

**МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**имени М.В. Ломоносова**

**ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

**На правах рукописи**

**ИВАНОВ РОМАН АЛЕКСАНДРОВИЧ**

**КОЛЛОИДНО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СМЕСЕЙ  
ЛИЗОЦИМ – ПАВ В СИСТЕМЕ ВОДНЫЙ РАСТВОР/ОКТАН**

**специальность 02.00.11 – коллоидная химия**

**Автореферат**

**диссертации на соискание ученой степени**

**кандидата химических наук**

**МОСКВА – 2015**

Работа выполнена на кафедре коллоидной химии химического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Научный руководитель: Соболева Оксана Анатольевна,  
кандидат химических наук, доцент, ФГБОУ  
ВПО «Московский государственный универ-  
ситет имени М.В. Ломоносова».

Официальные оппоненты: Калинина Мария Александровна,  
доктор химических наук, ведущий научный  
сотрудник, ФГБУН «Институт физической  
химии и электрохимии имени  
А.Н. Фрумкина».

Деркач Светлана Ростиславовна,  
доктор химических наук, профессор, ФГБОУ  
ВПО «Мурманский государственный техни-  
ческий университет».

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Российский химико-  
технологический университет имени  
Д.И. Менделеева».

Защита состоится 19 марта 2015 года в 15 часов 00 минут на заседа-  
нии диссертационного совета Д 501.001.49 при Московском государст-  
венном университете имени М.В. Ломоносова по адресу: Москва, ГСП-1,  
119991, Ленинские горы, дом 1, строение 3, ауд.446.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке МГУ имени М.В. Ломоносова и на сайте химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова <http://www.chem.msu.ru/>.

Отзывы на автореферат высылать по адресу: Москва, ГПС-1, 119991,  
Ленинские горы, дом 1, строение 3, Ученому секретарю диссертационного  
совета Д 501.001.49 Богдановой Ю.Г.

Автореферат разослан 15 января 2015.

Ученый секретарь  
диссертационного совета Д 501.001.49  
кандидат химических наук, доцент



/Богданова Ю.Г./

## Общая характеристика работы

**Актуальность темы.** Изучение адсорбции глобулярных белков на границах раздела фаз водный раствор/органическая жидкость в присутствии поверхностно-активных веществ ПАВ актуально с точки зрения понимания ряда биологических процессов, происходящих в клеточных мембранах, и развития новых биохимических технологий в различных областях. Интерес к изучению смесей белок – ПАВ связан с широким использованием таких композиций при создании лекарственных препаратов, моющих средств, эмульсий в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности. Большинство результатов, полученных в последнее время, относится к изучению водных растворов смесей белок – ПАВ или их адсорбции на границе водный раствор/воздух. Система усложняется, если водная фаза граничит с органической, так как оба компонента смесей и их комплексы могут не только адсорбироваться на межфазной поверхности, но и переходить в органическую фазу. Такие двухфазные системы ближе к условиям протекания как биологических, так и ряда технологических процессов. Слабая изученность поведения смесей белок – ПАВ в системе водный раствор/органическая жидкость объясняется ограниченным набором экспериментальных методик, позволяющих получать достоверные данные об адсорбции на межфазной границе. Использование в данной работе метода сцинтиллирующей фазы с мечеными тритием веществами открывает широкую перспективу получения надежных данных об адсорбции, распределении веществ в системе и, главное, о взаимном влиянии белка и ПАВ на эти свойства. Развитый в диссертации подход к изучению бинарных смесей, в котором тритиевую метку содержит поочередно один из компонентов смеси, дает информацию о взаимном влиянии веществ на их адсорбцию, распределение, состав адсорбционного слоя в широкой области концентраций, включая область низких концентраций, в которой другие методы не применимы. В последнее время разработаны методики получения, выделения и идентификации меченных тритием органических веществ различного строения, что позволило исследовать смеси глобулярного белка лизоцима (Lz) не только с традиционными ПАВ – бромидом додецилтриметиламмония (DTAB) и додецилсульфатом натрия (SDS), но и с цвиттерионным ПАВ кокоамидопропил бетаином (CAPB), который в последнее время широко используется в качестве соПАВ при создании различных композиций в косметической промышленности и

моющих средствах. Сочетание методов сцинтиллирующей фазы и межфазной тензиометрии позволило впервые показать, как взаимодействия между белком и ПАВ разной природы влияют на коллоидно-химические свойства двухфазных систем водный раствор/органическая жидкость.

**Цель работы:** установить механизмы адсорбции и распределения смесей лизоцима и ПАВ различной природы в системе двух несмешивающихся жидкостей. Установить влияние взаимодействия белка и ПАВ на коллоидно-химические свойства систем водный раствор смеси Lz – ПАВ/октан.

Для достижения поставленной цели в диссертации решались следующие **задачи:**

- методом сцинтиллирующей фазы определить коэффициенты распределения и величины адсорбции лизоцима и ПАВ на границе вода/октан, установить состав адсорбционных слоев;
- разработать методику получения меченного тритием цвиттерионного ПАВ кокоамидопропил бетаина;
- изучить взаимное влияние белка и ПАВ на межфазное натяжение;
- определить размер и структуру агрегатов белок – ПАВ;
- исследовать ферментативную активность лизоцима в присутствии ПАВ;
- оценить устойчивость смачивающих пленок, стабилизированных смесями лизоцим – ПАВ.

**Научная новизна.** Разработанный в диссертации подход, основанный на сочетании методов сцинтиллирующей фазы и межфазной тензиометрии, позволил получить уникальные данные о взаимном влиянии лизоцима и ПАВ на адсорбцию на границе водный раствор/октан, на распределение в двухфазной системе, определить состав смешанных адсорбционных слоев Lz с ПАВ различного типа (анионного, катионного и, впервые, цвиттерионного) в широкой области концентраций. На основании сопоставления данных методов сцинтиллирующей фазы, тензиометрии, статического и динамического светорассеяния, флюоресценции, определения ферментативной активности установлены основные стадии перераспределения компонентов между контактирующими фазами и межфазным адсорбционным слоем. Выявлены области концентраций, при которых формируются гидрофобный и гидрофильный комплексы белок – ПАВ, установлена их локализация и влияние на межфазное натяжение, ферментативную активность, устойчивость смачивающих пленок.

**Практическая значимость.** Выявленные закономерности адсорбции глобулярных белков в присутствии других веществ на границе жидкость/жидкость могут способствовать пониманию функционирования белков в живых организмах, а также быть использованы для развития новых биохимических технологий. Данные о влиянии ПАВ на ферментативную активность Lz позволяют оптимизировать состав композиций, используемых для создания дисперсных систем, стабилизированных смесями белок – ПАВ.

Полученные закономерности поведения смесей белок – ПАВ в системе водный раствор/органическая жидкость могут быть использованы в спецкурсах для студентов и аспирантов, специализирующихся в области коллоидной химии, биохимии, биотехнологии.

**Апробация работы.** Основные результаты работы были представлены на следующих научных мероприятиях: XVIII международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2011» (Москва, 2011), III конференция молодых ученых «Реология и физико-химическая механика гетерофазных систем» (Суздаль, 2011), XIX Всероссийской конференция «Структура и динамика молекулярных систем. Яльчик 2012» (Йошкар-Ола, 2012), XX международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2013» (Москва, 2013), IV International Conference on Colloid Chemistry and Physicochemical Mechanics (Moscow, 2013), The First Russian-Nordic Symposium on Radiochemistry (Moscow, 2013), XXI международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2014» (Москва, 2014).

**Публикации.** По теме диссертации опубликованы 4 статьи в международных журналах и рекомендованных ВАК российских периодических изданиях, одна статья в рецензируемом сборнике и 7 тезисов докладов.

**Объем и структура работы.** Диссертационная работа объемом 135 страниц машинописного текста (127 страниц основного текста и 8 страниц приложений) состоит из введения, трех глав, содержащих 54 рисунка и 6 таблиц, выводов, списка литературы, включающего 217 наименований, и 8 приложений.

## Основное содержание диссертационной работы.

Во введении кратко излагается актуальность темы, цели и задачи работы, научная новизна и практическая значимость исследования.

Первая глава представляет обзор литературы, посвященный изучению объемных и поверхностных свойств смесей белков с ПАВ различного типа. Рассмотрены современные представления о взаимодействии белков с ПАВ, структуре образующихся агрегатов и о влиянии взаимодействия на поверхностное натяжение и адсорбцию смесей белок – ПАВ на различных межфазных поверхностях. В отдельном параграфе проанализирована литература, касающаяся использования радиоактивных меток для изучения адсорбции белков и ПАВ на границе водный раствор/органическая жидкость. В заключительной части обзора рассмотрено стабилизирующее действие смесей белок – ПАВ на пены и эмульсии. Отмечается, что в научной литературе практически отсутствуют количественные данные об адсорбции смесей белок – ПАВ на границе жидкость/жидкость.

Во второй главе описаны использованные реактивы и экспериментальные методы. В эксперименте использовали лизоцим (Lz) белка куриных яиц, додецилтриметиламмоний бромид (DTAB), додецилсульфат натрия (SDS), кокоамидопропил бетаин (CAPB). В растворах поддерживали постоянную концентрацию белка – 0,01, 0,1 и 1 г/л ( $7 \cdot 10^{-7}$ ,  $7 \cdot 10^{-6}$ ,  $7 \cdot 10^{-5}$  М, соответственно), концентрацию ПАВ  $C$  [М] варьировали от  $10^{-7}$  до  $10^{-2}$  М. Все водные растворы были приготовлены в солевом фосфатном буфере, рН 7,2, ионная сила 0,15 М. В качестве органической фазы использовали октан.

Адсорбция и распределение смесей Lz – ПАВ в системе вода/октан были определены методом сцинтиллирующей фазы с использованием меченных тритием веществ. Метод основан на измерении радиоактивности двухфазной системы  $I_{\Sigma}$  и аликвоты органической фазы  $I_{al}$ , из которых можно рассчитать концентрацию меченого вещества в органической фазе ( $C_o$ ) и его адсорбцию ( $\Gamma$ ) по уравнениям:

$$C_o = \frac{I_V}{60\varepsilon V A_{mol}}, \quad \Gamma = \frac{2I_S}{60\varepsilon S A_{mol}},$$

где  $I_V = \frac{I_{al}}{V_{al}} \cdot V$  – радиоактивность в объеме органической фазы, имп/мин, ( $V$  – объем органической фазы, мл,  $V_{al}$  – объем аликвоты, мл),  $A_{mol}$  – молярная радиоактивность меченого вещества, Бк/моль,  $I_S = I_{\Sigma} - I_V$  – радиоактивность поверхностного слоя, имп/мин,  $S$  – площадь межфазной

поверхности,  $m^2$ ,  $\varepsilon$  – эффективность регистрации трития. Измерения проводили на жидкостном сцинтилляционном спектрометре Rack Beta 1215 (Финляндия). Поочередное введение тритиевой метки в белок и ПАВ позволило определить адсорбцию и коэффициент распределения  $D = \frac{C_o}{C_w}$  ( $C_w$  – концентрация в водной фазе) для каждого компонента смеси, рассчитать состав адсорбционных слоев. В работе были использованы меченные тритием Lz, DTAB и SDS с молярной радиоактивностью 5,4, 3,2 и 30,0 ТБк/моль, соответственно. Меченный тритием CAPB был получен методом термической активации трития; выделение, очистка и идентификация CAPB проведены с использованием методов тонкослойной хроматографии и экстракции. Молярная радиоактивность CAPB 23,3 ТБк/моль.

Изотермы поверхностного натяжения  $\sigma(C)$  Lz, DTAB, SDS, CAPB и их смесей на границах водный раствор/воздух и водный раствор/октан были получены методом висящей капли.

Размер частиц и электрокинетический потенциал определяли методом динамического светорассеяния на дзета-сайзере Zeta Trac (Microtrac, США), спектры поглощения водных растворов получали на спектрофотометре Agilent 8453 (Agilent Technologies, США), спектры флуоресценции – на спектрофлуориметре FluoroMax-3 (Horiba Jobin Yvon, Франция). Влияние ПАВ на ферментативную активность лизоцима было изучено турбидиметрическим методом с использованием грам-положительных бактерий *Micrococcus luteus*. Измерения проводились на двухлучевом спектрофотометре UV-1601PC (Shimadzu, Япония). Активность фермента  $A_E$  оценивали по изменению оптической плотности ( $OD$ ) суспензии клеток во времени на начальном линейном участке,  $A_E = -\frac{dOD}{dt}$ .

Методом высокоскоростной видеосъемки (до 1000 кадр/с) была изучена кинетика растекания капли октана по пластине гидрофобизованного стекла, погруженной в водный раствор смесей Lz – ПАВ.

В третьей главе изложены результаты исследований смесей Lz – ПАВ в системе водный раствор/октан и проведено их обсуждение.

Для индивидуального лизоцима коэффициент распределения  $D = (3,3 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$  во всем диапазоне изученных концентраций белка.  $D$  DTAB и SDS составляют  $(6 \pm 0,5) \cdot 10^{-4}$  и  $(4,3 \pm 1,3) \cdot 10^{-3}$ , соответственно.

Коэффициенты распределения лизоцима в бинарных растворах с DTAB и SDS, содержащих 0,01 г/л белка и  $10^{-7}$  –  $10^{-6}$  М ПАВ возрастают

на 40% и 60% по сравнению с  $D$  индивидуального лизоцима, соответственно (рис.1).  $D$  Lz уменьшается при концентрации ПАВ свыше  $10^{-6}$  М (молярное соотношение Lz:ПАВ в системе  $\approx 1:1$ ). Коэффициент распределения белка из смеси с концентрацией 0,1 г/л больше  $D$  индивидуального белка на 40% (DTAB) и 80% (SDS) в области концентраций ПАВ  $10^{-7}$  –  $10^{-4}$  М. При молярном соотношении Lz:ПАВ в системе свыше 1:10 происходит снижение  $D$  до значений близких коэффициенту распределения индивидуального лизоцима.

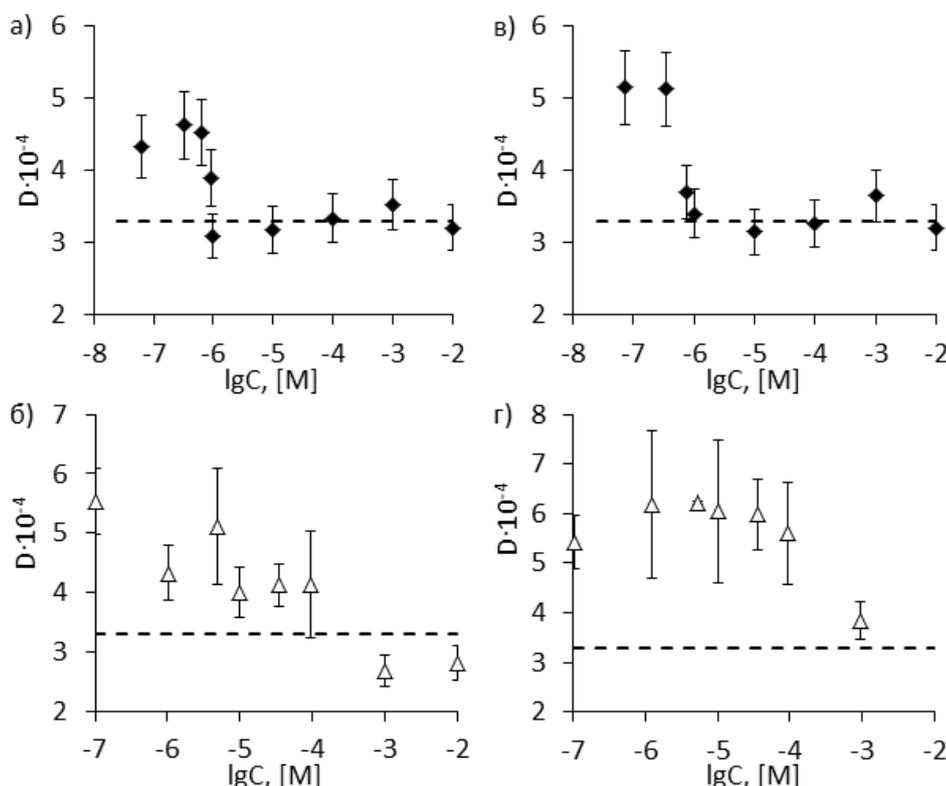


Рис.1. Коэффициенты распределения лизоцима в смесях с DTAB (а, б) и SDS (в, г). Концентрация Lz 0,01 г/л (а, в) и 0,1 г/л (б, г). Пунктирные линии – коэффициенты распределения индивидуального Lz.

В присутствии лизоцима концентрация DTAB и SDS в органической фазе заметно выше, чем в системах без белка в разбавленных растворах ПАВ. Рост концентрации DTAB выше  $5 \cdot 10^{-6}$  М и SDS выше  $10^{-6}$  М приводит к снижению коэффициентов распределения до значений, соответствующих величинам  $D$  для индивидуальных ПАВ.

Рост  $D$  лизоцима в бинарных растворах может быть связан с формированием гидрофобных комплексов белок – ПАВ, обладающих большей растворимостью в органической фазе, чем нативный белок.

Добавки CAPB практически не влияют на распределение лизоцима. Коэффициент распределения CAPB в области малых концентраций ПАВ (до  $10^{-5}$  М) постоянен и составляет  $(1,1 \pm 0,3) \cdot 10^{-3}$ , при дальнейшем увеличении концентрации CAPB происходит рост значений  $D$  (рис.2). В присутствии Lz величины  $D$  CAPB увеличиваются примерно в два раза.

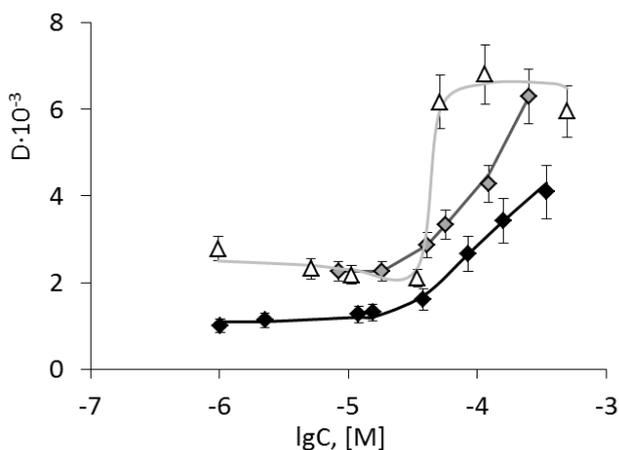


Рис.2. Зависимость коэффициента распределения САРВ от концентрации в индивидуальном растворе (♦) и в смеси с Lz 0,01 г/л (◆) и 0,1 г/л (Δ).

Рост  $D$  САРВ может быть связан с образованием обратных предмицеллярных агрегатов в объеме органической фазы. Для проверки этого предположения были проведены эксперименты по изучению распределения воды в системе, содержащей САРВ. Было получено, что растворимость воды в органической фазе составляет  $(4,3 \pm 1,2) \cdot 10^{-5}$  объемных долей, и эта величина практически не меняется при добавлении САРВ, Lz и смеси Lz – САРВ. Таким образом, заметной полярной области (ядра обратных мицелл) в данных условиях не образуется, однако полученный результат не противоречит предположению о формировании в октане агрегатов с меньшим числом агрегации (например, димеров САРВ).

При добавлении ДТАВ к раствору белка с концентрацией 0,01 г/л в области малых концентраций ПАВ  $10^{-7} - 10^{-6}$  М адсорбция лизоцима в 2,5 раза выше, чем у индивидуального белка (рис.3). Для смеси Lz – ДТАВ с концентрацией белка 0,1 г/л адсорбция лизоцима в диапазоне концентраций ПАВ  $10^{-6} - 10^{-4}$  М в 4 раза выше, чем у индивидуального белка. Рост адсорбции коррелирует с увеличением растворимости Lz в октане. При больших концентрациях ПАВ адсорбция снижается.

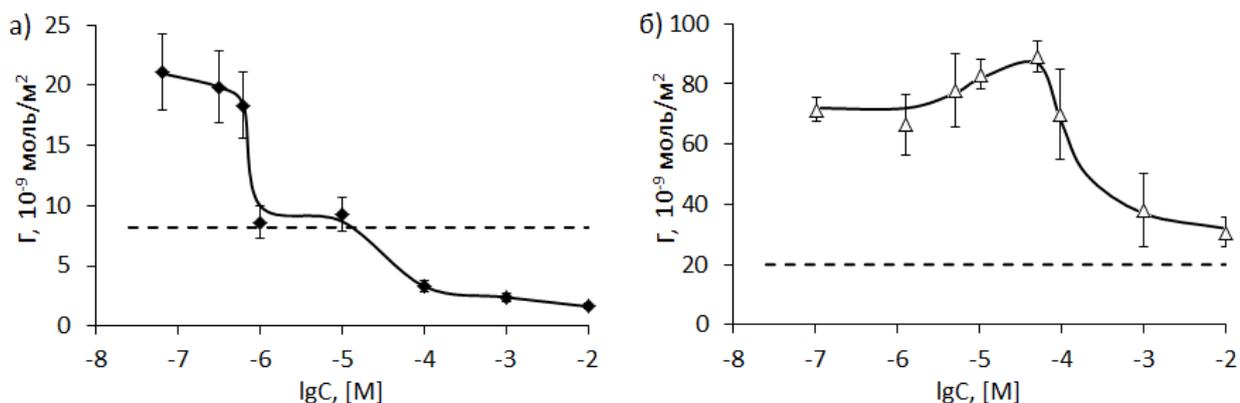


Рис.3. Зависимость адсорбции лизоцима из смеси Lz – ДТАВ с концентрацией белка 0,01 г/л (а) и 0,1 г/л (б) от концентрации ДТАВ. Пунктирные линии – адсорбция индивидуального Lz.

Адсорбция лизоцима из смеси с SDS в области концентраций ПАВ  $10^{-7} - 10^{-4}$  М превышает адсорбцию индивидуального белка в 1,5 раза при концентрации Lz 0,01 г/л и в 8 раз при концентрации Lz 0,1 г/л (рис.4). В последнем случае значение  $\Gamma$  превышает величину максимальной адсорбции, получаемой при формировании насыщенного монослоя ( $1,3 \cdot 10^{-7}$  моль/м<sup>2</sup>). По-видимому, в данной системе образуются полимолекулярные слои. Дальнейшее увеличение концентрации ПАВ приводит к снижению адсорбции белка, однако, лизоцим остается в адсорбционном слое даже при большом избытке ПАВ в растворе.

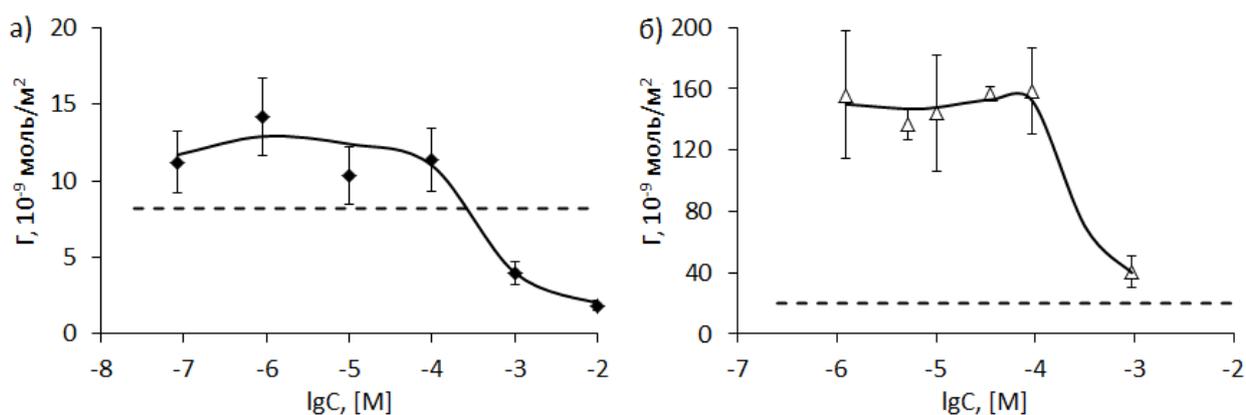


Рис.4. Зависимость адсорбции лизоцима из смеси Lz – SDS с концентрацией белка 0,01 г/л (а) и 0,1 г/л (б) от концентрации SDS. Пунктирные линии – адсорбция индивидуального Lz.

Во второй серии экспериментов по изучению адсорбции методом сквинтилирующей фазы тритиевую метку содержали молекулы ПАВ. В системе Lz – ДТАВ при концентрации лизоцима 0,01 г/л присутствие белка практически не влияет на адсорбцию ПАВ, при концентрации белка в смеси 0,1 г/л адсорбция ДТАВ возрастает (рис.5а). Рост адсорбции ДТАВ наблюдается при той же концентрации, при которой снижается адсорбция лизоцима. Вытеснение Lz из адсорбционного слоя происходит как за счет конкурентной адсорбции с ДТАВ, так и за счет гидрофилизации комплекса Lz – ДТАВ, происходящей при взаимодействии ПАВ с белком по механизму гидрофобного связывания. Снижение адсорбции до величин, превышающих адсорбцию индивидуального белка, указывает на незначительную гидрофилизацию лизоцима.

Добавки Lz к раствору SDS слабо влияют на адсорбцию ПАВ при концентрации SDS ниже  $3 \cdot 10^{-5}$  М (рис.5б). При более высоких концентрациях ПАВ адсорбция SDS из бинарного раствора превышает адсорбцию индивидуального ПАВ. В диапазоне концентраций  $3 \cdot 10^{-5} - 10^{-4}$  М наблюдается синергетический эффект при адсорбции: адсорбция и Lz, и SDS превышает соответствующую величину для индивидуальных веществ.

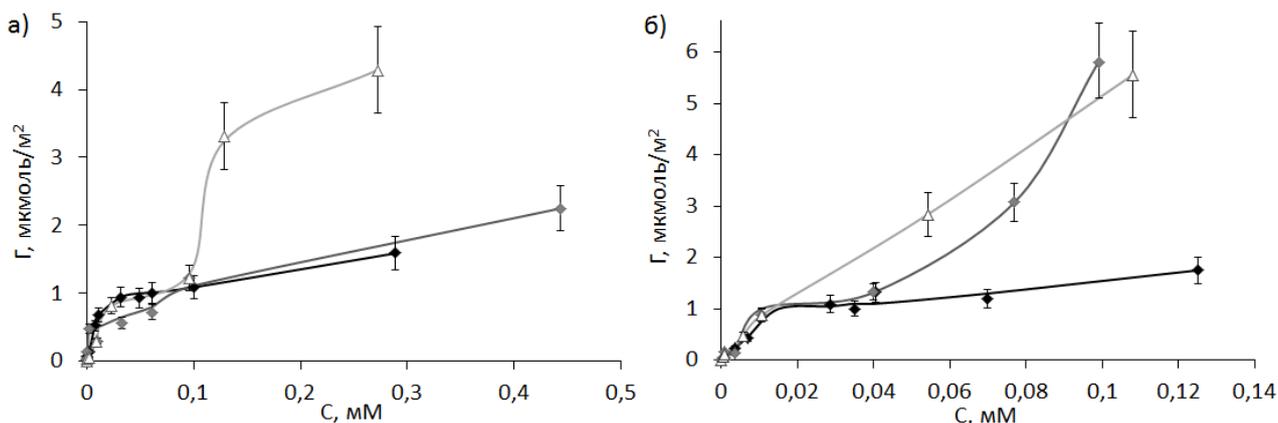


Рис.5. Изотермы адсорбции DTAB(а) и SDS (б) из индивидуального раствора (♦) и из смеси с лизоцимом с концентрацией Lz 0,01 г/л (◆) и 0,1 г/л (Δ).

При добавлении как катионного, так и анионного ПАВ к раствору Lz в области низких концентраций ПАВ (до  $10^{-6}$  М) происходит увеличение величин  $\Gamma$  и  $D$  белка. Полученные результаты указывают на формирование гидрофобного комплекса, растворимость которого в органической фазе и адсорбция на межфазной поверхности выше, чем у индивидуального Lz.

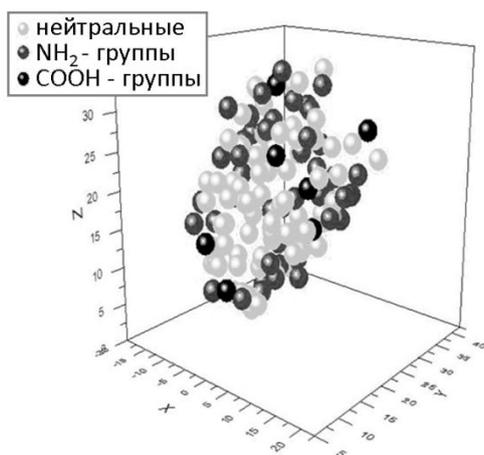


Рис.6. Пространственное расположение  $\text{NH}_2$ - и  $\text{COOH}$ -групп в глобуле лизоцима.

Формирование гидрофобного комплекса Lz – DTAB может происходить следующим образом. Молекула белка содержит в своей структуре группы  $-\text{COOH}$  и  $-\text{NH}_2$ , которые в водных растворах при pH близких к нейтральным могут иметь отрицательный и положительный заряд соответственно (рис.6). В результате как катионное, так и анионное ПАВ имеют возможность взаимодействовать с лизоцимом за счет электростатического притяжения полярных групп.

Глобула лизоцима в водных растворах при pH ниже изоэлектрической точки ( $pI = 11$ ) заряжена положительно. Однако, измеренные нами величины  $\zeta$ -потенциала показали отрицательные значения ( $-4,31 \pm 0,03$  мВ). Все эксперименты в данной работе проводили в солевом фосфатном буфере с ионной силой 0,15 М, которая соответствует физиологическому раствору и создается за счет добавления NaCl. Хлорид ионы, находящиеся в большом избытке, способны адсорбироваться на поверхности белка, вызывая её перезарядку. Соответственно, возможно электростатическое при-

тяжение между поверхностно-активным катионом и белком. Получено, что добавки ДТАВ не влияют на значение  $\zeta$ -потенциала лизоцима во всем изученном диапазоне концентраций:  $\zeta$ -потенциал составляет  $-4,37 \pm 0,04$  мВ. Это возможно, если совместно с ДТАВ<sup>+</sup> внутрь границы скольжения входят противоионы. В изученной системе концентрация NaCl существенно превышает концентрацию ДТАВ, поэтому в качестве противоионов могут выступать не только Br<sup>-</sup>, но и Cl<sup>-</sup>. При взаимодействии полярной группы ДТАВ с Lz углеводородные цепи ПАВ обращаются в сторону водного раствора, в результате чего образуется комплекс белок – ПАВ более гидрофобный, чем нативный белок.

В системах Lz – SDS  $\zeta$ -потенциал частиц составляет  $-4,71 \pm 0,03$  мВ при всех концентрациях ПАВ. Рост гидрофобности лизоцима при сохранении  $\zeta$ -потенциала может происходить в результате замещения хлорид-анионов в двойном электрическом слое белка на анионы додецилсульфата.

Увеличение концентрации ПАВ в водном растворе приводит к снижению адсорбции и коэффициента распределения лизоцима. Полученные результаты могут быть связаны с гидрофилизацией комплекса Lz – ПАВ при взаимодействии белка и ПАВ по механизму гидрофобного связывания.

В системе Lz – ДТАВ гидрофилизация начинается при мольном соотношении ДТАВ:Lz в водной фазе 1:1 в разбавленном растворе белка ( $C_{Lz} = 0,01$  г/л) и при соотношении ДТАВ:Lz = 10:1 в более концентрированном растворе ( $C_{Lz} = 0,1$  г/л). При этом соотношение ДТАВ:Lz в адсорбционном слое в обоих случаях близко к 10:1, поэтому можно предположить, что состав гидрофобного комплекса соответствует стехиометрии ДТАВ:Lz = 10:1.

В системе Lz – SDS уменьшение адсорбции лизоцима происходит при концентрации SDS  $10^{-4}$  М, что соответствует мольному соотношению SDS:Lz в водном растворе 140:1 ( $C_{Lz} = 0,01$  г/л) и 14:1 ( $C_{Lz} = 0,1$  г/л). При этом адсорбционные слои обогащены молекулами ПАВ: мольное соотношение SDS:Lz в слое  $\approx 300:1$  ( $C_{Lz} = 0,01$  г/л) и 30:1 ( $C_{Lz} = 0,1$  г/л).

Рассчитанные из адсорбционных данных зависимости мольных долей ПАВ в смеси в адсорбционном слое  $X_S$  от мольных долей ПАВ в смеси в водном растворе  $X_V$  показали, что межфазные слои обогащены молекулами ПАВ (рис.7).

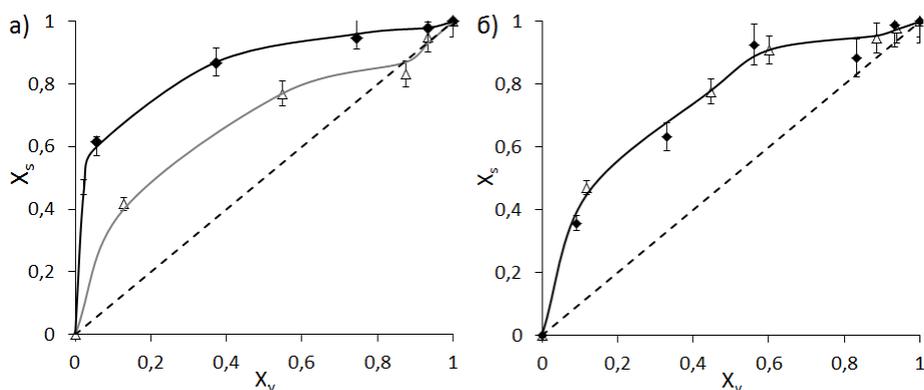


Рис.7. Зависимость состава адсорбционного слоя смеси Lz – DTAB (а) и Lz – SDS (б) с концентрацией Lz 0,01 г/л (◆) и 0,1 г/л (Δ) от состава раствора.

В системе Lz – CAPB при добавлении ПАВ к раствору лизоцима адсорбция белка практически не меняется (рис.8). На адсорбцию CAPB присутствие белка также не влияет (рис.9)

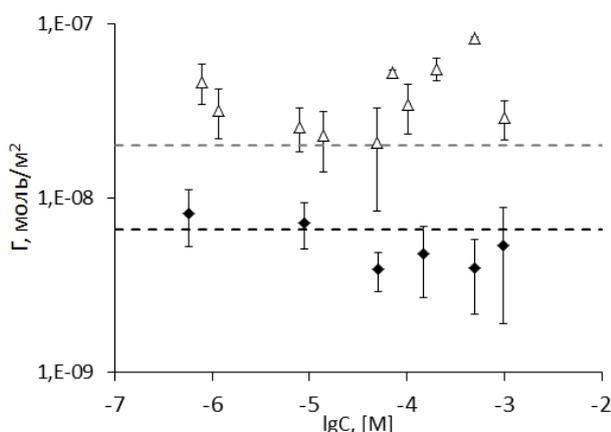


Рис.8. Зависимость адсорбции лизоцима из смеси Lz – CAPB с концентрацией белка 0,01 г/л (◆) и 0,1 г/л (Δ) от концентрации ПАВ. Пунктирные линии – адсорбция индивидуального Lz.

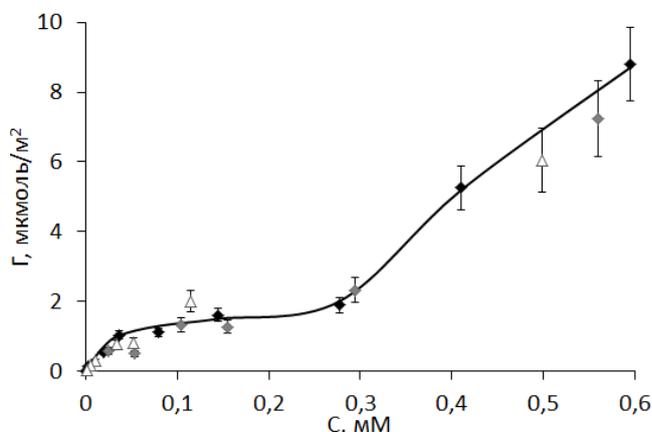


Рис.9. Изотерма адсорбции CAPB из индивидуального раствора (◆) и из смеси с лизоцимом с концентрацией 0,01 г/л (◆) и 0,1 г/л (Δ).

Лизоцим при добавлении CAPB остается на поверхности и не вытесняется из межфазного адсорбционного слоя, несмотря на многократный избыток ПАВ в системе: в адсорбционном слое при концентрации, соответствующей области плато на изотерме адсорбции CAPB, молярное соотношение CAPB:Lz  $\approx$  100:1. Такое возможно только при сильном взаимодействии полярных групп ПАВ с белковой глобулой, в результате которого формируется гидрофобный комплекс. Этим можно объяснить и рост коэффициента распределения CAPB в присутствии Lz.

Методом висящей капли были получены изотермы поверхностного натяжения индивидуальных белка, ПАВ, а также их смесей. Начальный участок изотерм бинарных растворов во всех системах соответствует натяжению раствора индивидуального белка. С увеличением концентрации ПАВ в системе Lz – DTAB натяжение снижается при той же концентрации, что и в растворе индивидуального DTAB (рис.10).

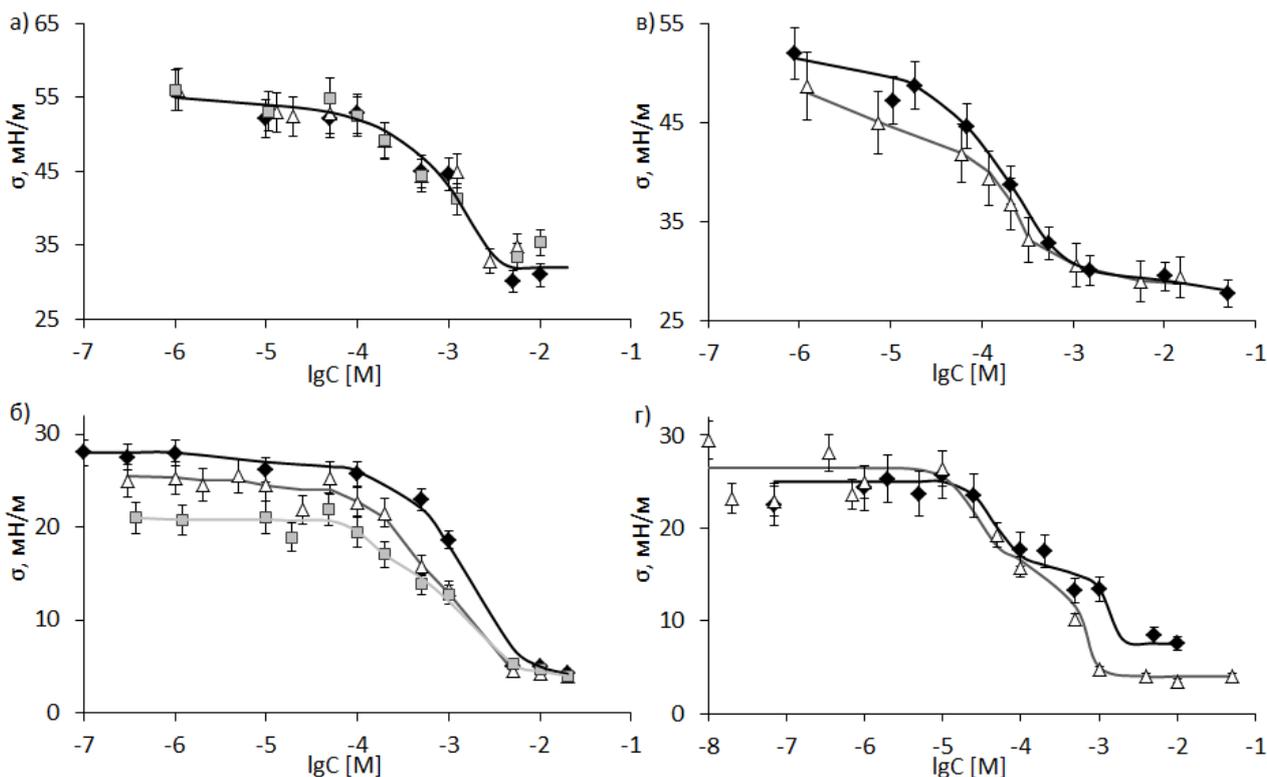


Рис.10. Изотермы поверхностного натяжения смесей Lz – DTAB (а, б) и Lz – SDS (в, г) с концентрацией белка 0,01 г/л ( $\blacklozenge$ ), 0,1 г/л ( $\blacktriangle$ ) и 1 г/л ( $\blacksquare$ ) на границе водный раствор/воздух (а, в) и раствор/октан (б, г).

В системе Lz – SDS натяжение смешанного раствора начинает снижаться при концентрации на порядок меньшей, чем у индивидуального SDS. Начало снижения межфазного натяжения соответствует мольному соотношению в водной фазе SDS:Lz  $\approx 10:1$  и  $1:1$  при концентрации белка 0,01 и 0,1 г/л, соответственно. При этом соотношение SDS:Lz в адсорбционном слое составляет  $8 \div 9:1$  в обеих системах. По-видимому, указанные соотношения SDS:Lz соответствуют стехиометрии гидрофобного комплекса. При концентрации ПАВ  $10^{-5}$  М лизоцим сохраняет свое присутствие в адсорбционном слое, и величина его адсорбции превышает соответствующее значение для индивидуального белка. Адсорбция SDS из бинарного раствора, начиная с концентрации ПАВ  $3 \cdot 10^{-5}$  М, увеличивается и превышает адсорбцию индивидуального SDS. Это значит, что в области концентраций SDS  $10^{-6} - 10^{-4}$  М происходит совместная адсорбция гидрофобного комплекса Lz – SDS и молекул SDS. При дальнейшем увеличении концентрации SDS на изотермах поверхностного натяжения наблюдается слабо выраженное плато, что может свидетельствовать об образовании гидрофильного комплекса в водном растворе. При формировании гидрофильного комплекса адсорбция Lz из бинарного раствора начинает снижаться.

В водном растворе смеси Lz (1 г/л) – SDS при концентрации ПАВ  $2 \cdot 10^{-4} - 10^{-3}$  М выпадает осадок, что приводит к снижению концентрации веществ в объеме фаз и на межфазной поверхности и, как следствие, росту межфазного натяжения (рис.11).

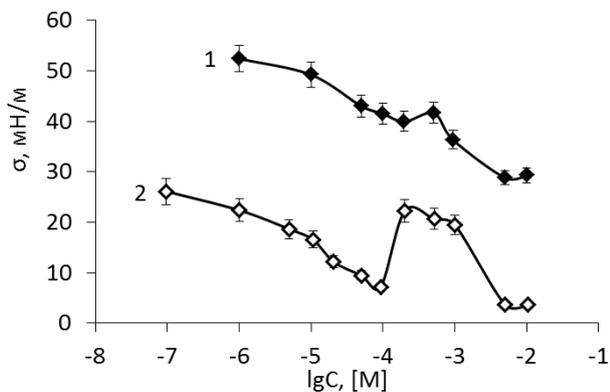


Рис.11. Изотермы поверхностного натяжения смесей Lz – SDS с концентрацией белка 1 г/л на границе водный раствор/воздух (1) и раствор/октан (2).

Для индивидуальных DTAB и SDS было проведено сопоставление величин адсорбции, полученных методом скинтиллирующей фазы с адсорбцией, рассчитанной из изотерм поверхностного натяжения по уравнению Гиббса  $\Gamma = -\frac{C}{RT} \frac{d\sigma}{dC}$ . Для расчета использовали уравнение Гиббса для неионогенных ПАВ, поскольку исследуемые растворы были приготовлены в избытке электролита (ионная сила 0,15 М). Согласие расчета и эксперимента (коэффициент корреляции 0,87 (DTAB) и 0,95 (SDS)) указывает на корректность полученных методом скинтиллирующей фазы величин адсорбции (рис.12).

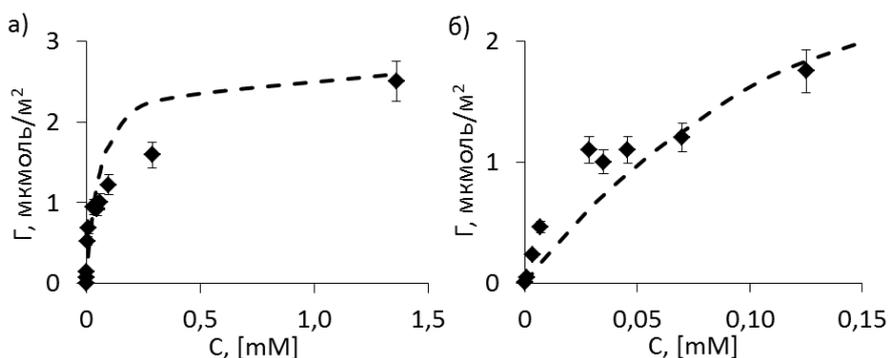


Рис.12. Адсорбция DTAB (а) и SDS (б) на границе вода/октан. Пунктирные линии – расчет по уравнению Гиббса.

Натяжение смеси Lz – CAPB (рис.13) снижается с ростом концентрации ПАВ и выходит на плато, после чего происходит дальнейшее уменьшение натяжения до значений, характерных для индивидуального ПАВ. Вид изотерм поверхностного натяжения позволяют судить о формировании гидрофильного комплекса при концентрации выше  $2 \cdot 10^{-5}$  М (начало области плато на изотермах поверхностного натяжения).

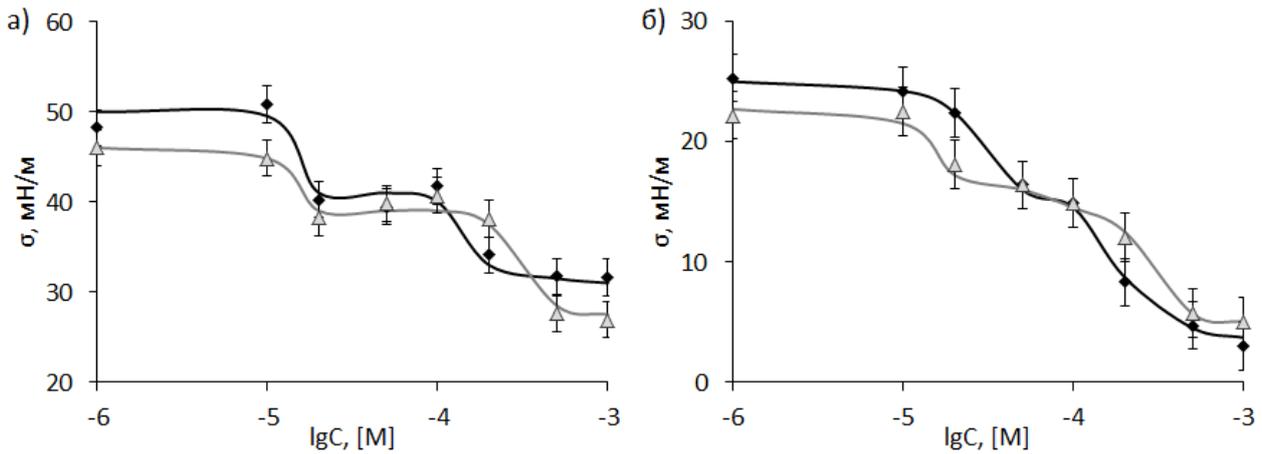


Рис.13. Изотермы поверхностного натяжения смесей Lz – CAPB с концентрацией белка 0,01 г/л (◆) и 0,1 г/л (▲) на границе водный раствор/воздух (а) и раствор/октан (б).

Для совместного описания изотерм поверхностного натяжения и адсорбции смесей белок – ПАВ была использована модель Файнермана [Pradines V., Fainerman V.B. et al. Langmuir. 2011], учитывающая, что молекулы на поверхности занимают определенную площадь и взаимодействуют друг с другом. Согласно модели, изотермы двумерного давления  $\Pi = \sigma_0 - \sigma$ , адсорбции ПАВ и белка из смешанных растворов описываются уравнениями:

$$-\frac{\Pi\omega_0}{RT} = \ln(1 - \theta_{ps} - \theta_s) + \left(1 - \frac{\omega}{\omega_0}\right)\theta_{ps} + a_{ps}\theta_{ps}^2 + a_s\theta_s^2 + 2a_{sps}\theta_{ps}\theta_s,$$

$$b_s c_s = \frac{\theta_s}{1 - \theta_{ps} - \theta_s} \exp\{-2a_s\theta_s - 2a_{sps}\theta_{ps}\},$$

$$b_{ps} c_p = \frac{\theta_{ps}}{(1 - \theta_{ps} - \theta_s)^{\frac{\omega_i}{\omega}}} \exp\left\{-2a_{ps} \frac{\omega_i}{\omega} \theta_{ps} - 2a_{sps}\theta_{ps}\right\},$$

где  $a_s$ ,  $a_{ps}$ ,  $a_{sps}$  – параметры взаимодействия между молекулами ПАВ, комплексами белок – ПАВ и между молекулами ПАВ и комплексами белок – ПАВ, соответственно,  $\theta_s$  – степень заполнения поверхности молекулами ПАВ,  $\theta_{ps}$  – комплексами белок – ПАВ,  $\omega$  и  $\omega_0$  – средняя площадь, приходящаяся на моль белка и растворителя в насыщенном адсорбционном слое, соответственно,  $\text{м}^2/\text{моль}$ ,  $b_s$  и  $b_{ps}$  – константы адсорбционного равновесия,  $\text{л}/\text{моль}$ .

Для смесей Lz – DTAB и Lz – SDS получены следующие параметры (таблица 1), описывающие экспериментальные данные с коэффициентами корреляции 0,95 – 0,99. Малые отрицательные значения констант  $a_s$  указывают на слабое отталкивание одноименно заряженных молекул ПАВ. Положительные значения  $a_{ps}$  и  $a_{sps}$  обусловлены притяжением между комплексами белок – ПАВ и между комплексами и молекулами ПАВ. По-

видимому, при концентрации соли, соответствующей физиологическому раствору, дисперсионные силы притяжения между компонентами адсорбционного слоя превышают силы электростатического отталкивания.

Таблица 1. Параметры модели Файнермана.

Параметр	DTAB – Lz	SDS – Lz
$b_{ps}$ , л/моль	$(4,8 \pm 0,7) \cdot 10^4$	$(4,0 \pm 0,9) \cdot 10^4$
$b_s$ , л/моль	$(3,0 \pm 1,4) \cdot 10^4$	$(1,5 \pm 0,5) \cdot 10^4$
$a_{ps}$	$7,7 \pm 0,7$	$10,5 \pm 0,7$
$a_s$	$-0,9 \pm 0,1$	$-0,4 \pm 0,2$
$a_{sps}$	$2,7 \pm 0,4$	$1,8 \pm 0,5$

Методом динамического светорассеяния получено, что на кривых распределения частиц по размерам в растворах Lz наблюдается максимум при 3,5 нм, соответствующий гидродинамическому диаметру белковой глобулы. Установлено, что размер частиц практически не изменялся при добавлении DTAB, а также при добавлении SDS к раствору белка с концентрацией 0,1 г/л. При добавлении SDS к раствору белка концентрацией 1 г/л начиная с концентрации SDS  $5 \cdot 10^{-4}$  М в растворе образуется осадок, препятствующий проведению измерений.

В водном растворе смесей Lz – CAPB при концентрации ПАВ свыше  $10^{-4}$  М формируются крупные агрегаты размером в десятки и сотни нанометров, которые могут быть образованы частично денатурированными молекулами белка, связанным с молекулами или мицеллами CAPB. Частичное разрушение нативной структуры лизоцима может быть вызвано как взаимодействием с цвиттерионной группой CAPB, способной нарушить систему водородных связей в белке, так и с наличием амидной группы CAPB, способной к взаимодействию с активным центром лизоцима. Кроме того, CAPB с лизоцимом может взаимодействовать и по механизму гидрофобного связывания (особенно длинноцепочечные компоненты CAPB). Крупные агрегаты начинают формироваться при той же концентрации CAPB, при которой адсорбция ПАВ достигает постоянного значения, межфазное натяжение выходит на плато, и начинается рост коэффициента распределения CAPB. По-видимому, в системе одновременно происходит несколько процессов: формирование гидрофобного комплекса Lz – CAPB, адсорбирующегося на межфазной поверхности, и образование гидрофильного комплекса в водном растворе.

Анализ спектров поглощения водных растворов смесей Lz – ПАВ в области светорассеяния (при длине волны 320 нм) показывает, что для смеси Lz – SDS зависимость оптической плотности от концентрации ПАВ проходит через максимум в интервале  $10^{-4}$  –  $5 \cdot 10^{-3}$  М. Для смеси Lz – CAPB характерен рост оптической плотности при увеличении концентрации ПАВ, что согласуется с увеличением размера частиц в водном растворе. В системе Lz – DTAB оптическая плотность не меняется.

Спектры флюоресценции растворов смесей Lz – ПАВ, полученные при возбуждении УФ-светом с длиной волны 280 нм, имеют максимум при длине волны 342 нм. Для смеси Lz – SDS наблюдается рост интенсивности флюоресценции по сравнению с индивидуальным Lz, начиная с концентрации ПАВ  $5 \cdot 10^{-4}$  М; для смеси Lz – DTAB рост интенсивности происходит при  $10^{-2}$  М. Рост флюоресценции указывает на увеличение полярности микроокружения триптофановых фрагментов лизоцима, возможно, за счет взаимодействия с полярными группами ПАВ. Для смеси Lz – CAPB наблюдается тушение флюоресценции при той концентрации добавленного ПАВ, при которой в растворе появляются крупные агрегаты. Тушение флюоресценции может быть вызвано уменьшением полярности микроокружения триптофана при взаимодействии с углеводородными цепями молекул ПАВ.

При исследовании влияния ПАВ на ферментативную активность  $A_E$  лизоцима по отношению к клеткам *Micrococcus luteus* было установлено, что величины  $A_E$  увеличиваются в области малых концентраций ПАВ, при которых формируется гидрофобный комплекс (рис.14). Можно предположить, что в результате взаимодействия с ПАВ меняется микроокружение активного центра лизоцима, что приводит к уменьшению электростатического отталкивания между ферментом и клеткой. С ростом концентрации DTAB и SDS активность лизоцима снижается до величин, характерных для индивидуального белка.

При добавлении CAPB происходит существенное снижение активности фермента в той же области концентраций CAPB, в которой в водном растворе формируются крупные агрегаты. Процесс агрегирования заметно снижает доступность активных центров молекул лизоцима для субстрата. Снижение ферментативной активности лизоцима в присутствии малых концентраций цвиттерионного ПАВ ( $10^{-5}$  М) установлено впервые.

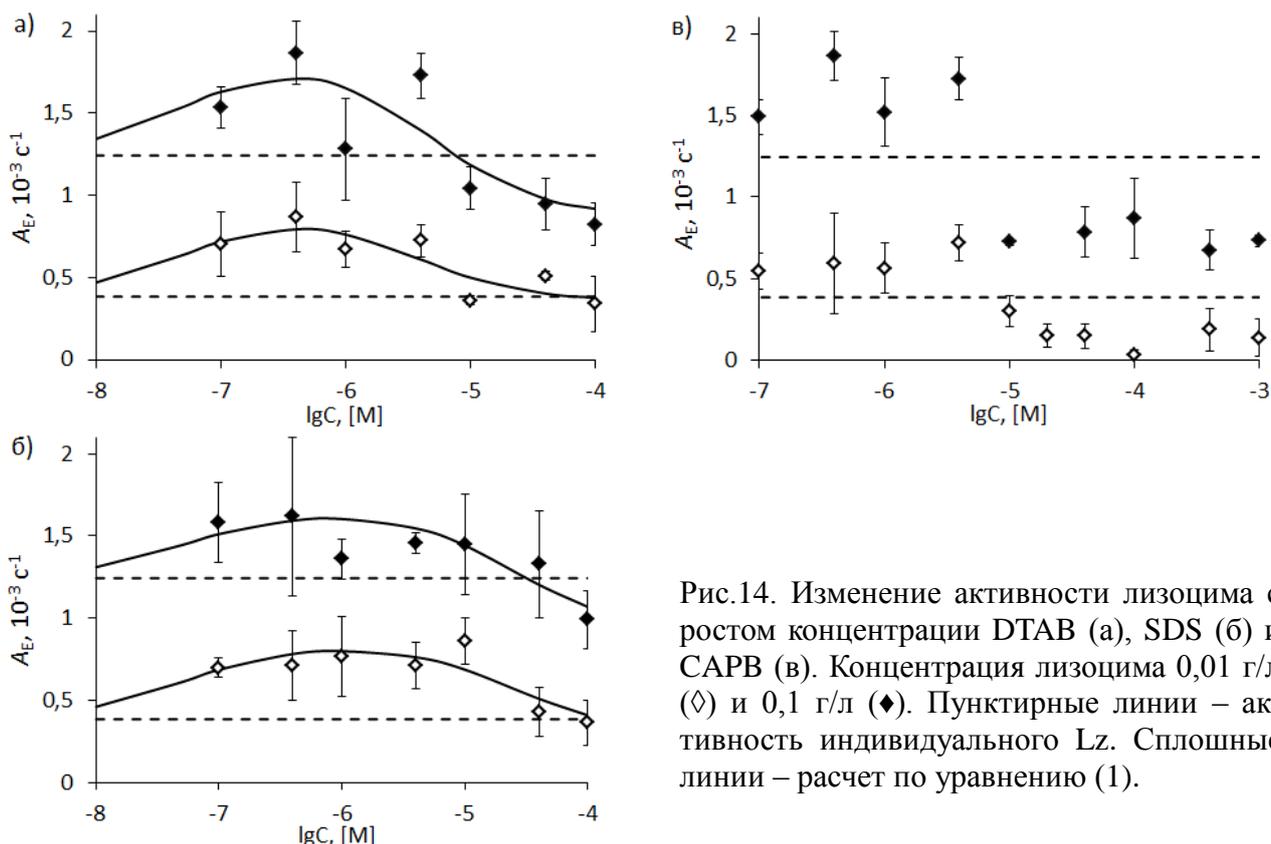


Рис.14. Изменение активности лизоцима с ростом концентрации DTAB (а), SDS (б) и CAPB (в). Концентрация лизоцима 0,01 г/л ( $\diamond$ ) и 0,1 г/л ( $\blacklozenge$ ). Пунктирные линии – активность индивидуального Lz. Сплошные линии – расчет по уравнению (1).

Предложена простая модель, описывающая зависимость активности фермента от концентрации ПАВ. Предполагается, что на поверхности белковой глобулы присутствует два типа участков связывания с ПАВ, характеризующиеся константами десорбции  $K_{д1}$  и  $K_{д2}$ , при заполнении которых молекулами ПАВ происходит формирование гидрофобного и гидрофильного комплексов, соответственно. Принимается допущение, что активность белка линейно меняется в зависимости от степени заполнения участков типа 1 ( $Q_1$ ) и 2 ( $Q_2$ ) молекулами ПАВ (предполагается независимое заполнение участков 1 и 2). Тогда зависимость активности от  $Q_1$  и  $Q_2$  имеет вид:

$$A = A_0 + (A_1 - A_0) \cdot Q_1 + (A_2 - A_1) \cdot Q_2,$$

где  $A_0$  – активность белка в отсутствии ПАВ,  $A_1$  и  $A_2$  – активность при практически полном заполнении участков связывания 1 и 2. Полагая, что  $Q_i = [C]/(K_{дi} + [C])$ , получаем

$$A = A_0 + (A_1 - A_0) \cdot \frac{[C]}{(K_{д1} + [C])} + (A_2 - A_1) \cdot \frac{[C]}{(K_{д2} + [C])} \quad (1).$$

Методом наименьших квадратов были подобраны величины  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $K_{д1}$  и  $K_{д2}$ , позволяющие описать зависимости активности лизоцима от концентрации DTAB и SDS (сплошные линии на рис.14).

При растекании капли октана по гидрофобизованному стеклу, погруженному в водный раствор смеси Lz – ПАВ, сначала происходит прорыв смачивающей пленки между каплей и твердой поверхностью, вслед за которым начинается собственно растекание капли. Сопоставление времен, необходимых для прорыва смачивающей пленки, позволяет сделать вывод, что с ростом концентрации ПАВ увеличивается их стабилизирующее действие по отношению к смачивающим пленкам (таблица 2). Наиболее устойчивые пленки получены в системах с CAPB. Добавки лизоцима слабо влияют на устойчивость пленок.

Таблица 2. Времена прорыва смачивающих пленок (с).

C, M	SDS	SDS+ Lz	DTAB	DTAB+ Lz	CAPB	CAPB+ Lz
$10^{-5}$	0	0	—	—	0	35±10
$10^{-4}$	0	0	0	70±15	190±40	60±10
$10^{-3}$	130±50	80±20	0	130±50	1100±250	1250±250
$10^{-2}$	150±40	110±20	1500±300	860±30	1100±200	1200±300

Анализ зависимостей радиуса смоченной площади от времени показал, что экспериментальная скорость растекания ниже, чем рассчитанная по модели вязкого растекания. По-видимому, растекание происходит в режиме граничной кинетики, и основное сопротивление связано с необходимостью «деадгезии» жидкости-предшественника с твердой поверхности, а также с десорбцией и перестройкой адсорбционных слоев на границах жидкость/твердое тело и жидкость/жидкость.

На основании сопоставления данных методов тензиометрии, сцинтиллирующей фазы, динамического и статического светорассеяния, флюоресценции, избирательного смачивания и определения ферментативной активности были выявлены основные стадии процесса распределения компонентов между фазами и адсорбционным слоем в соответствии с протекающими процессами самоорганизации, со структурой и локализацией образующихся агрегатов белок – ПАВ.

#### Смесь Lz – DTAB (рис.15).

I.  $C < 10^{-6}$  M. Рост адсорбции Lz и коэффициентов распределения Lz и DTAB указывает на формирование гидрофобного комплекса Lz – DTAB, растворимость которого в октане и адсорбция на межфазной поверхности выше, чем у индивидуального белка. Повышается ферментативная активность лизоцима.

II.  $10^{-6} < C < 10^{-4}$  М. Происходит постепенная гидрофилизация комплекса Lz – ДТАВ, способствующая уменьшению концентрации Lz в октане и его адсорбции на поверхности. Взаимодействие ДТАВ с белком не влияет на размер белковой глобулы. Ферментативная активность Lz снижается до значений  $A_E$  индивидуального белка.

III.  $10^{-4} < C < 5 \cdot 10^{-3}$  М. Адсорбция Lz уменьшается, адсорбция ДТАВ растет, межфазное натяжение снижается. Происходит вытеснение Lz из адсорбционного слоя как за счет конкурентной адсорбции с ДТАВ, так и за счет формирования гидрофильного комплекса Lz – ДТАВ.

IV.  $C > 5 \cdot 10^{-3}$  М. В органической фазе и на межфазной поверхности доминируют молекулы ПАВ, небольшое количество белка на поверхности присутствует в виде гидрофобного комплекса. В водном растворе находится гидрофильный комплекс белок – ПАВ компактной структуры, мицеллы и отдельные молекулы ДТАВ. В этой области концентраций повышается устойчивость смачивающих пленок, стабилизированных смесями Lz – ДТАВ.

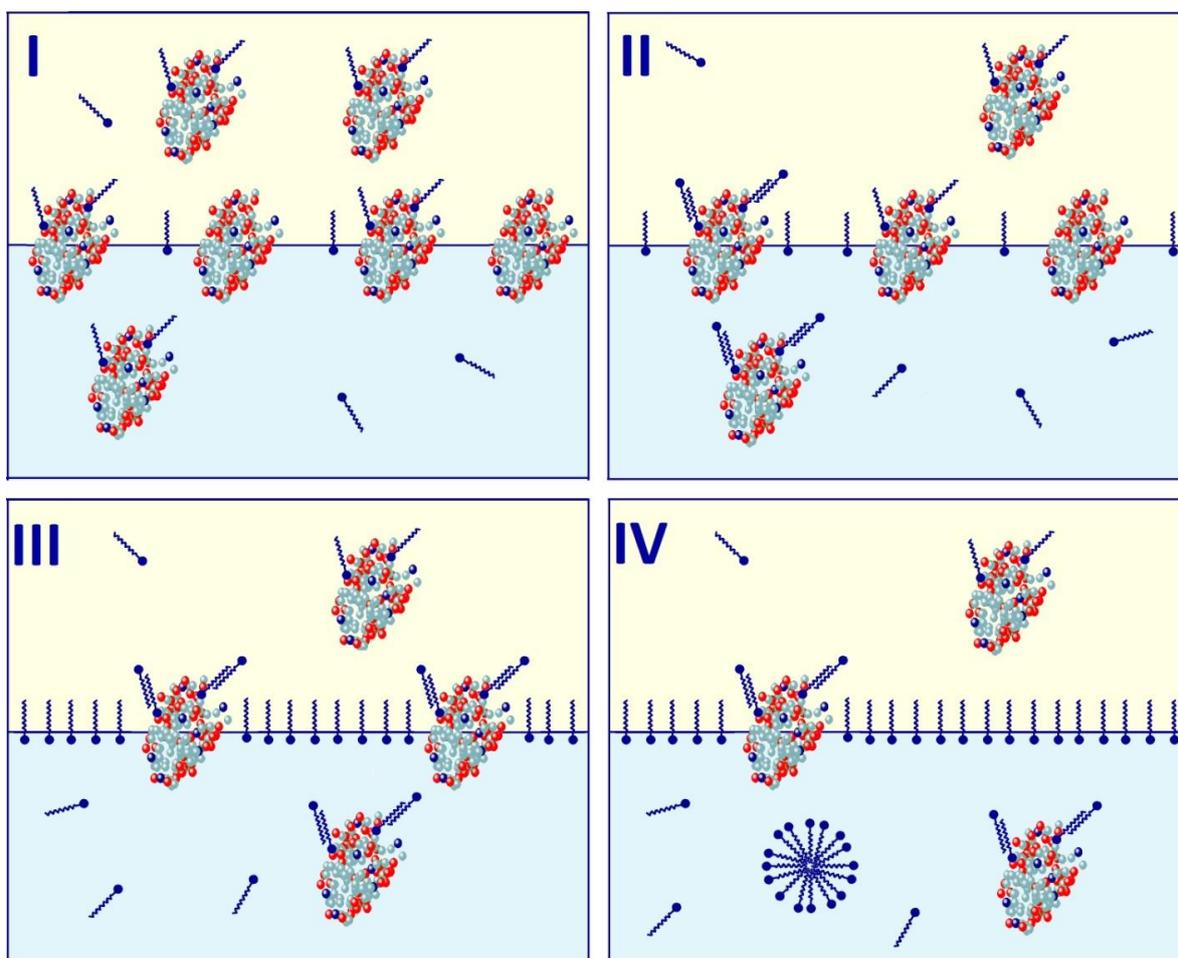


Рис.15. Схема адсорбции смеси Lz – ДТАВ на границе вода/октан.

Смесь Lz – SDS (рис.16).

I.  $C < 10^{-6}$ М. Формируется гидрофобный комплекс Lz – SDS, переходящий в органическую фазу и адсорбционный слой. Ферментативная активность Lz повышена.

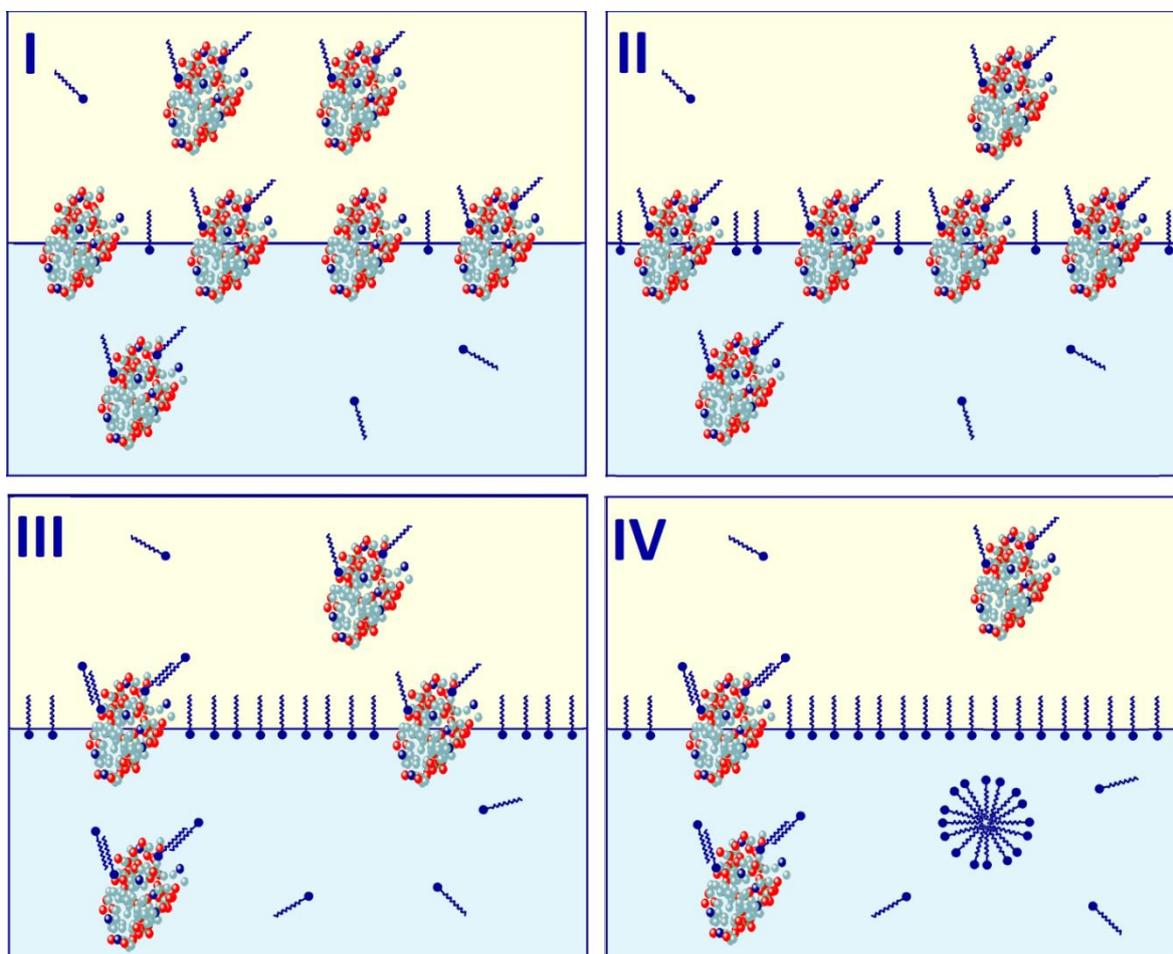


Рис.16. Схема адсорбции смеси Lz – SDS на границе вода/октан.

II.  $10^{-6} < C < 10^{-4}$ М. Адсорбция Lz не меняется, адсорбция SDS возрастает, межфазное натяжение снижается. Происходит совместная адсорбция гидрофобного комплекса Lz – SDS и SDS, что приводит к синергетическому эффекту при снижении межфазного натяжения. Lz сохраняет ферментативную активность, аналогичную активности индивидуального белка.

III.  $10^{-4} < C < 10^{-3}$ М. Начало формирования компактного гидрофильного комплекса в водном растворе, приводящее к появлению плато на изотерме межфазного натяжения и уменьшению адсорбции лизоцима. При концентрации белка  $7 \cdot 10^{-5}$  М (1 г/л) при мольном соотношении Lz:SDS  $\approx 1:1$  в водном растворе образуется осадок.

IV.  $C > 10^{-3}$ М. Вытеснение белка из адсорбционного слоя вследствие формирования гидрофильного комплекса. В органической фазе и на меж-

фазной поверхности доминируют молекулы ПАВ, небольшое количество белка присутствует в виде гидрофобного комплекса. В водном растворе находится гидрофильный комплекс белок – ПАВ компактной структуры, мицеллы и отдельные молекулы SDS. В этой области концентраций повышается устойчивость смачивающих пленок, стабилизированных смесями Lz – SDS.

Обращает на себя внимание достаточно сходное поведение смесей Lz – SDS и Lz – DTAB при концентрации белка 0,01 и 0,1 г/л: формирование гидрофобного комплекса и рост ферментативной активности лизоцима в области малых концентраций ПАВ, последующее образование гидрофильного комплекса и вытеснение лизоцима из адсорбционного слоя, близкие значения электрокинетического потенциала, размера частиц в системах, а также параметров взаимодействия комплексов белок – ПАВ, рассчитанных по модели Файнермана. Основные отличия заключаются в том, что в смеси Lz – SDS образуется более гидрофобный комплекс, чем в смеси с DTAB. Это приводит к снижению натяжения при меньших концентрациях и к вытеснению белка из адсорбционного слоя в водный раствор при больших концентрациях добавленного ПАВ. Более сильные взаимодействия SDS с Lz способствуют формированию осадка в системах с концентрацией белка 1 г/л, что не наблюдается для смеси с DTAB.

#### Смесь Lz – CAPB (рис.17).

I.  $C < 5 \cdot 10^{-6}$  М. В области малых концентраций поверхностное натяжение постоянно и соответствует значениям для чистого лизоцима. В этой области концентраций CAPB наблюдается линейный рост его адсорбции. Можно сделать вывод, что в слое происходит независимая адсорбция лизоцима и CAPB. В водной фазе присутствуют только малые частицы, соответствующие нативному лизоциму. Рост коэффициента распределения CAPB в присутствии Lz позволяет предположить образование гидрофобного комплекса, переходящего в органическую фазу.

II.  $10^{-5} \leq C \leq 2 \cdot 10^{-5}$ . Начинается снижение поверхностного натяжения смешанного раствора до значений, меньших натяжения растворов индивидуальных веществ; адсорбция CAPB продолжает расти, а адсорбция лизоцима не меняется. Такое уменьшение натяжения может быть вызвано формированием гидрофобного комплекса белок – ПАВ, адсорбирующегося на поверхности и переходящего в органическую фазу.

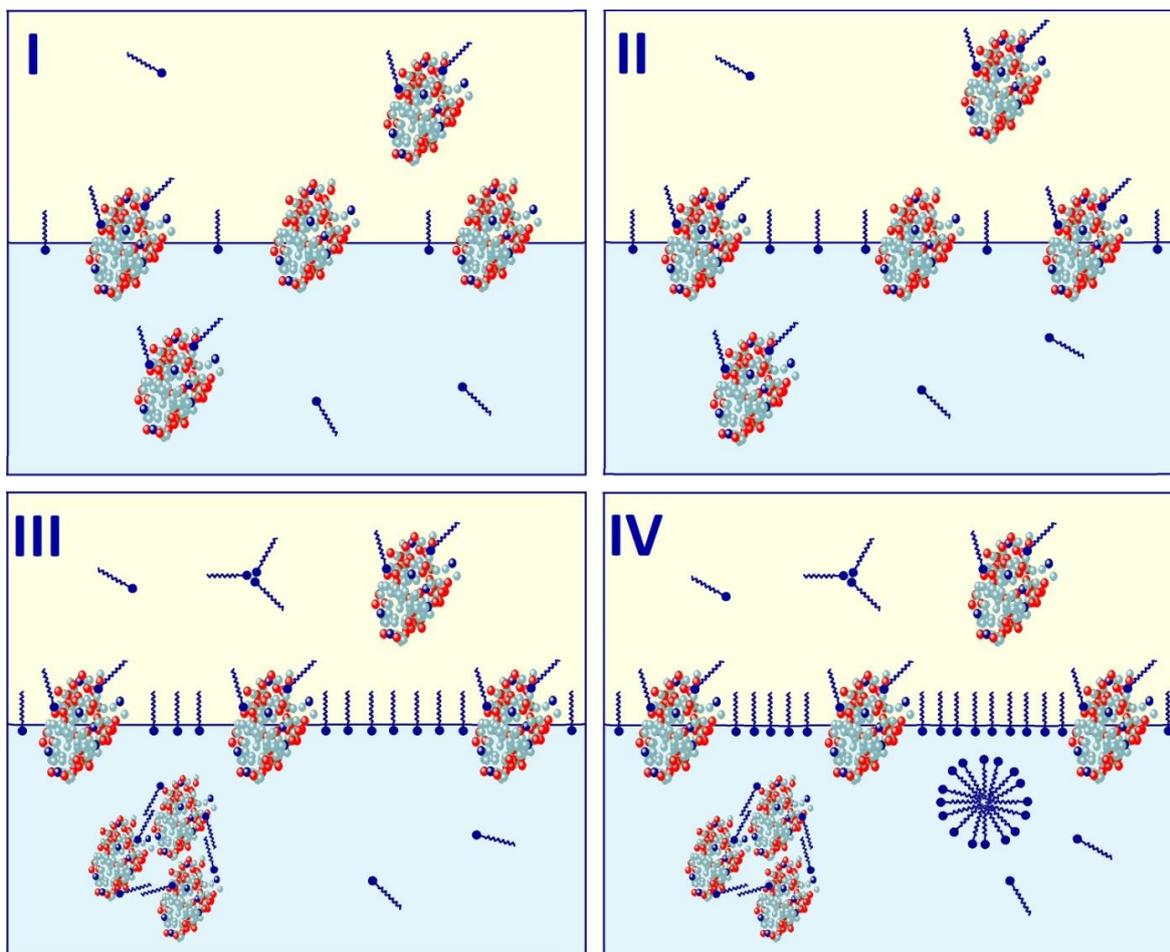


Рис.17. Схема адсорбции смеси Lz – CAPB на границе вода/октан.

III.  $2 \cdot 10^{-5} < C < 10^{-4}$  М. В этой области концентраций ПАВ адсорбция CAPB и межфазное натяжение выходят на плато, увеличивается коэффициент распределения ПАВ и в водном растворе начинают формироваться большие агрегаты, снижается ферментативная активность белка. В этой области концентраций адсорбционный слой, состоящий из молекул ПАВ, гидрофобных комплексов белок – ПАВ и индивидуального белка, близок к насыщению. В водном растворе начинается взаимодействие CAPB с лизоцимом по механизму гидрофобного связывания, в результате которого в растворе появляются большие агрегаты частично денатурированного белка. Рост  $D$  CAPB, который наблюдается как в индивидуальном растворе, так и в присутствии белка, может быть вызван началом процесса формирования обратных предмицеллярных агрегатов ПАВ в органической фазе.

IV.  $C \geq 10^{-4}$  М. Завершается процесс связывания белка с ПАВ в водной фазе, в водном растворе появляются «свободные» молекулы ПАВ и поверхностное натяжение снова начинает уменьшаться и совпадает с натяжением для индивидуального ПАВ. При  $C \geq 5 \cdot 10^{-4}$  М межфазное натяжение достигает постоянной величины. В водном растворе начинается об-

разование мицелл CAPB. Таким образом, в области высоких концентраций органическая фаза содержит белок, ПАВ (отдельные молекулы и обратные преципитарные агрегаты) и гидрофобные комплексы белок – ПАВ. Поверхностный слой состоит из молекул ПАВ и гидрофобного комплекса белок – ПАВ. В водном растворе находятся большие агрегаты из частично денатурированного белка и ПАВ, молекулы и мицеллы ПАВ.

### Основные выводы.

1. Впервые методом сцинтилирующей фазы получены количественные данные об адсорбции и распределении компонентов смесей Lz – ПАВ в системе вода/октан. Для систем Lz – SDS и Lz – DTAB установлено, что в области малых концентраций ПАВ ( $10^{-7}$  –  $10^{-6}$  М) образуется гидрофобный комплекс стехиометрией ПАВ:Lz = 8÷10:1, обладающий более высокой растворимостью в октане и адсорбцией на границе вода/октан по сравнению с нативным белком.
2. Установлены условия, при которых происходит частичное вытеснение лизоцима из адсорбционного слоя. Показано, что при мольных соотношениях DTAB(SDS):Lz в системе свыше 10÷100:1 адсорбция лизоцима уменьшается как за счет конкурентной адсорбции с ПАВ, так и за счет формирования в водной фазе гидрофильного комплекса компактной структуры.
3. Установлено, что гидрофобные комплексы Lz – SDS и Lz – DTAB обладают повышенной ферментативной активностью по отношению к грам-положительным бактериальным клеткам *Micrococcus luteus* по сравнению с индивидуальным Lz. Предложена модель, описывающая зависимость ферментативной активности лизоцима от концентрации ПАВ.
4. Впервые получен меченный тритием CAPB, что позволило применить метод сцинтилирующей фазы для изучения смеси Lz – CAPB в системе вода/октан. Взаимного влияния Lz и CAPB на адсорбцию компонентов смеси не обнаружено. Впервые установлено снижение ферментативной активности лизоцима при добавлении цвиттерионного ПАВ с концентрацией свыше  $10^{-5}$  М.
5. Показано, что смешанные адсорбционные слои Lz – ПАВ на границе вода/октан обогащены ПАВ; мольная доля ПАВ в слое возрастает в ряду DTAB < SDS < CAPB.

6. Найдено, что устойчивость смачивающих пленок в системе гидрофобизованное стекло/октан/водный раствор смеси Lz – ПАВ увеличивается с ростом концентрации ПАВ; добавки Lz практически не влияют на устойчивость смачивающих пленок. Растекание капель в условиях избирательного смачивания происходит в режиме граничной кинетики.

### **Список публикаций по теме диссертации.**

#### *Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК:*

1. Соболева О.А. Поверхностное натяжение смесей лизоцима с бромидом додецилтриметиламмония и додецилсульфатом натрия на границах вода/воздух и вода/октан / Соболева О.А., Иванов Р.А. // Вестн. Моск. Унта. Сер.2. Химия. – 2011. – Т.52, №5. – С.390-393.
2. Chernysheva M.G. Do low surfactants concentrations change lysozyme colloid properties? / Chernysheva M.G., Ivanov R.A., Soboleva O.A., Badun G.A. // Colloids and Surfaces. A. – 2013. – V.436. – P. 1121-1129.
3. Иванов Р.А. Адсорбция и распределение компонентов смесей кокоамидопропил бетаина и лизоцима в системе вода/октан / Иванов Р.А., Соболева О.А., Чернышева М.Г., Бадун Г.А. // Коллоидн. журн. – 2014. – Т.76, №3. – С.347-355.
4. Иванов Р.А. Влияние поверхностно-активных веществ различной природы на бактериолитическую активность лизоцима / Иванов Р.А., Соболева О.А., Смирнов С.А., Левашов П.А. // Биоорг. Химия. – 2015. – Т.41, №3. (принята к печати).

#### *Статья в сборнике научных трудов.*

1. Иванов Р.А. Влияние лизоцима на межфазное натяжение, реологию адсорбционных слоев ионогенных ПАВ и на краевые углы избирательного смачивания / Иванов Р.А., Соболева О.А. // Структура и динамика молекулярных систем: сб. статей XIX Всеросс. Конф. – М., 2012 – Т.1. – С.186-188.

#### *Тезисы докладов конференций.*

1. Иванов Р.А. Адсорбция смесей лизоцима с ионогенными поверхностно-активными веществами на границе вода/октан / Иванов Р.А. // XVIII международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2011»: сб. тезисов. – Москва, 2011. – С.40-41.
2. Иванов Р.А. Избирательное смачивание гидрофобизованного стекла растворами смесей лизоцим-ионогенное ПАВ / Иванов Р.А., Соболева

ва О.А. // III конференция молодых ученых «Реология и физико-химическая механика гетерофазных систем»: сб. тезисов. – Суздаль, 2011. – С.68-69.

3. Иванов Р.А. Влияние лизоцима на межфазное натяжение, реологию адсорбционных слоев ионогенных ПАВ и на краевые углы избирательного смачивания / Иванов Р.А., Соболева О.А.// XIX Всероссийской конф. «Структура и динамика молекулярных систем. Яльчик 2012»: сб. тезисов. – Йошкар-Ола, 2012. – С.77.

4. Иванов Р.А. Изучение методом сцинтиллирующей фазы адсорбции и распределения лизоцима и кокаמידопропил бетаина в системе вода/октан / Иванов Р.А. // XX международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2013»: сб. тезисов. – Москва, 2013. – С.65.

5. Ivanov R.A. The adsorption and distribution of lysozyme and cocoamidopropyl betaine mixtures in the water/octane system studied by the scintillating phase method / Ivanov R.A., Soboleva O.A., Chernysheva M.G., Badun G.A. // IV International Conference on Colloid Chemistry and Physico-chemical Mechanics IC-CCPCM 2013: book of abstracts. – Moscow, 2013. – P.351-352.

6. Ivanov R.A. Lysozyme-zwitterionic surfactant adsorption at the aqueous/octane interface as studied by scintillation phase method / Ivanov R.A., Soboleva O.A., Chernysheva M.G., Badun G.A. // The first Russian-Nordic Symposium on radiochemistry: book of abstracts. – Moscow, 2013. – P.13.

7. Иванов Р.А. Адсорбция смесей лизоцим – ПАВ на границе водный раствор/октан. / Иванов Р.А. // XXI международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2014»: [Электронный ресурс] – М.: МАКС Пресс, 2014. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM).