

УДК 541.183.022:547.962.3:532.135

РЕОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АДСОРБЦИОННЫХ СЛОЕВ ИНТЕРПОЛИМЕРНЫХ АССОЦИАТОВ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА И ПОЛИСТИРОЛА НА ГРАНИЦЕ ФАЗ ВОДА/КСИЛОЛ

© 2000 г. В. Н. Измайлова*, С. М. Левачев*, Г. П. Ямпольская*, И. А. Грицкова**,
А. А. Капустина**, П. В. Нусс***, Е. В. Мартынова**, Г. Адебайо**

* *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова*
119899 Москва, Воробьевы горы

** *Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова*
117571 Москва, пр. Вернадского, 86

*** *Институт глазных болезней, Российская академия медицинских наук*
111902 Москва, ул. Россолимо, 11

Поступила в редакцию 03.09.98 г.

Изучены смешанные межфазные адсорбционные слои (МАС), сформированные бычьим сывороточным альбумином, растворенным в воде, и полиэлектролитами (полистиролом или сополимером стирола и метакриловой кислоты), растворенными в м-ксилоле. Получены реологические кривые течения МАС, которые имеют пределы текучести и характеризуются упругими и вязкими свойствами. Интерполимерные ассоциаты, образующиеся на границе фаз жидкость/жидкость обнаруживают синергетический эффект при измерении реологических параметров. Это обусловлено гидрофобными взаимодействиями одноименно заряженных полиэлектролитов на межфазной границе, приводящими к межфазной двумерной флокуляции коллоидных белковых частиц. Предложена модель ассоциативных структур МАС на границе двух несмешивающихся жидкостей.

ВВЕДЕНИЕ

Исследования многокомпонентных и многофазных систем, состоящих из двух несмешивающихся жидкостей и поверхностно-активных веществ (ПАВ) имеют большое теоретическое и практическое значение в связи с образованием в таких системах ассоциативных и жидкокристаллических структур, микроэмульсий и межфазных слоев с особыми составом и реологическими свойствами.

Важным объектом изучения в современной коллоидной химии являются межфазные адсорбционные слои белков, формирующиеся на границе двух несмешивающихся жидкостей. Такие слои представляют значительный интерес в связи с задачами выяснения механизма высокоэффективной стабилизации эмульсий природными высокомолекулярными веществами [1]. Применение белков в качестве ПАВ позволяет использовать их для моделирования биологических процессов, связанных с функциональными особенностями белков [2, 3].

Изучение смешанных межфазных слоев, содержащих несколько поверхностно-активных компонентов, водо- и маслорастворимых, является весьма существенным для медицины, биологии и ряда биотехнологических процессов. Исследование строения и свойств межфазных адсорбци-

онных слоев белков и полимеров важно в связи с их применением в качестве диагностикумов, имплантантов и для иммобилизации ферментов и клеток [4–7].

Ранее [8] были изучены смешанные межфазные адсорбционные слои, сформированные маслорастворимыми полиэлектролитами (полистиролом (ПС) и сополимером стирола с метакриловой кислотой (ССМАК)), растворенными в м-ксилоле, и желатиной, растворенной в водной фазе. Интерполимерные комплексы, образующиеся на границе фаз жидкость/жидкость, обнаруживают синергетический эффект при измерении реологических параметров. Это обусловлено электростатическими взаимодействиями разноименно заряженных полиэлектролитов на межфазной поверхности.

В данной работе для исследования смешанных межфазных адсорбционных слоев синтетических полимеров и белков использован водорастворимый белок – бычий сывороточный альбумин (БСА), являющийся основным транспортным белком крови. Этот белок солюбилизирует большие количества соединений различной природы и переносит их по организму в токе крови, участвуя, таким образом, в процессе метаболизма. Закономерности поведения альбумина на границах

фаз определяет характерные черты процесса метаболизма [9].

Контакт крови с имплантированными синтетическими материалами часто является спусковым механизмом процесса адсорбции белка с промотированием отложения форменных элементов крови и последующего образования тромбов, которые сбрасываются в поток крови и закупоривают кровеносные сосуды [10]. Закономерности транспорта и освобождение лекарственных веществ из полимерных носителей, а также продолжительность функционирования *in vivo* биосенсоров тесно связаны со структурой и реологическими свойствами межфазных адсорбционных слоев белков.

Целью данной работы явилось изучение реологических характеристик интерполимерных ассоциатов высокомолекулярных поверхностно-активных веществ, образующихся на межфазной границе жидкость/жидкость (вода/м-ксилол) с участием глобулярного белка (БСА) и ПС или ССМАК.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использован БСА производства Олайнского завода химических реактивов НПО "Биохимреактив". На рис. 1 представлены данные высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), характеризующие состав исходного препарата БСА. Видно, что препарат на 82% состоит из мономерного белка с молекулярной массой 66500–67000 Д. Основная примесь представлена димером белка. БСА очищали с помощью гель-хроматографии на носителе АСА-34 (Pharmacia, Швеция), отбирая фракцию мономерного белка. Диск-электрофорез в полиакриламидном геле по методике, описанной в [11], показал, что очищенный препарат БСА практически не содержит агрегатов.

Концентрацию водных растворов БСА определяли спектрофотометрически при длине волны 279 нм [12]. Молекулярную массу белка принимали равной 67000 Д. Молекула БСА состоит из трех доменов и представляет собой эллипсоид вращения с осями $14 \times 4 \times 4$ нм; белок содержит 5–55% α -спиралей. Изоэлектрическая точка БСА соответствует рН 4.8 [13].

Полистирол был получен эмульсионной полимеризацией стирола в отсутствие эмульгатора при 60°C, инициатор – персульфат калия.

Сополимер стирола с метакриловой кислотой (0.2 мас. %) получен сополимеризацией мономеров, инициированной персульфатом калия, в отсутствие эмульгатора при 60°C.

Молекулярные массы ПС и ССМАК определяли методом ВЭЖХ. Использовали колонку Pl-

gel 10 μ Mixed-B фирмы "Hewlett Packard" с соответствующей предколонкой и насос PUMP P-500 фирмы "Pharmacia", а в качестве датчика – дифференциальный проточный рефрактометр HP-1047 A ($\lambda = 630$ нм) фирмы "Hewlett Packard". Данные по молекулярно-массовому распределению полимеров представлены на рис. 2. На концах макромолекул полистирола содержится по одной заряженной группе SO_4^- , в макромолекулах сополимера стирола с метакриловой кислотой присутствуют также группы $COOH^-$.

Использовали м-ксилол марки "ч" Ангарского завода химреактивов. Воду подвергали двукратной перегонке.

Реологические характеристики адсорбционных слоев БСА, полистирола и их ассоциатов на границе фаз вода/м-ксилол определяли с помощью поверхностного эластовискозиметра, принципы конструкции которого предложены Ребиндером и Трапезниковым [9, 14].

Измерения проводили при постоянной скорости вращения столика, регистрируя изменения статического напряжения сдвига (P_s) во времени. Поскольку модуль упругости торзона (вольфрамовой нити) много выше модуля упругости исследованных межфазных адсорбционных слоев, то такой режим испытаний обеспечивает постоянство скорости деформации на начальной (линейной) и конечной стадиях развития напряжения сдвига.

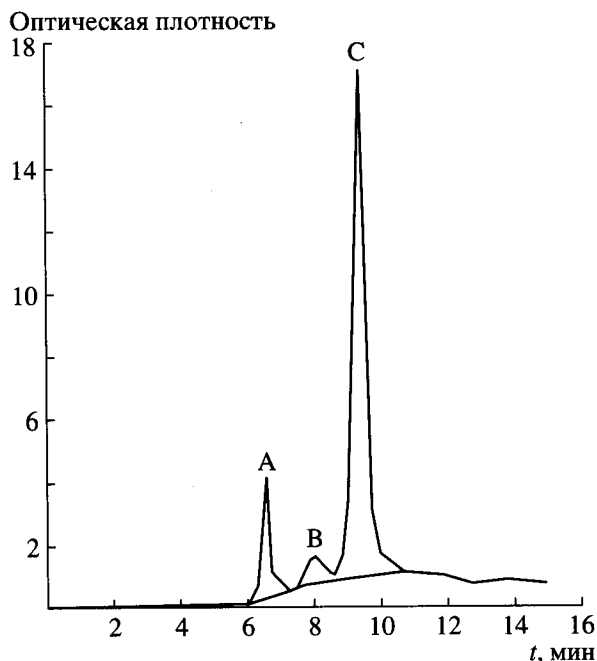


Рис. 1. Данные ВЭЖХ, характеризующие состав препарата БСА. Пик С относится к мономеру белка.

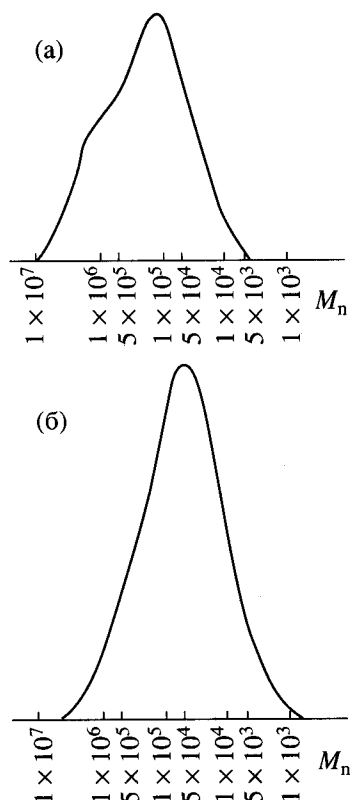


Рис. 2. Молекулярно-массовые распределения полистирола (а) и сополимера стирола с 0.2% метакриловой кислоты (б).

Расчет величины P_s (мН/м) проводили по формуле

$$P_s = C_0 \delta / 36 R n,$$

где C_0 – постоянная закручивания нити (мН/м), δ – отклонение светового зайчика (м), R – радиус стеклянного диска (м), n – коэффициент перевода угловых градусов в м шкалы.

В работе использовали вольфрамовые нити с диаметром сечения 0.2 и 0.13 мм. Ошибка измерений составляла 6.5%.

При применении метода постоянной скорости вращения величина деформации ε вычисляется в процентах относительного сдвига:

$$\varepsilon = 2R_2^2(\Omega t - \varphi)100 / (R_2^2 - R_1^2),$$

где t – время поворота столика с сосудом (с), φ – угол (рад), пройденный подвесной системой (внутренним цилиндром), R_1 и R_2 – радиусы диска и сосуда (м), Ω – скорость вращения столика (рад/с).

Модуль эластической деформации межфазных адсорбционных слоев E (мН/м) рассчитывали по формуле

$$E = R_s / \varepsilon$$

из начальных линейных участков кривых развития напряжения сдвига в межфазных адсорбционных слоях во времени. Задавая различную скорость вращения кюветы, можно определить P_s как функцию скорости деформации, т.е. кривую установившегося течения или полную реологическую кривую, позволяющую рассчитать эффективную вязкость.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сывороточный альбумин, как и другие белки, является поверхностно-активным веществом, снижающим поверхностное и межфазное натяжения, и образует межфазные адсорбционные слои, обладающие свойствами коагуляционных кристаллоподобных структур [3]. Границы фаз вода/воздух и вода/масло энергетически однородны и легко подвижны, что облегчает определение для них свободной поверхностной (межфазной) энергии, в том числе в присутствии адсорбционных слоев белков. Одновременно возможно измерение реологических параметров межфазных адсорбционных слоев, характеризующих их структуру как вязкого, упругого или пластичного тела [2].

Динамика формирования межфазных адсорбционных слоев белков, определенная из измерений межфазного натяжения, сгущения массы (адсорбции) и реологических характеристик, различна.

Межфазное натяжение в системах вода/масло в присутствии высокомолекулярных соединений, в том числе и белков, обычно монотонно снижается во времени до постоянного значения, которое зависит от концентрации высокомолекулярных веществ и их гидрофильно-липофильного баланса. Ранее было показано, что межфазное натяжение в системе вода/масло в присутствии сывороточного альбумина и полистирола достигает своего минимального значения в течение десятков минут (в зависимости от концентрации полимеров) [3, 15].

Зависимость механических характеристик межфазных адсорбционных слоев БСА от времени их формирования проходит через максимум. В течение некоторого времени (≈ 20 мин) прочность межфазного слоя нарастает, а затем падает до постоянного значения [16]. Это свидетельствует о конкуренции нескольких (по крайней мере, двух) процессов при образовании МАС [17, 18].

При массопереносе БСА на межфазную границу возникает большое число случайных контактов между молекулами белка; при этом образуется прочная, но напряженная коагуляционная структура, которая термодинамически неустойчива и со временем разрушается при переходе системы в равновесное состояние.

Анализируя динамику формирования межфазных адсорбционных слоев белков можно предположить, что происходит переход от более плот-

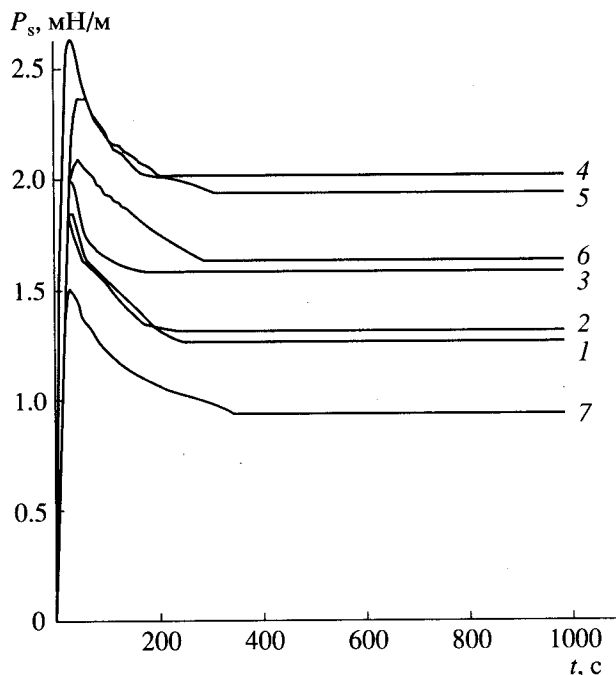


Рис. 3. Развитие напряжения сдвига в межфазном адсорбционном слое БСА в системе водный раствор БСА/м-ксилол при концентрациях белка (мас. %): 1 – 0.0015, 2 – 0.003, 3 – 0.0063, 4 – 0.0125, 5 – 0.025, 6 – 0.05, 7 – 0.1. Время формирования слоя 40 мин, $t = 20^\circ\text{C}$, pH 6.5, скорость деформации 0.2 об/мин.

ной прочной структуры на начальной стадии возникновения слоя к рыхлым структурам меньшей прочности.

В работе [19] с использованием атомно-силовой микроскопии изучены адсорбционные слои сывороточного альбумина, сформированные на границе фаз гексадекан/вода и перенесенные на твердую подложку. На фотографиях видна упорядоченная сетка глобул белка с толщиной слоя $2,8 \pm 0,4$ нм, что подтверждает формирование упорядоченной коагуляционной структуры в межфазном слое.

Нами было показано, что реологические параметры межфазных адсорбционных слоев БСА и его смесей с ПС или ССМАК не изменяются в процессе формирования в течение 1–6 ч и такие слои можно считать “условно равновесными”.

Поэтому в дальнейшем исследовании реологических свойств межфазных адсорбционных слоев БСА и его интерполимерных ассоциатов с полистиролом и сополимером стирола и метакриловой кислоты проводили после формирования слоев в течение 40 мин.

На рис. 3 представлены данные о развитии во времени напряжения сдвига в межфазных адсорбционных слоях БСА на границе его водных растворов разной концентрации с м-ксилолом. Вид-

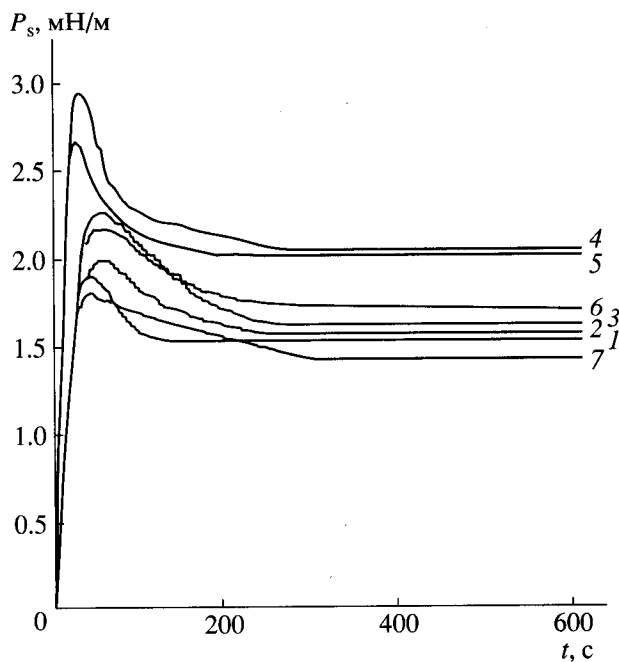


Рис. 4. Развитие напряжения сдвига в смешанном межфазном адсорбционном слое в системе 2%-ный раствор ПС в м-ксилоле/водный раствор БСА при концентрациях белка (мас. %): 1 – 0.0015, 2 – 0.003, 3 – 0.0063, 4 – 0.0125, 5 – 0.025, 6 – 0.05, 7 – 0.1. Время формирования слоя 40 мин, $t = 20^\circ\text{C}$, pH 6.5, скорость деформации 0.2 об/мин.

но, что разрывное напряжение P_{rs} с увеличением концентрации белка сначала увеличивается (кривые 1–4), а затем уменьшается (кривые 5–7).

Смешанные межфазные адсорбционные слои, сформированные ассоциатами БСА и ПС (рис. 4), характеризуются аналогичными зависимостями $P_s(t)$. Вместе с тем, следует отметить некоторое увеличение значений P_{rs} для смешанных МАС.

Для дальнейших исследований концентрации белка в воде (0.1%) и полимеров в м-ксилоле (2%) были выбраны, исходя из результатов измерений изотерм межфазного натяжения – они соответствуют максимальному снижению межфазного натяжения.

pH 6.5 водного раствора БСА было выбрано в связи с тем, что это значение соответствует pH крови и при таких pH молекулы БСА имеют небольшой отрицательный заряд и поэтому при формировании смешанных МАС на границе вода/м-ксилол минимизировались электростатические взаимодействия.

Зависимости развития напряжения сдвига от времени в адсорбционных слоях БСА и в смешанных слоях белка с ПС и ССМАК на границе фаз вода/м-ксилол представлены на рис. 5.

Можно отметить для всех МАС существенное увеличение разрывного напряжения P_{rs} (максиму-

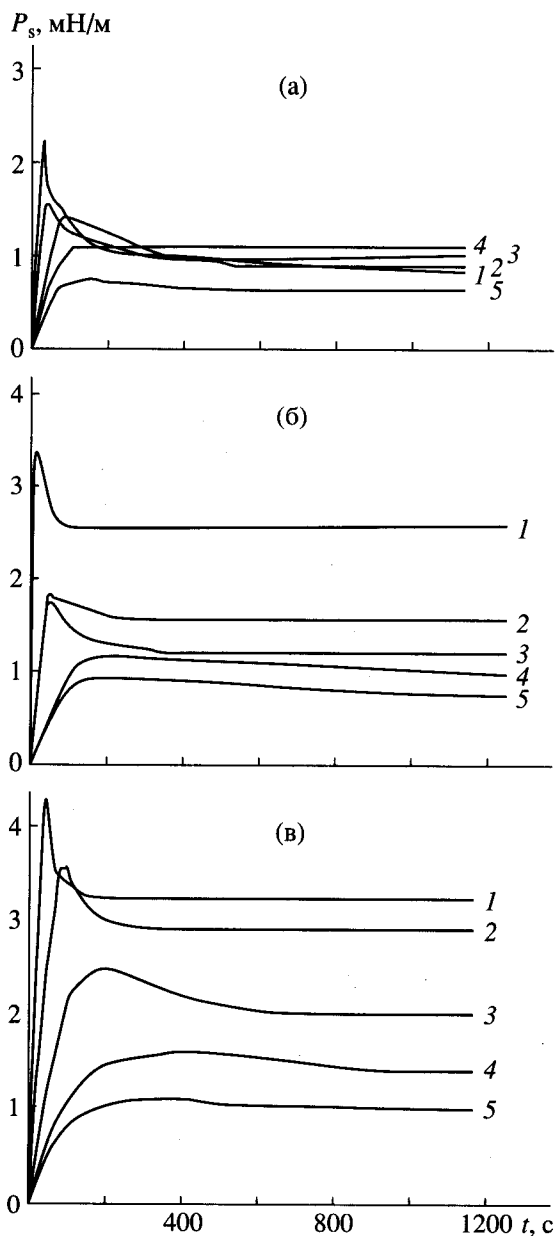


Рис. 5. Развитие напряжения сдвига в межфазных адсорбционных слоях БСА и интерполимерных комплексов при различных скоростях деформации (об/мин): 1 – 0.4, 2 – 0.2, 3 – 0.1, 4 – 0.04, 5 – 0.02.

Время формирования слоев 40 мин, $t = 20^\circ\text{C}$, pH водного раствора 6.5. (а) 0.1%-ный раствор БСА в воде на границе с м-ксилолом; (б) 0.1%-ный раствор БСА в воде на границе с 2%-ным раствором полистирола в м-ксилоле; (в) 0.1%-ный раствор БСА в воде на границе с 2%-ным раствором сополимера стирола и метакриловой кислоты в м-ксилоле.

мы на кривых) и уменьшение времени появления максимума с увеличением скорости деформации: при увеличении скорости деформации на два порядка $P_{\text{ТС}}$ возрастает в 4–8 раз, а время достижения $P_{\text{ТС}}$ уменьшается от нескольких минут до секунд. Из рис. 5 также следует, что при формиро-

вании смешанных МАС разрывное напряжение $P_{\text{ТС}}$ возрастает по сравнению с МАС индивидуальных компонентов.

Появление максимума на кривых $P_s(t)$ связано с наличием у межфазных слоев эластических свойств, а напряжение $P_{\text{ТС}}$, соответствующее максимуму, можно рассматривать как предел прочности структуры слоя. При достижении этого предельного напряжения сдвига определенное число разрушенных связей не успевает восстановиться в процессе деформации. Это явление определяется релаксацией напряжений и временной зависимостью прочности для термических активационных процессов. Напряжение $P_{\text{ТС}}$, поддерживающее стационарное течение при данной скорости (плато на кривых), характеризует вязкостные свойства слоя и также растет с увеличением скорости деформации.

Образование интерполимерных ассоциатов в межфазных адсорбционных слоях, когда вода содержит БСА, а м-ксилол – ПС или ССМАК, приводит к возрастанию значений предела прочности и стационарного напряжения сдвига, которыми характеризуются МАС.

На основании полученных данных были построены зависимости скорости деформации от напряжения сдвига (рис. б). Кривые течения межфазных адсорбционных слоев имеют вид, характерный для твердообразных структур с пределами текучести $P_{\text{к1}}$ и $P_{\text{к2}}$.

В области напряжений сдвига, меньших предела текучести (до ≈ 0.05 мН/м) структура межфазных адсорбционных слоев характеризуется модулем упругости и бесконечной вязкостью. Далее идет область первой пластической вязкости – шведовской:

$$\eta_0^* = (P - P_{\text{к1}})/(d\varepsilon/dt),$$

где $P_{\text{к1}}$ – первый предел текучести. На этом участке в структуре слоя наблюдается разрушение отдельных связей между макромолекулами, но число восстанавливающихся связей равно числу разрушенных. Затем, при напряжениях сдвига, больших второго предела текучести $P_{\text{к2}}$, наблюдается область второй пластической вязкости – бингамовской:

$$\eta^* = (P - P_{\text{к2}})/(d\varepsilon/dt).$$

В этой области число разрушенных связей больше числа восстанавливающихся. При этом структура межфазных адсорбционных слоев разрушается.

В таблице представлены значения модуля упругости E для адсорбционных слоев БСА и его ассоциатов с ПС и ССМАК, сформированных на границе фаз вода/м-ксилол. Для сравнения приведены данные [8] для МАС синтетических полимеров – ПС и ССМАК.

Из таблицы видно, что смешанные межфазные адсорбционные слои БСА с ПС или ССМАК имеют модуль упругости выше в 1.5–2 раза, эффективная шведовская вязкость также возрастает в 1.5–2 раза по сравнению с соответствующими параметрами МАС белка. Рассчитанные значения модуля эластической деформации и эффективных вязкостей смешанных межфазных адсорбционных слоев БСА с синтетическими полимерами позволяют охарактеризовать эти слои как эластично-вязкие (модель Кельвина).

Анализ характеристик исследованных межфазных адсорбционных слоев БСА и его ассоциатов с ПС или ССМАК позволяет предложить модели их строения, представленные на рис. 7.

Как уже указывалось, в настоящее время принято объяснять структуру молекулы сывороточного альбумина с помощью трехдоменной модели. Согласно этой модели, молекула белка состоит из трех относительно независимых доменов (I, II и III), каждый из которых образован тремя петлями (субдоменами) аминокислотной цепи и имеет близкий аминокислотный состав. Все домены и субдомены сшиты дисульфидными мостиками и стабилизированы электростатическими и гидрофобными взаимодействиями. Центральный домен имеет более плотную структуру и диаметр 5.3 нм, два менее плотных домена расположены симметрично относительно центрального и имеют меньший диаметр – 3.8 нм.

Распределение зарядов (в зависимости от pH среды) неоднородно: при pH 7.4 домен I имеет заряд –8, домен II –9, домен III не заряжен. Поэтому нам представляется, что в МАС предпочтительной является вертикальная ориентация молекул БСА преимущественно третьим доменом в сторону м-ксилола.

МАС альбумина на границе двух несмешивающихся жидкостей (рис. 7а), представляет собой, на наш взгляд, высокоупорядоченную коагуляционную структуру с контактами, образованными в результате гидрофобных взаимодействий.

Синтетические полимеры (ПС, ССМАК) на той же границе фаз формируют в результате об-

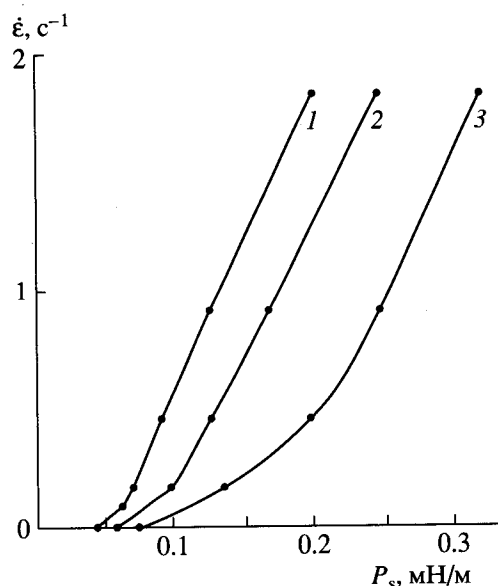


Рис. 6. Кривые течения межфазных адсорбционных слоев БСА и его комплексов с полистиролом и сополимером стирола и метакриловой кислоты, формирующихся в системах: 1 – 0.1%-ный раствор БСА в воде/м-ксилол; 2 – 0.1%-ный раствор БСА в воде/2%-ный раствор ПС в м-ксилоле; 3 – 0.1%-ный раствор БСА в воде/2%-ный раствор ССМАК в м-ксилоле.

разования сетки зацеплений гелеобразные структуры, элементом которых являются петли макромолекул (рис. 7б и 7в).

Более прочные смешанные межфазные адсорбционные слои (рис. 7г и 7д) формируются, очевидно, в результате солюбилизации петель неполярных макромолекул ПС (или ССМАК) гидрофобными областями нескольких молекул БСА, что создает дополнительные контакты. Это – своеобразная межфазная двумерная флокуляция коллоидных белковых частиц высокомолекулярными веществами.

Ранее [9] была детально исследована солюбилизация молекул углеводов различного объема и рассчитаны размеры гидрофобных областей, которые для БСА изменялись от 3000 до

Реологические параметры межфазных адсорбционных слоев БСА, полистирола и сополимера стирола с метакриловой кислотой, а также интерполимерных ассоциатов на границе фаз вода/м-ксилол

Система	Модуль эластической деформации, E , мН/м	Шведовская вязкость, η_0^* , мН с/м	Бингамовская вязкость, η^* , мН с/м
0.1%-ный раствор БСА в воде/м-ксилол	2.8	170	70.6
0.1%-ный раствор БСА в воде/2%-ный раствор ПС в м-ксилоле	4.2	274	75.7
0.1%-ный раствор БСА в воде/2%-ный раствор ССМАК в м-ксилоле	5.8	466	83.8
Вода/2%-ный раствор ПС в м-ксилоле	3.7×10^{-4}	10.1	2.5
Вода/2%-ный раствор ССМАК в м-ксилоле	1.6×10^{-3}	17.4	2.6

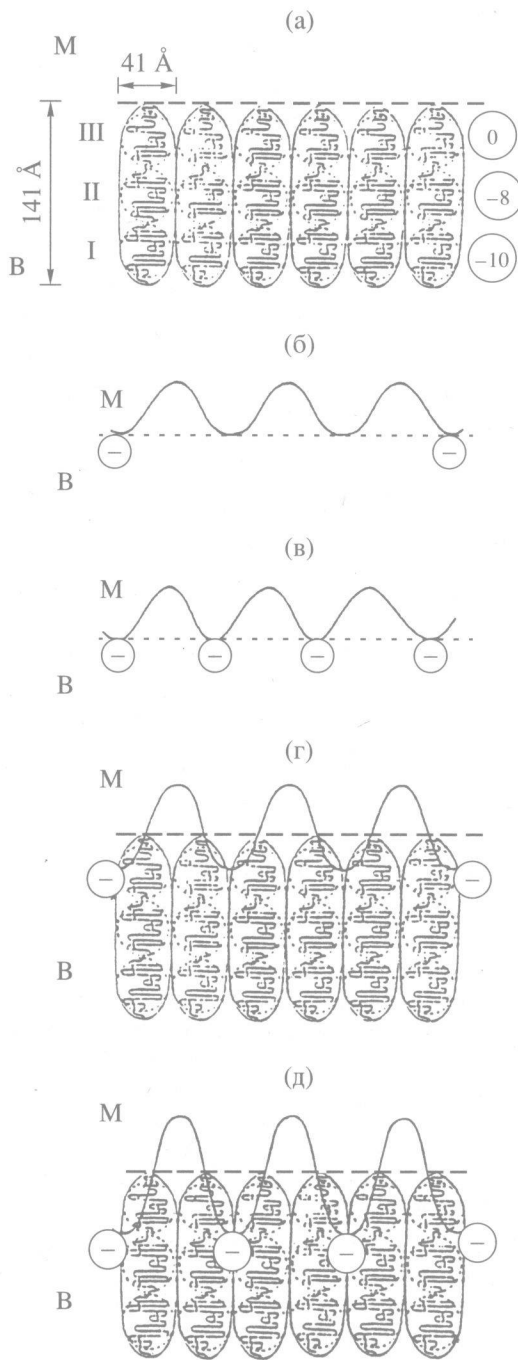


Рис. 7. Модели строения межфазных адсорбционных слоев высокомолекулярных ПАВ на границе неполярная фаза/вода: (а) – сывороточный альбумин, (б) – полистирол, (в) – сополимер стирола с МАК, (г) – интерполимерные ассоциаты сывороточного альбумина с полистиролом, (д) – интерполимерные ассоциаты сывороточного альбумина с сополимером стирола и МАК. М – масляная фаза; В – водная фаза.

Цифрами I, II и III обозначены домены макромолекулы сывороточного альбумина.

В кружках обозначены заряды на макромолекулах ПС, ССМАК, а также БСА.

250 Å³. Сегменты макромолекул ПС и ССМАК, образующие гель на границе фаз, могут проникать (“солубилизоваться” в эти гидрофобные области БСА и тем самым “закреплять” коагуляционную структуру межфазного слоя БСА.

Таким образом, впервые определены реологические параметры интерполимерных ассоциатов, образуемых масло- (полимеры) и водорастворимыми (глобулярный белок) поверхностно-активными высокомолекулярными соединениями на межфазной границе жидкость/жидкость. Обнаруженный синергетический эффект обусловлен дополнительными гидрофобными взаимодействиями отдельных сегментов синтетических макромолекул с гидрофобными (в том числе, внутренними) областями глобулярного белка, приводящими к “флокуляции” макромолекул БСА.

Исследование реологических свойств ассоциатов БСА с полистиролом существенно для понимания механизма взаимодействия биомолекул (в частности, БСА) с полистирольными латексами [20], широкого использования для приготовления диагностикомов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты: 98-03-33865а и 96-03-32260).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Измайлова В.Н., Ямпольская Г.П., Туловская З.Д. // Коллоид. журн. 1998. Т. 60. № 5. С. 598.
2. Измайлова В.Н., Ямпольская Г.П., Сумм Б.Д. Поверхностные явления в белковых системах. М.: Химия, 1988.
3. Izmailova V.N., Yampolskaya G.P. In: Protein at Liquid Interfaces. Eds Mobius D. and Miller R. Studies in Interface Science Series. V. 7. Amsterdam: Elsevier, 1998. P. 103.
4. Грицкова И.А., Крашенникова И.Г., Дорохова Е.А. и др. // Коллоид. журн. 1994. Т. 56. № 4. С. 487.
5. Грицкова И.А., Крашенникова И.Г., Дорохова Е.А. и др. // Коллоид. журн. 1994. Т. 56. № 4. С. 491.
6. Грицкова И.А., Крашенникова И.Г., Дорохова Е.А. и др. // Коллоид. журн. 1995. Т. 57. № 2. С. 182.
7. Kowalczyk D., Marsault J.P., Słomkowski S. // Colloid Polym. Sci. 1996. V. 274. P. 513.
8. Измайлова В.Н., Грицкова И.А., Бахарванд Х. и др. // Коллоид. журн. 1997. Т. 59. № 3. С. 324.
9. Измайлова В.Н., Ребиндер П.А. Структурообразование в белковых системах. М.: Наука, 1974.
10. Haynes Ch.A., Norde W. // J. Colloid Interface Sci. 1995. V. 169. P. 313.
11. Маурер Г. Диск-электрофорез. М.: Мир, 1971.
12. Kirschenbaum D.M. // Anal. Biochem. 1997. V. 81. P. 220.

13. *Peters Th.* // *Adv. Protein Chem.* 1985. V. 37. P. 161.
14. *Izmailova V.N.* // *Progr. Surface Membrane Sci.* 1979. V. 13. P. 141.
15. *Нусс П.В., Гуров А.Н.* // *Коллоид. журн.* 1992. Т. 54. № 3. С. 123.
16. *Пелех В.В., Алентьев А.Ю., Ямпольская Г.П., Измайлова В.Н.* // *Коллоид. журн.* 1998. Т. 60. № 2. С. 235.
17. *Пелех В.В., Алентьев А.Ю., Ямпольская Г.П., Измайлова В.Н.* // *Коллоид. журн.* 1998. Т. 60. № 2. С. 239.
18. *Левачев С.М., Измайлова В.Н.* // *Коллоид. журн.* 1994. Т. 56. № 2. С. 194.
19. *Gunning A.P., Wielde P.J., Clark D.C. et al.* // *J. Colloid Interface Sci.* 1996. V. 183. P. 600.
20. *Revilla J., Elaissari A., Carriere P., Pichot Ch.* // *J. Colloid Interface Sci.* 1996. V. 180. P. 405.