偏光性(即液晶特性);1933 年的法拉第液晶讨论会上,生物结构具有液晶特性的观点被正式提出讨论;1959 年时,各类研究已陆续证实肾上腺皮质、卵巢、髓质及粥样化动脉中的复杂类脂在体温下呈现液晶态。此后,Helfrish、欧阳钟灿等科学家又基于液晶理论对生物膜的形态结构作出了理论解释,并为实验所证实^[3-6]。近年来,生物类溶致液晶逐渐在仿生模拟、医用材料、生物传感等领域得到愈来愈多的关注和深入研究。

大量生物结构因其独特的液晶特性而在保持一定形状结构的同时,兼具满足生命活动要求的流动性特征^[3]。而在外界激励刺激下,构筑生物结构的液晶分子将做出相应响应,从而影响生物膜的固有结构。早前,有研究用氧化胆固醇-卵磷脂体系形成平板双分子层脂膜,以模拟锌离子的跨细胞膜传递^[7];又有用磷脂酰乙醇胺构筑双分子层膜,探究低能电子束与生物膜作用的工作^[8]。本文将用磷脂酰胆碱分子构筑而成的层状脂质体结构为模型,选取日常生活中具有代表性的几类外界激励:如温度、磁场、电场、化学品等,通过偏光显微镜观察液晶织构变化,定量定向地研究它们对生物液晶体系的作用。实验表明,各类激励对生物液晶结构均存在一定破坏临界值或临界范围,而无机盐、乙醇、石油醚等物质的引入也将使原有的生物结构和性质发生相应改变。

细胞是各种生命形态的起源,是生物体结构和功能的基本单元。所有细胞的表面都有一层类似的膜状结构,即细胞膜。而在细胞内部,大部分细胞的表面也同样包被着膜状结构,称为细胞内膜,细胞膜和细胞内膜统称为生物膜(biomem-

brane)^[9]。磷脂和蛋白质是生物膜的主要组成成分,磷脂由于是双亲分子,在水体系下趋向于形成极性头朝外,非极性烃链在内的双分子层。在适当浓度下,类脂双层自动弯曲形成稳定的脂质体泡囊^[10],而这种结构也经常作为研究生物膜的简单模型系统^[11-12]。

磷脂酰胆碱(PC)作为一种甘油醇磷脂,大量存在于脑部、血浆、肝脏等器官中。它不仅是细胞膜脂质双层结构的主要成分,同时也是脂蛋白的重要组成部分和合成胆固醇酯的前体,在肺泡扩张、助溶胆固醇、肝细胞修复等方面都发挥着重要作用^[13]。此外,少量存在的无机盐成分也是人体不可或缺的营养元素之一,人体组织构成,体环境平衡,物质代谢等都需要无机盐的参与。本文选用磷脂酰胆碱作为实验对象,并将其分散在渗透压与细胞外液一致的 0.9% NaCl 水溶液(生理盐水)中,经过分子的自组装过程形成脂质体,以此模拟人体内细胞的简单结构及其所处环境。

溶致液晶的结构类型通常分为 3 类,包括层相、六角相和立方相。在大多数单一表面活性剂体系中,层相一般出现在双亲分子质量分数大于 50% 的范围。由于层相液晶具有光学各向异性,在偏光显微镜下观察时,呈现出特征的镶嵌状(十字花或油纹)纹理^[14],而对于呈封闭体系的双层脂质体结构,主要为马耳他十字。光在通过脂质体时,两正交偏振片偏振方向上的光分量因消光而形成十字暗区,而其他方向上的光因产生干涉现象,出现双折射壳带,最终形成十字状液晶织构^[15-16],这种十字状的特征织构是表征脂质体结构完整性的有效手段。

2 材料与方 法

2.1 试剂与仪器

L- α -磷脂酰胆碱,从大豆中提取,~80% 纯度,上海笛柏化学品技术有限公司;NaCl,分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司;乙醇,分析纯,国药集团化学试剂有限公司;石油醚,上海斯烱化工

科技有限公司;去离子水。

偏光显微镜:Nicolet 5700, Nikon;液晶盒:IPS 模式,上海和辉光电有限公司,盒厚 $12\ \mu\text{m}$;电子天平:Discovery, Ohaus, 最高精度 $0.000\ 01\ \text{g}$;磁力搅拌器:ZNCL-BS140 $\times$ 140, 上海美强仪器设备有限公司;热台:Instec, MK1000;超声波清洗器:KQ-500E, 昆山市超声仪器有限公司;信号发生器:Tektronix, AFG 3011;电压放大器:Electronics, A600;亥姆霍兹线圈:上海市复旦天欣科教仪器有限公司。

2.2 试验方法

2.2.1 生物液晶的配制

将磷脂酰胆碱与质量分数为 0.9% 的 NaCl 水溶液以质量比 1:1 比例混合,在 $30\ ^\circ\text{C}$ 温度、 $650\ \text{r/min}$ 转速条件下,用磁力搅拌器将混合体系搅拌 30 min 至均匀;接着,在 $30\ ^\circ\text{C}$ 温度下,利用超声清洗设备对样品进行超声处理,持续 30 min,以此使磷脂酰胆碱分子均匀分散,便于形成封闭脂质体结构^[17];最后将样品密封储存,在常温下静置 48 h 以上。本文实验中所有的浓度配比均为质量比。

2.2.2 对温度条件的响应测试

用毛细管取适量样品于载玻片上,加盖玻片后置于显微镜下观察。通过热台以 $2\ ^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率对样品进行升降温操作,观察样品液晶相变化。

2.2.3 对电场条件的响应测试

用毛细管取适量样品于镀有正负梳状电极的玻璃基板上(实验中采用 IPS 模式液晶盒下基板),加盖玻片后置于显微镜下观察(室温)。然后给电极加直流电,观察样品液晶相变化。

2.2.4 对磁场条件的响应测试

用毛细管取适量样品于载玻片上,加盖玻片后置于显微镜下观察。然后沿垂直玻璃基板方向对样品施加恒定磁场,观察样品液晶相变化(室温)。

2.2.5 对引入乙醇的响应测试

在 2.2.1 配制溶致液晶的过程中,在溶剂中掺入不同比例的乙醇,观察其液晶织构变化。

2.2.6 对引入石油醚的响应测试

在 2.2.1 配制溶致液晶的过程中,在溶剂中掺入不同比例的石油醚,观察其液晶织构变化,并分别测试其对温度变化的响应。

3 不同激励下液晶响应与结果分析

3.1 温度

人体存在自主性的体温调节机制,当人体温度发生波动时,将由自身正、负调节机制予以限制,使其保持在正常范围^[18]。人体各器官温度由于代谢水平的差异而各有不同,脑和内脏的温度始终维持在 $37\ ^\circ\text{C}$ 左右,称为体核温度。而四肢特别是皮肤温度受环境温度影响大,称外壳温度,其中皮肤和体表的末梢组织温度可在 $20\ ^\circ\text{C}\sim 40\ ^\circ\text{C}$ 间波动^[19]。本文在不考虑对细胞生命活动其他影响的前提下,单就温度变化对生物膜基本结构的维持与损伤进行探究。

3.1.1 温度响应

50%(质量比)磷脂酰胆碱/0.9%(质量比)NaCl 水溶液体系在室温下形成层相,在正交偏光显微镜下观察其织构呈典型的十字形,如图 1(a),对该体系进行升温操作,当温度升高至 $45.6\ ^\circ\text{C}$ 时,马耳他十字出现一定变形与裂纹缺陷,且亮度有所减弱,表明脂质体壳层的分子有序排列相较之前有所紊乱,光学各向异性减小,影响干涉效应,如图 1(b)所示,此温度视为结构损伤温度;继续加热,十字持续变形扭曲,且壳带出现大量缺陷,脂质体结构损伤更加严重;当温度升至 $94.8\ ^\circ\text{C}$ 时,如图 1(c)所示,视野中部分区域发生

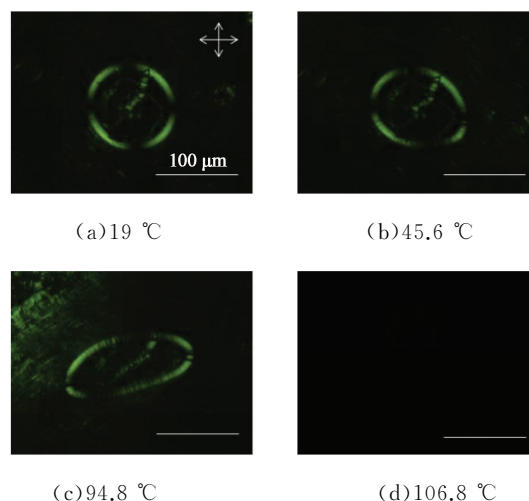


图 1 升温过程中不同温度下的液晶相显微图。标尺大小均为 $100\ \mu\text{m}$ 。

Fig.1 Micrographs of liquid crystalline phases at different temperatures during the heating process. The scale bars are all $100\ \mu\text{m}$.

相变,由层相开始向各向同性转变,剩余十字严重变形扭曲,此温度视为结构破坏温度;至 106.8 °C 时,体系达到完全清亮,如图 1(d)所示。

在对 50% 磷脂酰胆碱/0.9% NaCl 水溶液体系在室温下进行降温处理的过程中,马耳他十字亮度有所增加,且十字趋于明晰,表明在低温环境下,由于热运动的减弱,使脂质体结构更为有序,并增大了液晶体系的光学各向异性。当温度降至 -17.3 °C 时,马耳他十字亮度骤减,如图 2(b)所示,可能是以层状结构分散在溶剂中的双亲分子趋向于小范围地形成球形胶束,并在各方向有序堆叠排列,液晶相开始向立方相转变,而原本的脂质体泡囊因结构较为稳定而勉强能继续维持;继续降低温度,十字织构趋于模糊,且亮度继续减弱,如图 2(c)所示,此时液晶相处于层相与立方相间的过渡状态;而当温度下降至 -46.7 °C 时,十字消失,呈现为暗场,推测是液晶层相转化为各向同性的立方相,如图 2(d)所示。

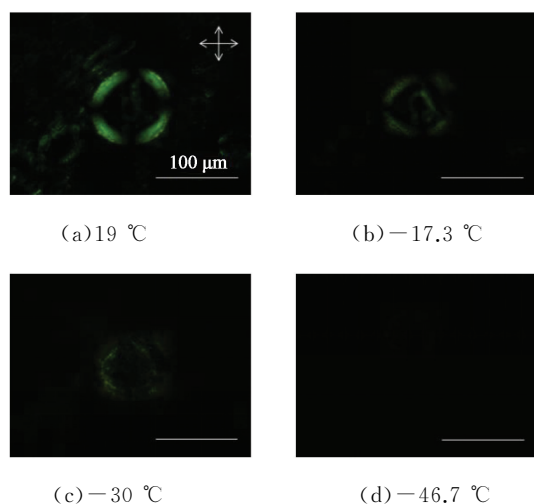


图 2 降温过程中不同温度下的液晶相显微图.标尺大小均为 100 μm .

Fig. 2 Micrographs of liquid crystalline phases at different temperatures during the cooling process. The scale bars are all 100 μm .

实验结果表明,高温条件对生物膜结构的影响要比低温更为显著。生物膜在温度达到 45 °C 左右时,结构开始出现一定程度的变形,并伴随有部分区域的缺损破坏。而低温环境对膜结构反而有一定维持作用,主要是因为热运动的减弱使分子排布更加有序,脂质体结构更为稳固,但若环境温度低于 -17.3 °C,也会对膜结构造成一定程度

损伤。另外,如图 3 所示,脂质体对应的液晶层相所能维持的温度范围是 -17.3 °C ~ 94.8 °C,而这一范围也恰恰含盖了人类日常生活接触最多的环境温区。

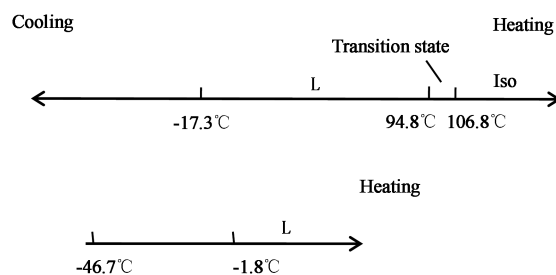


图 3 升温与降温过程中的相变温度点

Fig. 3 Phase transition temperatures during the heating and cooling processes

3.1.2 可恢复性探究

升温过程中,当 50% 磷脂酰胆碱/0.9% NaCl 水溶液体系形成的层相发生相变,也就是温度超过 94.8 °C 后,立即进行降温处理。此时,各向同性区域能重新恢复为层相,马耳他十字织构得以重现。若在体系达到完全清亮后,即温度超过 106.8 °C,再进行降温操作,温度降至室温后 1 h 内马耳他十字织构仍未再出现,体系始终保持为各向同性。

而在室温至零下的降温过程中,当体系降至 -17.3 °C 出现相变时,立即进行升温处理。温度升至 -1.8 °C,马耳他十字重新出现,液晶开始恢复为层相状态,升温至室温,马耳他十字较为明显,但有断裂现象,表明对应脂质体已出现一定损伤,如图 4 所示。同样,若在体系降温至 -46.7 °C,即完全相变后的暗场状态,再进行升温操作,温度升至 -14.5 °C 时,层相对应织构开始出现,至 -1.8 °C 时马耳他十字重现(但有断裂),脂质

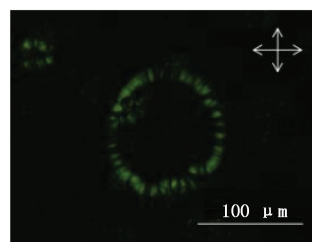


图 4 降温过程后恢复至室温时液晶相显微图

Fig. 4 Micrographs of liquid crystalline phase at room temperature after the cooling process

体结构能基本恢复。

实验结果表明,高温下只要生物液晶所处环境未超过清亮温度,依靠液晶分子的自组装效应,生物膜结构能够自动修复或者重新构筑。但若环境温度超过清亮点,膜结构则难以在 1 h 内修复。而低温环境能使生物膜整体结构得以较好维持,即使发生相变,在温度回升至室温后,脂质体的层状结构仍能基本恢复。

3.1.3 温度离子效应

人体体液中含有一定量的无机盐成分,为探究这些离子在温度变化时对于生物膜结构的作用,实验中配置 50%磷脂酰胆碱/水体系、50%磷脂酰胆碱/5%NaCl 水溶液体系两类样品,分别测定其液晶层相得以维持的温度区间,与原 50%磷脂酰胆碱/0.9%NaCl 水溶液体系作参考比较。如表 1 所示,在向体系中引入 NaCl 后,由层相向各向同性转变的相变温度有所提高,而由层相向立方相转变的相变温度有所下降,可见,适量无机盐成分的引入能有效拓宽体系中液晶层相存在的温度范围,使生物膜结构更不易为温度变化所影响。

表 1 不同 NaCl 含量体系的相变温度

Tab.1 Phase-transition temperatures of systems containing different amounts of NaCl

体系	相变温度/℃ (室温至零下 降温过程)		相变温度/℃ (升温过程)	
	Iso-L	L-Cub	Cub-L	L-Iso
50%磷脂酰胆碱/ 水体系	/	-13.5	-0.7	103.6
50%磷脂酰胆碱/ 0.9%NaCl 水溶液体系	/	-17.3	-1.8	106.8
50%磷脂酰胆碱/ 5%NaCl 水溶液体系	/	-17.9	-2.0	116.3

3.2 电磁场

自然界存在环境磁场,而各种电气设备,如输电线路、家用电器等也能产生电磁场。大量实验和临床实践表明,电磁场对生物机体的活动及其生理、生化过程具有一定影响^[20-22]。而关于电磁

场对细胞的作用机制,目前广泛认为其是通过对细胞膜的初始作用,使细胞表面蛋白分子产生电泳作用,改变膜上电位分布,进而调节受、配体结合,激活信号转导系统,最终导致细胞的生物学行为发生改变^[23]。本文通过控制电磁场源强度,作用时间,以及体系溶剂离子浓度等因素,探究电磁场对生物膜结构的作用。

3.2.1 电场响应

实验中将 50%磷脂酰胆碱/0.9%NaCl 水溶液体系置于 2 000 kV/m 高强度恒定电场下,10 min 后体系脂质体便发生严重变形,部分区域甚至出现了击穿现象,2 h 时脂质体结构整体沿电场方向拉伸变形,十字已难以辨认。在 60 kV/m 电场作用下,如图 5(b)所示,10 min 内除部分小尺寸脂质体发生一定变形,液晶相整体能得以保存;3 h 时十字织构变形开始明显;4 h 后,大部分脂质体结构已破坏严重,仅剩余少量严重扭曲且缺陷明显的大尺寸十字,如图 5(c)所示。若将样品置于 20 kV/m 的恒定电场下,作用 4 h 内,体系中的脂质体结构几乎都能保持完整,仅少量十字有轻微形变。

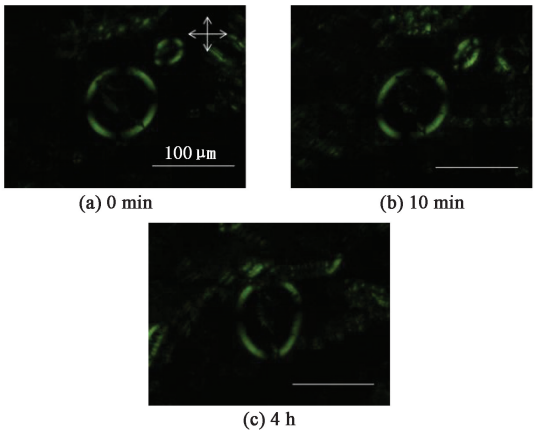


图 5 60 kV/m 恒电场作用不同时间下液晶相变化显微图。其中标尺大小均为 100 μm。

Fig.5 Micrographs of LC phases after applying a 60 kV/m constant electrical field for different time (a:0 min, b:10 min, c:4 h). The scale bars are all 100 μm.

从实验现象可以看出,恒电场对于生物膜的作用效果与电场强度和作用时间均密切相关,对于短时间(4 h 以内)的恒电场作用,电场强度应当小于 20 kV/m。由世界卫生组织(WHO)推荐

的美国电气与电子工程师协会(IEEE)标准 C95.6 关于电场暴露限值^[24]规定如下表 2 所示,公众所接触的 0~3 kHz 极低频电场(包括 50 Hz 工频磁场)限值应当在 5 kV/m 以下,而职业人员在受控环境下可接触的电场也应当小于 20 kV/m,这一标准与本文实验结果十分相符。而在实际生活中,不同类型的电场(稳恒、脉冲、工频等)对于人体的作用效果存在差异,由表 2 可见,对于 0~3 kHz 的极低频磁场,随着电场频率的增大,其限值也相应减小。

表 2 IEEE 标准的电场暴露限值

Tab.2 Exposure limits of electric field in IEEE standards

公众		受控环境	
频率范围 f/Hz	电场强度 $E/(\text{kV}/\text{m})$	频率范围 f/Hz	电场强度 $E/(\text{kV}/\text{m})$
1~368 ^①	5 ^②	1~272 ^①	20 ^③
368~3 000	$1.84 \times 10^3 / f$	272~3 000	$5.44 \times 10^3 / f$
3 000	0.614	3 000	1.813

注:①频率低于 1 Hz 的电场的暴露限值大于 1 Hz 电场对应的限值②电力线路走廊内,在正常工作状态下公众最大许可暴露水平为 10 kV/m。③当职业人员不会接触接地导体时,在受控环境内可能会超过 20 kV/m。

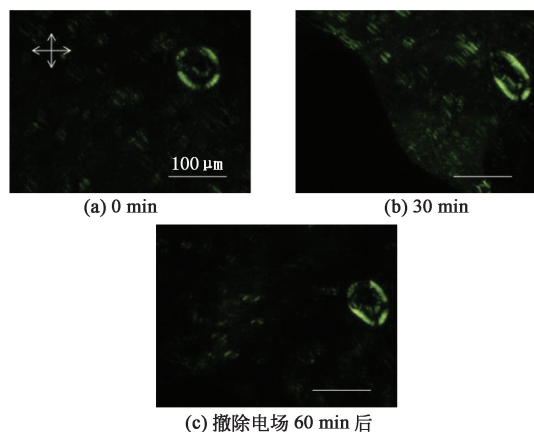


图 6 电场作用下及电场撤去后液晶相变化的显微图.其中(a):未加电场,(b):施加 3 000 kV/m 恒电场 30 min,(c):撤除电场 60 min。标尺大小均为 100 μm 。

Fig.6 Micrographs of LC phases after taking off electric field 3 000 kV/m, (a) no electric field, (b) applying a 3 000 kV/m constant electrical field for 30 min, (c) 60 min after taking off voltage. The scale bars are all 100 μm .

另外,在高强度电场作用的过程中,液晶相会出现部分区域被击穿的情况。实验中,在 3 000 kV/m 恒电场作用 30 min 后,如图 6(b)所示,视野中出现了与击穿对应的暗场。此时若立即撤去电场,静置 1 h 后,可以观察到原击穿界面处层相重新恢复的现象,如图 6(c)所示。而这种可恢复性同样体现了生物膜结构分子的自组装性质。

3.2.2 磁场响应

实验中将恒磁场以垂直于液晶盒方向持续施加于 50% 磷脂酰胆碱/0.9% NaCl 水溶液体系,在 30 mT 强度磁场作用下,脂质体整体结构能得以维持,9 h 内液晶相未被破坏,如图 7(a'')所示;在 40 mT 磁场作用下,脂质体 4 h 内便发生一定变形,9 h 时结构扭曲更趋严重,但未出现解体;而在 50 mT 强度磁场作用下,脂质体结构在 1 h 内便发生严重变形,马耳他十字壳带出现大量裂纹缺陷,受损严重,4 h 后脂质体结构已明显解体,十字织构已无法辨认,如图 7(c'),7(c'')所示。

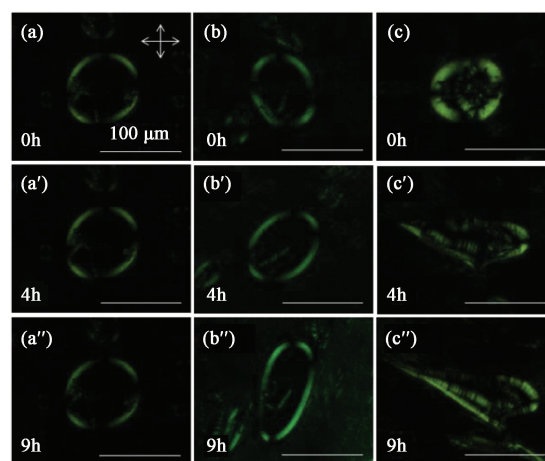


图 7 (a)(a')(a'')30 mT,(b)(b')(b'')40 mT 与(c)(c')(c'')50 mT 磁场作用不同时间下液晶相变化显微图.其中标尺大小均为 100 μm 。

Fig.7 Micrographs of LC phases applied with (a)(a')(a'') 30 mT, (b)(b')(b'') 40 mT and (c)(c')(c'') 50 mT constant magnetic fields respectively for different time. The scale bars are all 100 μm .

一系列研究表明,中等强度(0.1 mT~1 T)稳恒磁场能使细胞膜发生一定程度形变^[23],并使蛋白质、酶等大分子的构象发生变形和扭曲^[25],而实验中脂质体结构的变形甚至解体正是这种作用的体现。IEEE 标准 C95.6 规定人体各部位接

触 0~3 kHz 磁场的最低限制如表 3 所示,其中,公众接触的恒磁场限值为 118 mT。而实验结果表明,对于长时间(9 h)的人体恒磁场接触,磁场强度需保持在 40 mT 以下。可见,即使是处在低于曝露限值的恒磁场,过长时间的接触也可能引起伤害。

表 3 IEEE 标准的磁场曝露限值

Tab.3 Exposure limits of magnetic field in IEEE standards

人体部位	频率范围 f/Hz	公众 磁感应强度 B/mT	受控环境 磁感应强度 B/mT
头与躯干	<0.153	118	353
	$0.153\sim 20$	$18.1/f$	$54.3/f$
	$20\sim 759$	0.904	2.71
	$759\sim 3\,000$	$687/f$	$2060/f$
手臂与腿	<10.7	353	353
	$10.7\sim 3\,000$	$3\,790/f$	$3\,790/f$

3.2.3 电磁场离子效应

细胞是一种选择性通透屏障,通过一定方式的物质跨膜运动,产生并维持了膜两侧不同带电离子的特定浓度分布。在稳恒电磁场的作用下, Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 等离子将受电场力和洛伦兹力作用运动,从而影响膜的通透性,导致细胞稳态改变。此外,电磁场在人体内引起的感应电流也将对组织器官造成损伤。

为探究电磁场下离子的运动对生物膜结构的破坏,实验中将 50% 磷脂酰胆碱/0.9% NaCl 水溶液体系与 50% 磷脂酰胆碱/水体系置于相同电磁场环境(分别为 2 000 kV/m 恒电场与 50 mT 恒磁场),作用相同时间后进行比较。在电场作用下,30 min 后盐水体系马耳他十字发生明显形变,脂质体结构损伤严重,如图 8(a)、8(a')所示,而水体系液晶相只出现了部分缺陷,如图 8(b)、8(b')所示;在磁场作用下,8 h 后盐水体系的膜结构已彻底破坏,如图 8(c)、8(c')所示,而水体系中十字只发生了一定形变,如图 8(d)、8(d')所示。可见,电磁场的作用除了造成无机盐离子的代谢异常,影响细胞正常生命活动,离子的存在本身也不利于电磁场下生物膜基本结构的维持。

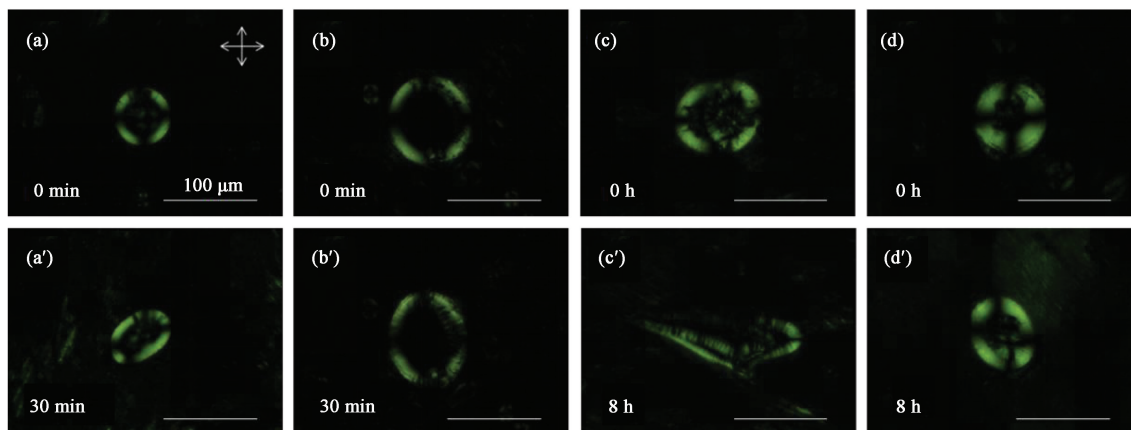


图 8 电磁场作用下不同体系液晶相变化显微图。(a')与(b')分别表示为 2 000 kV/m 恒电场作用后与(a)盐水体系与(b)水体系的液晶相变化,(c')与(d')分别表示为 50 mT 恒磁场作用后与(c)盐水体系与(d)水体系的液晶相变化,其中标尺大小均为 100 μm 。

Fig.8 Micrographs of LC phases in different systems driven by electric and magnetic fields. (a') and (b') represent for phase changes of (a) salt water system and (b) water system respectively applied with a 2000kV/m electric field. (c') and (d') represent for phase changes of (c) salt water system and (d) water system respectively applied with a 50mT magnetic fields. The scale bars are all 100 μm .

3.3 化学品

3.3.1 乙醇

人体在摄入酒精后,可以依靠自身进行分解调节,但过量饮酒会直接影响酒精在人体中的分解时

间,导致酒精中毒。一般,轻度酒精中毒(单纯性醉酒)时血中乙醇浓度在 7.5~15 mg/100 mL,重度中毒多在 20 mg/100 mL 以上,而当乙醇血浓度达到 400~500 mg/100 mL 时有致死可能^[26]。

为模拟人体饮酒后部分组织细胞所处环境,实验中在 50% 磷脂酰胆碱/0.9% NaCl 水溶液体系中掺入了不同量乙醇,液晶相结构随之出现不同程度变化。掺入少量乙醇时(0.6%),如图 9(b)所示,原本的马耳他十字呈现体积减小的趋势,表明体系中磷脂酰胆碱分子的成膜过程受到了抑制,双亲分子只能少量聚集排列,难以形成大尺寸的脂质体结构;继续提高掺入乙醇含量(3.7%),如图 9(c)所示,马耳他十字体积显著减小,数量逐渐变少,且亮度有所减弱,表明液晶分子此时成膜困难。

生物学研究表明,人体体液部分约占体重的 65%~70%,而药物(包括乙醇)在血液中的含量与在体液中的含量大体是一样的。人体正常全血密度为 1.048 g/mL,以乙醇在体系中质量分数为 0.6% 为例,此时乙醇血浓度约达 630 mg/100 mL,已超过可能致死的乙醇血浓度临界。可见,过量乙醇成分的引入将抑制磷脂分子膜状结构的形成,影响生物膜结构的稳定性,使原结构更易遭到破坏,进而影响整个细胞组织正常的生命活动。

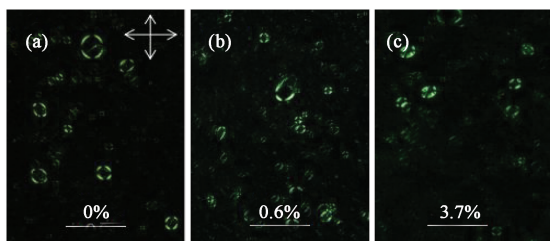


图 9 引入不同组分乙醇后体系液晶相显微图。(a) 为未添加乙醇时的液晶相,(b)~(c)为乙醇占体系质量分数分别为 0.6%、3.7%。其中标尺大小均为 200 μm 。

Fig.9 Micrographs of LC phases in systems which contain (a) no alcohol and (b) 0.6%, (c) 3.7% of alcohol. The scale bars are all 200 μm .

3.3.2 石油醚

石油醚作为一种轻质石油产品,主要成分为戊烷和己烷,是化学合成工业中常用的一种试剂。由于其具有较强的挥发性而易被人体吸入,从而对人体造成损伤。为探究石油醚成分对人体生物膜结构的影响,实验在 50% 磷脂酰胆碱/0.9% NaCl 水溶液体系中掺入了不同比例的石油醚,并

观察了其液晶相的变化。

当体系中引入较小量的石油醚成分时($< 1.7\%$),如图 10(a)~10(c)所示,液晶相就出现了马耳他十字尺寸、数量骤减的情况。同时,由实验现象可见,与掺入乙醇时相比,磷脂酰胆碱分子在含有石油醚成分的体系中成膜明显更为困难。这是因为石油醚的链烃属于非极性分子,在原本的极性溶剂中会有效抑制双亲分子的层相聚集排列。

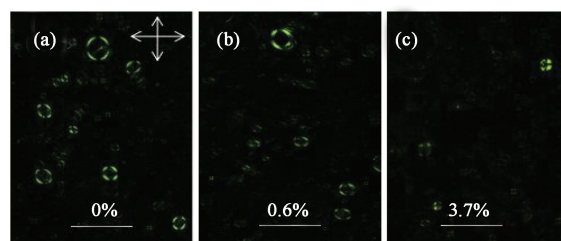


图 10 引入不同比例石油醚后体系液晶相显微图。(a)为未添加石油醚时的液晶相,(b)、(c)为石油醚占体系质量分数分别为 0.6%、1.7%。其中标尺大小均为 200 μm 。

Fig.10 Micrographs of LC phases in systems which contain (a): no petroleum ether and (b): 0.6%, (c): 1.7% of petroleum ether. The scale bars are all 200 μm .

表 4 不同石油醚含量体系的相变温度

Tab.4 Phase-transition temperatures of systems containing various amounts of petroleum ether

体系	相变温度/ $^{\circ}\text{C}$		相结构破坏温度/ $^{\circ}\text{C}$
	L-Cub	L-Iso	
50% 磷脂酰胆碱/ 0.9% NaCl 水溶液体系	-17.3	106.8	94.8
50% 磷脂酰胆碱/ 0.9% NaCl 水溶液体系 + 石油醚(0.6%)	-17.3	106.5	93.2
50% 磷脂酰胆碱/ 0.9% NaCl 水溶液体系 + 石油醚(1.7%)	-17.6	106.4	89.2

此外,实验中分别测量了不同石油醚组分的液晶体系对应的相变温度及相结构破坏临界点,如上表 4 所示。结果表明,在浓度小于 1.7% 的石油醚体系中,随着石油醚成分的引入,液晶层相高温结构破坏的温度将有一定的降低。

4 结 论

本文根据生物膜双分子层结构的液晶特性,提出建立由磷脂酰胆碱分子在盐水环境下构筑的脂质体模型,以模拟人体细胞所处环境。然后,通过观察液晶相态结构变化,探究了体系在温度、电

场、磁场等外界激励作用下,生物膜结构的损伤与破坏临界。最后,研究了体系在无机盐离子组分变化,及引入乙醇、石油醚物质后生物膜结构与性质的变化。实验结果证明:生物膜层相维持在 $-17.3\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 94.8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围,结构的高温损伤临界值在 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右;人体恒定电磁场的接触限值(4 h 以内)分别为 20 kV/m 和 40 mT ,且损伤随时间累积渐趋加重;无机盐离子有利于温度变化时生物膜结构的维持,但会加剧电磁场下膜结构的损伤;乙醇与石油醚均会抑制磷脂分子形成膜状结构,破坏生物膜的稳定性,且两者在体液中的浓度临界值均在 630 mg/100 mL 以下。

参 考 文 献:

- [1] BROWN G H, WOLKEN J J. *Liquid Crystals and Biological Structures* [M]. New York: Academic Press, 1979: 56-162.
- [2] 李兰英,武长城,姚康德.生物液晶[J].化学通报,2005(10):745-750.
LI L Y, WU C C, YAO K D. Liquid crystalline biomacromolecules [J]. *Chemistry*, 2005(10): 745-750. (in Chinese)
- [3] 高鸿锦.液晶化学[M].北京:清华大学出版社,2011:104-106.
GAO H J. *Liquid Crystal Chemistry* [M]. Beijing: Tsinghua University Press, 2011: 104-106. (in Chinese)
- [4] 郑正炯.生命现象中的液晶态[J].生物化学与生物物理进展,1974(4):40-43.
ZHENG Z J. Liquid crystal state in life phenomenon [J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 1974, 1(4): 40-44. (in Chinese)
- [5] 欧阳钟灿.生物膜形状的液晶模型理论研究[J].液晶与显示,2003,18(2):79-83.
OUYANG Z C. Theoretical study on the shape of liquid-crystal biomembranes [J]. *Chinese Journal of Liquid Crystals and Displays*, 2003, 18(2): 79-83. (in Chinese)
- [6] 欧阳钟灿.从液晶显示到液晶生物膜理论:软凝聚态物理在交叉学科发展中的创新机遇[J].物理,1999,28(1):15-21.
OUYANG Z C. From liquid crystal displays to liquid crystalline biomembrane theory [J]. *Physics*, 1999, 28(1): 15-21. (in Chinese)
- [7] 朱宪,叶宇慧,孙当如.用平板双分子层脂膜模拟研究锌离子跨细胞膜的传递过程[J].环境化学,2005,24(5):558-561.
ZHU X, YE Y H, SUN D R. Preparation of planar bilayer lipid membranes and its application for research on Zn^{2+} transfer across BLM [J]. *Environmental Chemistry*, 2005, 24(5): 558-561. (in Chinese)
- [8] 沈海军.磷脂酰乙醇胺双分子层膜低能电子散射的 Monte Carlo 模拟[J].膜科学与技术,2007,27(2):39-44.
SHEN H J. Monte Carlo simulations on electrons scattering in phosphatidylethanolamine bilayer membrane under the action of low energy electrons [J]. *Membrane Science and Technology*, 2007, 27(2): 39-44. (in Chinese)
- [9] 张晓杰.细胞病理学[M].北京:人民卫生出版社,2009:10-13.
ZHANG X J. *Cell Pathology* [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2009: 10-13. (in Chinese)
- [10] 徐国恒.细胞膜的双层磷脂结构与功能[J].生物学通报,2006,41(9):11-14.
XU G H. Structure and functions of the membrane bilayer in eukaryotic cell [J]. *Bulletin of Biology*, 2006, 41(9): 11-14. (in Chinese)

- [11] 谢毓章,刘寄星,欧阳钟灿.生物膜的液晶理论[J].自然科学进展,1994,4(5):580-588.
XIE Y Z, LIU J X, OUYANG Z C. Liquid crystalline theory of biomembrane [J]. *Progress in Natural Science*, 1994, 4(5): 580-588. (in Chinese)
- [12] 张静,孙润广.脂质体的液晶态结构和稳定性研究[J].液晶与显示,2003,18(4):266-270.
ZHANG J, SUN R G. Liquid crystalline structure and stability of liposomes studied by atomic force microscope [J]. *Chinese Journal of Liquid Crystals and Displays*, 2003, 18(4): 266-270. (in Chinese)
- [13] 胡小中.磷脂酰胆碱的生理功能和作用机理[J].粮油食品科技,2011,19(4):42-44.
HU X Z. Physiological function of phosphatidylcholine and its possible mechanism of action [J]. *Science and Technology of Cereals, Oils and Foods*, 2011, 19(4): 42-44. (in Chinese)
- [14] 姜文清,郝京诚.水相和特殊介质中有序聚集体的结构、性质和应用(I)——表面活性剂在水相和离子液体中的有序聚集体[J].日用化学工业,2008,38(4):257-266.
JIANG W Q, HAO J C. Structures, properties and applications of ordered aggregate in aqueous phase and ionic liquids (I)——ordered aggregate formed by surfactant in aqueous phase and ionic liquids [J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics*, 2008, 38(4): 257-266. (in Chinese)
- [15] 杨海珉,吴杰,周建莉,等.生物液晶中马尔它十字成因初探[J].昆明医学院学报,1993,14(3):9-12.
YANG H M, WU J, ZHOU J L, et al. Preliminary researches for the causes of Maltese-cross formed in biological liquid crystals [J]. *Academic Journal of Kunming Medical College*, 1993, 14(3): 9-12. (in Chinese)
- [16] 马明珍,安虎雁,安俊杰.液晶态类脂滴马尔它十字成因的研究[J].新疆大学学报:自然科学版,1996,13(4):39-42.
MA M Z, AN H Y, AN J J. Study on maltescross cause of formation by lipid drop liquid crystals [J]. *Journal of Xinjiang University*, 1996, 13(4): 39-42. (in Chinese)
- [17] 马洪超,袁杰,于丽,等.水相和特殊介质中有序聚集体的结构、性质和应用(VI)——反相胶束/微乳液、反相溶致液晶和囊泡[J].日用化学工业,2010,40(2):129-140.
MA H C, YUAN J, YU L, et al. Structure, properties and application of ordered aggregates in aqueous and special media (VI)——reversed micelle/microemulsion, reversed lyotropic liquid crystal and vesicle [J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics*, 2010, 40(2): 129-140. (in Chinese)
- [18] 庞庆丰,李英.病理学与病理生理学[M].北京:化学工业出版社,2016:134-138.
PANG Q F, LI Y. *Pathology and Pathophysiology* [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2016: 134-138. (in Chinese)
- [19] 杨果杰.体温调节和发热的比较生理学[J].实验动物科学与管理,2003,20(1):40-42.
YANG G J. The comparison physiology on thermoregulation and thermogenesis [J]. *Laboratory Animal Science and Administration*, 2003, 20(1): 40-42. (in Chinese)
- [20] 包家立.极低频电磁场的健康效应[J].高电压技术,2015,41(8):2550-2561.
BAO J L. Health effects of extremely low frequency electromagnetic fields [J]. *High Voltage Engineering*, 2015, 41(8): 2550-2561. (in Chinese)
- [21] 曹根发,童建.极低频电磁场与公众健康[J].环境与职业医学,2006,23(3):281-284.
CAO G F, TONG J. Extremely low frequency electromagnetic fields and public health [J]. *Journal of Environmental and Occupational Medicine*, 2006, 23(3): 281-284. (in Chinese)
- [22] 孔令丰,刘宝华.电磁辐射防护标准研究及探讨[J].中国职业医学,2007,34(3):232-233.
KONG L F, LIU B H. An exploratory research on electromagnetic radiation protection standards [J]. *China Occupational Medicine*, 2007, 34(3): 232-233. (in Chinese)
- [23] 杨丽,乔晓艳,董有尔.磁场生物效应的研究现状与展望[J].中国医学物理学杂志,2009,26(1):1022-1024,1037.
YANG L, QIAO X Y, DONG Y E. Status&prospect on the bioeffect of magnetic field [J]. *Chinese Journal of Medical Physics*, 2009, 26(1): 1022-1024, 1037. (in Chinese)
- [24] IEEE. IEEE Std. C95.6-2002, IEEE standard for safety levels with respect to human exposure to electromagnetic

- fields, 0-3kHz [S]. New York: IEEE, 2002.
- [25] 朱杰.磁场的生物学效应及其机理的研究[J].生物磁学,2005,5(1):26-29.
ZHU J. Study on the biological effects of magnetic fields and its possible mechanisms [J].*Biomagnetism*, 2005, 5 (1): 26-29. (in Chinese)
- [26] 蔡文伟, 陈凤英, 陈寿权, 等. 急性酒精中毒诊治共识 [J]. 中华急诊医学杂志, 2014, 23(2): 135-138.
CAI W W, CHEN F Y, CHEN S Q, *et al.* Diagnosis and treatment of acute alcoholism [J]. *Chinese Journal of Emergency Medicine*, 2014, 23(2): 135-138.(in Chinese)

作者简介:吴赛博(1995—),男,江苏启东人,主要从事溶致液晶与液晶光学器件方面的研究。E-mail:cyber0606@163.com