

УДК 541.182.02

РОЛЬ ХИМИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ В УПРАВЛЕНИИ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫМИ СВОЙСТВАМИ ЖЕЛАТИНЫ

А. Е. Харлов, Ш. Магдасси*, А. Камышный*, Г. П. Ямпольская, С. М. Левачев, В. Н. Измайлова

(кафедра коллоидной химии; e-mail: Izmailova@colloid.chem.msu.ru)

Сопоставлены свойства желатины типа А («Sigma»), с молекулярной массой 94 кДа (по данным высокоэффективной жидкостной хроматографии), с желатинами модифицированными N-гидроксисукцинимидным эфиром лауриловой кислоты (степень модификации 10, 30 и 85%). Методом ЯМР подтверждено, что в результате реакции модификации алкильные радикалы ковалентно присоединяются через возникающую амидную связь к аминокислотным остаткам лизина в полипептидной цепи желатины. Методом капиллярной вискозиметрии определены гидродинамические параметры: предельное число вязкости (характеристическая вязкость), инкремент вязкости, осевое соотношение, гидродинамический объем модифицированных желатин. Показано, что при гидрофобизации желатины макромолекулярные клубки становятся более компактными и симметричными. Методом нанесенных мономолекулярных слоев (метод весов Ленгмюра) показано, что изотермы двумерного давления π -A с увеличением степени модификации желатины (от 0 до 85%) смещаются в сторону больших площадей на молекулу. Предельное двумерное давление, регистрируемое при максимально достижимом сжатии монослоя (до $0,001248 \text{ м}^2$), возрастает для монослоев модифицированной желатины с 18 до 34 мН/м. При максимальной степени гидрофобизации желатины ее адсорбционная активность возрастает примерно в 4 раза.

Желатину получают при денатурации природного фибриллярного белка коллагена. Поскольку она широко используется в разных областях промышленности, перед исследователями возникает множество новых задач.

Свойства белков можно регулировать с учетом технологических требований путем химической модификации. Стабилизирующие свойства желатины, можно регулировать путем ее физической или химической модификации, в результате чего изменяется гидрофильно-липофильный баланс макромолекул и их конформационное состояние. Путем ковалентного присоединения алкильных групп к функциональным группам боковых аминокислотных остатков полипептидных цепей желатины можно ощутимо изменить ее поверхностную активность, что важно для оптимизации использования желатины на практике. В связи с тем, что большинство белков проявляет биологическую активность на границе раздела фаз, исследование поверхностной активности модифицированных белков является актуальным.

В работе [1] изучено влияние химической модификации желатины (путем ковалентного присоединения алкильных цепей C_8 - C_{12} к молекуле) на ее адсорбцию на твердой гидрофобной поверхности (стекло, покрытое фосфотидилхолиновым монослоем). Показано, что модифицированная желатина проявляет высокое сродство к гидрофобной поверхности, причем наибольшая величина адсорбции наблюдалась для наиболее гидрофобизованного белка. Молекулы желатины адсорбируются на поверхности, причем увеличение степени гидрофобности приводит к образованию более конденсированного монослоя и к более плотной и компактной структуре макромолекул. Благодаря возникновению гидрофобных взаимодействий адсорбция желатины сопровождается проникновением присоединенных алкильных цепей в фосфолипидный монослой.

В работе [2] исследованы поверхностно-активные свойства желатины как немодифицированной, так и химически модифицированной эфирами жирных кислот с различной

*The Hebrew University of Jerusalem, 91904 Jerusalem, Israel.

длиной гидрофобного ковалентно присоединенного радикала C_4-C_{16} . Была изучена кинетика изменения поверхностного натяжения водных растворов модифицированных желатин с разной концентрацией (0,001–1 мг/л). Показано, что с увеличением степени модификации желатины, а также концентрации и длины углеводородного радикала способность желатины снижать поверхностное натяжение возрастает (для наиболее C_{16} -модифицированной желатины равновесное поверхностное натяжение составляет 32 мН/м). Найдено, что формирование равновесных адсорбционных слоев, обуславливающих снижение поверхностного натяжения на границе вода–воздух, происходит быстрее для модифицированных желатин (3–4 ч) по сравнению с исходной немодифицированной желатиной (12–16 ч), что, по мнению авторов, связано с конформационными изменениями макромолекул на границе раздела фаз.

Целью данной работы явилось исследование влияния степени химической модификации желатины на ее поверхностные свойства на границе раздела фаз вода–воздух методом нанесенных мономолекулярных слоев Ленгмюра.

Объекты и методы исследования

Использовали желатину типа А «Sigma» (молекулярно-массовое распределение 80–120 кДа. Молекулярно-массовое распределение желатины определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на колонках фирмы «Hewlett Packard». Разделение проводили при скорости потока 0,5 мл/мин и 1 мл/мин в первой и второй колонках соответственно. Для анализа желатин колонки калибровали по водорастворимому коллагену, используя проточный лазерный нефелометр «Dawn F» (фирма Wyatt Thechno-logy). Молекулярную массу (M)

определяли по формуле

$$\lg M = 5,04 - 0,32 \cdot X, \quad (1)$$

где X – время удерживания (мин).

На рис. 1 (кривая молекулярно-массового распределения) показано наличие трех пиков, соответствующих трем полипептидным фракциям желатины: 117, 108 и 80 кДа (57,44; 18,99 и 23,57% соответственно). Таким образом, средняя молекулярная масса исходной желатины составила 93,72 кДа, т.е. в исследуемом образце преобладали α -цепи.

Модифицированная желатина получена в [1, 3] за счет химической реакции с N-гидроксисукцинимидным эфиром лауриловой кислоты. Число ковалентно связанных алкильных цепей после модификации (1 ммоль на 1 г желатины) определено в [1] методом, основанным на реакции между свободными аминокислотными группами лизина с тринитробензолсульфаниловой кислотой. Содержание аминокислотных остатков лизина в обессоленной желатине составляет 2,69% от общего количества аминокислотных остатков [4]. Исследовали три типа C_8 -модифицированной желатины (0,04–0,34 ммоль алкильных цепей на 1 г желатины). Содержание химически модифицированных аминокислотных остатков лизина в желатине с различной степенью химической модификации составляло 10, 30 и 85% от их общего количества в исходной желатине.

Методом ЯМР на протонах с внутренней стабилизацией по дейтерию (частота 200,13 МГц) подтверждено, что в результате химической реакции аминогруппы лизина с эфиром N-гидроксисукцинимид и лауриловой кислоты возникает амидная связь, несущая алкильный радикал C_7H_{15} по нижеприведенной схеме.

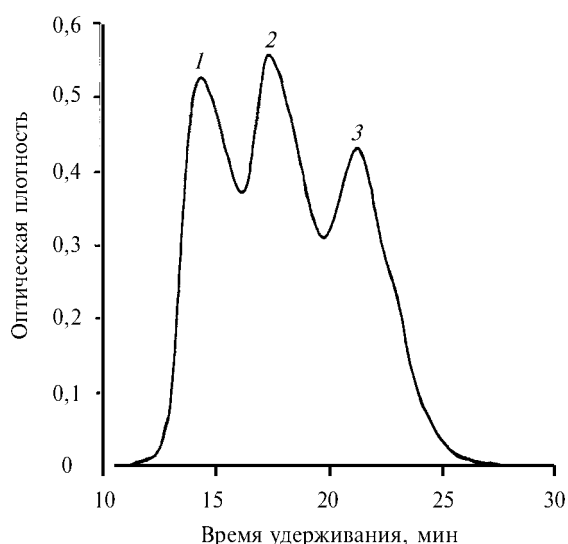
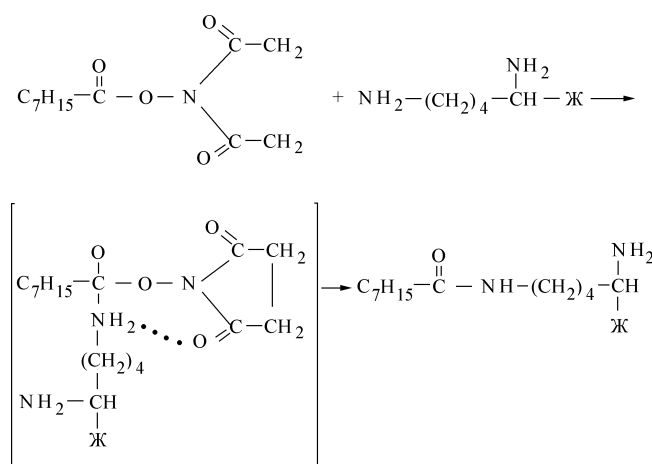


Рис. 1. Молекулярно-массовое распределение желатины по данным высокоэффективной жидкостной хроматографии. Фракции: 1 – 117 кДа (18,99%), 2 – 108 кДа (23,57%), 3 – 80 кДа (57,44%)



Приготовление растворов желатин. Водные растворы желатины с концентрацией 0,1% были получены путем растворения навески желатины после предварительного набухания в течение 10 ч в бидистиллированной воде. Растворение проводили при температуре 60°.

Таблица 1

Гидродинамические параметры макромолекул желатины, модифицированной (химически) N-гидроксиукцинимидным эфиром лауриловой кислоты ($T = 40^\circ$)

Характеристика желатины «Sigma»	$[\eta]$, см ³ /г	ν	f	M_n , кДа	$V_0 \cdot 10^{-6}$, см ³ /моль
Немодифицированная	77	102,7	36,0	187	14,4
Степень модификации, %					
10	34	45,3	24,0	74	2,35
30	32	42,7	21,0	69	2,21
85	26	37,4	17,0	55	1,43

Приготовление растворов для субфазы. В качестве субфазы для монослоев использовали водный раствор сульфата аммония $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ марки «Реахим» («х.ч.»). Растворы с заданной концентрацией $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ готовили разбавлением исходного 1 М раствора бидистиллированной водой.

Определение гидродинамических параметров желатины из вискозиметрических данных проводили, используя методику, приведенную в работе [5]. Вязкость исследуемых систем измеряли с помощью капиллярного вискозиметра ВПЖ-4, помещенного в водную термостатируемую ячейку при $T = (40,0 \pm 0,1)^\circ$. Внутренний диаметр капилляра 0,37 мм, время истечения воды 185 с, максимальная скорость сдвига 204 с^{-1} при 40° , время термостатирования перед измерениями 40 мин. Вязкость разбавленных растворов желатины определяли в диапазоне концентраций $1 \cdot 10^{-3} - 6 \cdot 10^{-3} \text{ г/см}^3$. Объем пробы составлял 5 см^3 , значения pH исследованных растворов – от 5,6 до 6,1.

Были рассчитаны следующие гидродинамические параметры исследуемых желатин (табл. 1): предельное число вязкости (характеристическая вязкость) $[\eta]$, инкремент вязкости ν , осевое соотношение f , гидродинамический объем V_0 макромолекул желатины и средневязкостная молекулярная масса M_n , которую определяли по формуле [6]

$$[\eta] = 1,66 \cdot 10^{-3} M_n^{0,885}. \quad (2)$$

Прибор для исследования монослоев. В работе использовали ванну Ленгмюра кругового типа [7]. Прибор позволяет регистрировать изменение поверхностного натяжения в процессе изменения площади пленки поверхностно-активного вещества, нанесенного на поверхность раздела фаз жидкость–воздух. Измерение двумерного давления осуществляли с помощью пластинки Вильгельми. Использовали вольфрамовую пластинку с периметром 10 см, связанную с механотроном, преобразующим

механическое усилие в электрический сигнал. Измерительная пластинка и механотрон одновременно перемещаются в вертикальном направлении с помощью подъемного механизма, микрометрический винт которого вынесен на переднюю панель прибора. Блок регистрации представляет собой двухкоординатный самописец: на оси X регистрируется изменение площади пленки, на оси Y – двумерное давление π , равное разности между поверхностным натяжением подложки σ_0 и поверхностным натяжением с нанесенным веществом σ_r ($\pi = \sigma_0 - \sigma_r$). Изменение площади поверхности монослоя составляет $0,028552 \text{ м}^2$. Площадь поверхности ванны (исходная площадь монослоя) составляет $0,0298 \text{ м}^2$. Минимальная (конечная) площадь монослоя – $0,001248 \text{ м}^2$. Скорость сжатия монослоя во всех опытах составляла $3,17 \cdot 10^{-4} \text{ м}^2/\text{с}$, опыты проводили при температуре 20° . Чувствительность прибора при комнатной температуре может изменяться в пределах $0,1 - 0,01 \text{ мН/м}$ в зависимости от настройки прибора.

Подбор условий для формирования монослоев. Для получения монослоев водный раствор желатины наносили на поверхность дистиллированной воды или раствора сульфата аммония $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ при помощи мерной пипетки (с делением шкалы 1 мкл). На воде основные параметры изотерм двумерного давления отличаются очень незначительно при разном количестве нанесенного раствора желатины и разной степени ее модификации. Значения параметров изотерм так же очень малы (двумерное давление, характеристическая площадь и др.). При использовании в качестве субфазы раствора $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ с концентрацией от 0,1 до 0,4 моль/л изотермы приобретают расширенный вид с отчетливо проявляющимися характерными участками. Оптимальное количество наносимого раствора желатины на электролитсодержащую субфазу составляет 20 мкл. Каплю раствора осторожно помещали на подложку в место, равноудаленное от барьера, краев ванны и пластинки Вильгельми. Получены изотермы сжатия–растяжения (π – A) для нанесенных слоев желатины при концентрации сульфата аммония в подложке 0–0,8 моль/л и изменении площади монослоя от $0,001248$ до $0,0298 \text{ м}^2$.

Результаты и их обсуждение

Влияние концентрации сульфата аммония в водной субфазе на изотермы двумерного давления π – A для всех исследуемых желатин представлено на рис. 2. Изотерма π – A для немодифицированной желатины (рис. 2, а) имеет вид, однотипный для большинства белков. Такие изотермы характеризуются наличием нескольких характерных участков, соответствующих различным состояниям монослоя. Первый участок (обычно линейный) при больших площадях на молекулу и малых значениях двумерного давления π (мН/м) соответствует жидкорасширенному состоянию монослоя (газообразное состояние), для большинства белков имеется и второй линейный участок, начало сжатия которого на изотерме сопровождается резким увеличением двумерного давления при сколь угодно

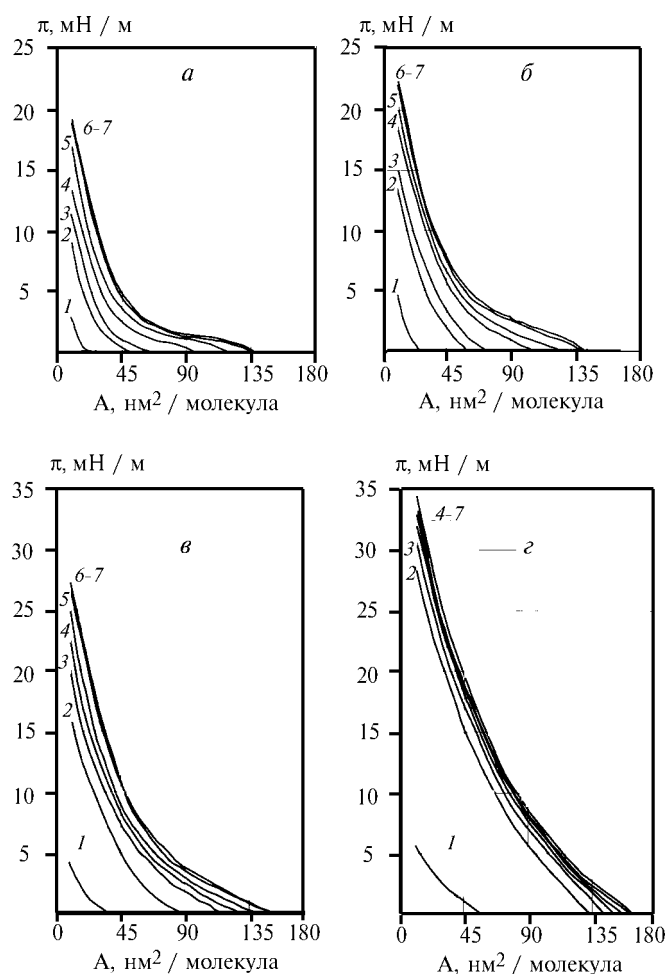


Рис. 2. Влияние концентрации сульфата аммония в водной субфазе на изотермы сжатия мономолекулярных слоев химически модифицированной желатины: *а* – немодифицированная желатина; модифицированная желатина со степенью модификации, %: *б* – 10; *в* – 30; *г* – 85). Концентрация $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, моль/л: 1 – 0; 2 – 0,025; 3 – 0,05; 4 – 0,1; 5 – 0,2; 6 – 0,4; 7 – 0,8 (pH 5,30–5,48, $T = 20^\circ$)

малом уменьшении площади монослоя, в этом случае монослой переходит в жидкоконденсированное состояние [8]. Известно, также, что при малых скоростях сжатия монослоя на изотермах появляется плато. Обычно состояние монослоя в области плато относили к жидкорастянутому, хотя детали его не были ясны. Можно предположить, что плато свидетельствует о начале коллапса монослоя, причины которого связаны с различными физико-химическими явлениями. Из рис. 2, *а* видно, что при увеличении концентрации $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в субфазе изотермы π - A для монослоя желатины смещаются в сторону больших площадей на молекулу и приобретают расширенный характер. Вероятно, главным и определяющим фактором такого изменения вида изотерм является понижение растворимости желатин в субфазе, содержащей электролит, вследствие чего первичная ориентация в монослое, определяющаяся дальнедействующими силами притяжения, уменьшается, поскольку адсорбция ионов электролита на макромолекулах желатины экранирует их заряд и облегчает межмолекулярное взаимодействие. Начиная с концентрации $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

0,1 моль/л на изотерме (рис. 2, *а*, кривая 4) появляется плато, а при дальнейшем увеличении концентрации $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ до 0,8 моль/л оно становится ярко выраженным. Плато на изотерме (область фазового перехода) располагается в интервале площадей 75–125 nm^2 на молекулу и двумерном давлении $\pi = 2$ –2,5 мН/м. Необходимо отметить, что для всех исследуемых желатин увеличение ионной силы субфазы одинаково. Во всех случаях монослой на водной подложке практически не формируются (рис. 2, кривые 1), по-видимому, вследствие десорбции желатины (гидрофильного гибкоцепного полипептида) в объем субфазы. При достижении концентрации $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, равной 0,4 моль/л, влияние электролита на изотермы двумерного давления для всех изученных систем далее практически не изменяется (кривые 6–7 на рис. 2). Видно также, что с увеличением концентрации электролита в подложке для всех желатин увеличивается двумерное давление монослоя, сжатого до конечной площади 9,7–11 nm^2 на молекулу (0,01248 m^2). Интересно сравнить влияние ионной силы субфазы на изотермы двумерного давления для желатины (рис. 2, *а*) и для коллагена – природного фибриллярного белка [9], поскольку желатина представляет собой продукт его денатурации. При увеличении концентрации хлорида калия в водной субфазе начало подъема изотермы сжатия монослоя сдвигается в сторону больших площадей (от 2150 до 2750 nm^2 на молекулу). Для коллагена особенно характерно наличие области фазового перехода (на изотерме четко выделяется плато), что связывается с процессом фибриллообразования в коллагеновом монослое. Как и в случае желатины, увеличение ионной силы субфазы приводит к увеличению двумерного давления, соответствующего плато (области фазовых переходов). Для монослоев коллагена наблюдается коллапс монослоя, давление которого составляет 60–70 мН/м (в зависимости от концентрации электролита в субфазе). Наличие области плато для желатины (в интервале 75–125 nm^2 на молекулу и $\pi = 2,0$ –2,5) может быть связано с другими структурными ориентационными перестройками в поверхностном слое вследствие увеличения поверхностной концентрации белка. На рис. 2 показано, что с увеличением степени модификации желатины от 10 до 85% достаточно даже малых концентраций сульфата аммония в субфазе (0,1 моль/л) для значительного смещения изотермы двумерного давления в сторону увеличения точки начала подъема изотермы. Как показано на рис. 2, *г*, поверхностное поведение желатины со степенью модификации 85% незначительно зависит от концентрации электролита в субфазе (кривые 3–7 практически совпадают).

Поскольку для исследуемых желатинсодержащих систем при концентрации сульфата аммония в водной субфазе $> 0,4$ моль/л вид изотерм π - A практически не изменяется, целесообразно детально рассмотреть влияние степени химической модификации желатины на параметры изотерм

двумерного давления, полученные путем сжатия мономолекулярного слоя, образованного на поверхности водного 0,4 М раствора $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Сравнение изотерм сжатия для желатин с разной степенью химической модификации представлено на рис. 3, а параметры изотерм 1–4 приведены в табл. 2. Для характеристики изотерм π – A были выбраны следующие параметры: 1) A_0 – площадь начала подъема изотермы (нм^2 на молекулу); 2) A_h – характеристическая площадь, позволяющая оценить размеры площади, приходящейся на молекулу, при которой монослой переходит в жидкоконденсированное состояние (эта величина обычно находится из экспериментальных данных путем экстраполяции восходящей части изотермы на нулевое давление [10]); 3) двумерное давление π монослоя, сжатого до конечной площади $0,001248 \text{ м}^2$ (константа прибора) или до $64,4 \text{ м}^2/\text{г}$ желатины. Величина площади составляет от 9,7 до $10,5 \text{ нм}^2$ на молекулу (в зависимости от степени модификации желатины); 4) модуль поверхностной упругости ϵ ($\text{мН}/\text{м}$) и изменение поверхностного химического потенциала монослоя γ ($\text{мДж}/\text{г}$). Все эти параметры были определены для разных состояний мономолекулярной пленки: жидкорастянутого (ϵ_1, γ_1) и жидкоконденсированного (ϵ_2, γ_2). Модуль поверхностной упругости рассчитывали для начального (ϵ_1) и конечного (ϵ_2) линейных участков зависимости $\pi = f(\ln A)$ по формуле:

$$\epsilon = \Delta\pi/\Delta\ln A, \quad (3)$$

где A – площадь на молекулу, нм^2

Изменение поверхностного химического потенциала монослоя γ ($\text{Дж}/\text{моль}$) рассчитывали для начального (γ_1) и конечного (γ_2) линейных участков зависимости $\pi = f(\Gamma)$:

$$\gamma = \Delta\pi/\Delta\Gamma, \quad (4)$$

где Γ – поверхностная концентрация желатины, $\text{моль}/\text{м}^2$.

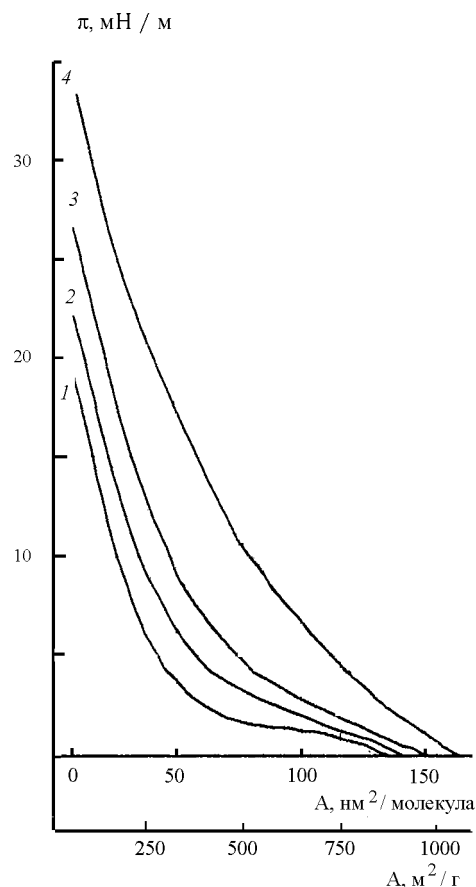


Рис. 3. Влияние степени модификации желатины на изотермы двумерного давления π – A : 1 – немодифицированная желатина; модифицированная желатина со степенью модификации, %: 2 – 10; 3 – 30; 4 – 85 (концентрация сульфата аммония 0,4 моль/л, рН 5,33, $T = 20^\circ$)

Как показано на рис. 3 и в табл. 2, химическая модификация (гидрофобизация) желатины кардинально изменяет вид изотерм сжатия π – A . Площадь начала подъема изотермы смещается в сторону увеличения с повышением степени гидрофобизации со 135,9 (исходная, немодифицированная желатина, рис. 3, кривая 1) до $164,3 \text{ нм}^2/\text{молекула}$

Таблица 2

Параметры изотерм двумерного давления сжатия монослоев желатины в зависимости от степени ее модификации

Степень модификации желатины, %	Площадь начала подъема изотермы A_0 , $\text{нм}^2/\text{молекула}$	Характеристическая площадь A_h , $\text{нм}^2/\text{молекула}$	Двумерное давление π монослоя желатины, сжатого до $64,40 \text{ м}^2/\text{г}$	Модуль поверхностной упругости монослоя, ϵ $\text{мН}/\text{м}$		Изменение поверхностного химического потенциала монослоя γ , $\text{Дж}/\text{моль}$	
				жидкорасширенное состояние монослоя ϵ_1 , $\text{мН}/\text{м}$	жидкоконденсированное состояние монослоя ϵ_2 , $\text{мН}/\text{м}$	жидкорасширенное состояние монослоя γ_1 , $\text{Дж}/\text{моль}$	жидкоконденсированное состояние монослоя γ_2 , $\text{Дж}/\text{моль}$
0	135,9	45,0	18,9	5,48	10,30	295,85	119,31
10	141,4	54,3	22,1	7,98	10,85	412,25	129,01
30	151,2	62,8	26,6	8,64	12,41	577,15	175,57
85	164,3	77,2	33,2	13,29	13,82	1232,87	196,91

(степень модификации 85%, рис. 3, кривая 4). Желатина с наибольшим содержанием ковалентно присоединенных алкильных радикалов сильнее всего снижает поверхностное натяжение (примерно в 2 раза в предельно сжатом монослое). Двумерное давление предельно сжатого (до 0,001248 м²) монослоя желатины в результате модификации увеличивается с 18,9 (0%) до 33,2 мН/м (85%). Это свидетельствует о более сильной дифференциации гидрофильных и гидрофобных сегментов макромолекул модифицированной желатины на границе раздела фаз водный раствор электролита – воздух. Химическая модификация желатины приводит к увеличению модуля поверхностной упругости как для жидкорастянутого, так и для жидкокondensированного состояний мономолекулярной пленки, ϵ_1 увеличивается в ~2,5 раза с 5,48 (0%) до 13,29 мН/м (85%), а ϵ_2 в ~1,5 раза с 10,30 (0%) до 13,82 мН/м (85%). Эти данные свидетельствуют об увеличении межмолекулярного когезионного взаимодействия желатины с увеличением степени химической модификации, особенно в сжатом монослое. Из табл. 2 следует, что изменение поверхностного химического потенциала монослоя γ уменьшается в результате химической модификации, что сильнее проявляется для жидкорастянутого состояния (γ_1), а жидкокondensированное состояние монослоя характеризуется низкими и малоизменяющимися с увеличением степени химической модификации значениями (γ_2) 119–197 Дж/моль. Изменение поверхностного химического потенциала при низких значениях поверхностной концентрации белка и малых значениях π (~1 мН/м) можно рассматривать как адсорбционную активность $G_{\Delta\bar{A}\rightarrow 0}$:

$$G_{\Delta\bar{A}\rightarrow 0} = -\Delta\sigma/\Delta\Gamma = -\pi/\Delta\Gamma = \gamma_1. \quad (5)$$

При увеличении степени модификации желатины с 0 до 85% γ_1 для жидкорастянутого состояния монослоя (при низкой поверхностной концентрации) адсорбционная активность увеличивается следующим образом:

Степень модификации, %	0	10	30	85
Адсорбционная активность G, Дж/моль	295,85	412,25	577,15	1232,87

Следовательно, адсорбционная активность наиболее модифицированной желатины примерно в 4 раза больше, чем исходной немодифицированной желатины. Интересно отметить, что в результате химической модификации на изотерме двумерного давления практически пол-

ностью исчезает область фазового перехода (плато на изотерме), что видно при сравнении кривых 1 и 4, представленных на рис. 3. Как видно из табл. 1, химическая модификация желатины сильно изменяет гидродинамические параметры макромолекул белка. С увеличением степени модификации желатины предельное число вязкости (характеристическая вязкость $[\eta]$) уменьшается с 77 до 26 см³/г, инкремент вязкости ν – со 102,7 до 37,4, осевое соотношение f – с 36 до 17, средневязкостная молекулярная масса M_ζ – со 187 до 55 кДа и гидродинамический объем макромолекул желатины V_0 – с 14,4 до 1,4 см³/моль. Эти данные свидетельствуют о том, что в отличие от исходной желатины макромолекулы модифицированной желатины гораздо менее асимметричны и более компактны. Полипептидные цепи исходной желатины имеют форму эллипсоида вращения с большим осевым соотношением, поэтому для монослоя из таких асимметричных частиц более характерен ориентационный переход (плато на изотерме двумерного давления).

Таким образом, химическое модифицирование желатин эфиром N-гидроксисукцинимидом и лауриловой кислотой позволяет получить по сути новое поверхностно-активное вещество, поверхностное поведение которого зависит от степени химической модификации, обуславливающей изменение гидрофильно-липофильного баланса макромолекул и контролирующей их конформационное состояние в объеме и на границе раздела фаз вода–воздух.

Работа выполнена при поддержке РФФИ
грант № 01-03-32129^a

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kamyshny A., Toledano O., Magdassi S.* // Colloid and Surfaces B: Biointerfaces. 1999. **13**. P. 187.
2. *Toledano O., Magdassi S.* // J. Colloid Interface Sci. 1997. **193**. P. 172.
3. *Toledano O., Magdassi S.* // J. Colloid Interface Sci. 1998. **200**. P. 235.
4. *Измайлова В.Н., Нарышкина Е.П., Ямпольская Г.П.* // Тр. ГосНИИхимфотопроект. М., 1989. С. 22.
5. *Крэг А.* / Аналитические методы белковой химии. М., 1963. С. 233.
6. *Вейс А.* Макромолекулярная химия желатина. М., 1972.
7. *Измайлова В.Н., Ямпольская Г.П., Туловская З.Д., Левачев С.М., Фадеев А.С.* / Методические разработки к спецпрактикуму по коллоидной химии. М., 1999.
8. *Измайлова В.Н., Ямпольская Г.П., Сумм Б.Д.* Поверхностные явления в белковых системах. М., 1988. С. 240.
9. *Фадеев А.С., Левачев С.М., Ямпольская Г.П., Рудой В.М., Измайлова В.Н.* // Коллоидный журнал. 1999. **61**. С. 558.
10. *Ямпольская Г.П., Измайлова В.Н., Разникова Г.П., Нусс П.В.* // Известия Академии наук. Сер. Физическая. 1995. **59**. С. 109.