

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

подпись инициалы, фамилия
« _____ » _____ 20 ____ г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА
010708.62 – биохимическая физика

Возможности использования тройной
системы вода/лаурилсульфат натрия/олеиновая кислота для
микроэмульсионных моделей клетки

Руководители

подпись, дата

должность, ученая степень

П.И. Белобров

подпись, дата

должность, ученая степень

И.А. Денисов

Выпускник

подпись, дата

К.А. Лукьяненко

Красноярск 2012

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	4
1 Фазовые диаграммы	7
1.1 Факторы, определяющие фазовую диаграмму	13
1.1.1 Состав и структура компонент	13
1.1.2 Температура	14
1.1.3 Концентрация солей	17
1.1.4 Гидрофильно—липофильный баланс	18
1.1.5 Общие замечания по разделу	23
1.2 Двумерные и многомерные эмульсии	25
1.3 Методы построения фазовых диаграмм	27
1.3.1 Электрические методы	27
1.3.2 Оптические методы	28
а) Малоугловое рассеяние нейтронов	29
б) Динамическое рассеяние света	29
в) Спин эхо спектроскопия нейтронов	29
1.3.3 Методы криоскальвания	30
а) Криоскальвание	30
б) Электронная микроскопия скальвания	30
в) Техника прямой визуализации сколов	30
1.4 Постановка задачи диссертации	31
2 Материалы и методы	32
2.1 Материалы	32
2.2 Методика проведения эксперимента	34
2.3 Треугольная система координат для фазовых диаграмм	36
2.3.1 Граф. методы выражения состава трехкомпонентной системы	37
2.3.2 Численное выражение состава трехкомпонентной эмульсии	39

2.3.3 Аналитический метод определения количества фаз	40
3 Исследование фазовой диаграммы системы SDS/вода/олеиновая кислота	44
3.1 Предварительные эксперименты	44
3.1.1 Необходимость контроля солености	44
3.1.2 Подготовка к эксперименту со смесями двух масел	45
3.1.3 Важность использования чистых реактивов	46
3.2 Измерение электропроводности	46
3.3 Изменение температуры и состава при выпаривании	47
3.4 Результаты решения задачи выпаривания	47
4 Результаты измерений в избранных точках фазовой диаграммы	52
4.1 Ламеллярная фаза L_{α} (точка 1) и эмульсия м/в (точка 2)	52
4.2 Эмульсия м/в (точка 3)	53
4.3 Эмульсия м/в (точка 4)	53
4.4 Эмульсия м/в (точка 5) + 0,2 массовой доли SDS	54
4.5 Эмульсия м/в (точка 6) + 0,3 массовой доли SDS	54
5 Обсуждение результатов	55
5.1 Обсуждение двухслойной мембраны	55
5.3 Жирные альдегиды и кислоты бактериальных люцифераз	55
5.4 ГЛБ, ТОФ, ТИФ & РИТ	56
5.5 Двуликие и многоликие эмульсии	56
5.6 Липидные плоты и кластеры дифференцировки	57
Заключение	59
Список использованных источников	60

ВВЕДЕНИЕ

В современном мире до сих пор существует множество нерешенных проблем. Среди них следует упомянуть такие как создание микроэмульсионной модели клетки, а также сохранение активности ферментов в искусственных мицеллах. Эти две проблемы являются, по сути, не только глубоко фундаментальными и биофизическими, но также очень взаимосвязанными.

В связи с этим логичным образом выстраивается проблема, ставшая основой для данной работы. Звучит она как получение мицелл с мембраной без липидов для последующей иммобилизации белков в такие мицеллы.

Мицеллы формируют эмульсии и микроэмульсии. Эмульсии в виде красок, масел и прочего знакомы человечеству с незапамятных времен. Микроэмульсии открыли Хор и Шульман в 1943 году [1] и с тех пор исследования в этой области интенсивно развивались. Микроэмульсии – это микрогетерогенная, термодинамически стабильная смесь масла, воды и амфифильных веществ [2].

Сегодня микроэмульсии широко применяются в различных областях промышленности. На основе микрофлюидики и микроэмульсий работают современные секвенаторы, микроэмульсии используются как массовые параллельные нанореакторы, где в каждой нанокляпке идет определенный процесс синтеза или анализа какого-либо объекта.

К традиционным областям применения эмульсий и микроэмульсий стоит отнести, например: добычу нефти, нефтехимию [3], их применяют при ферментативном катализе [4–7], в медицине [8] в качестве средств доставки лекарств [9]. Более того, «начиная с 1982 года и по сей день было проведено много работ по созданию наночастиц из обычных материалов, таких как металлы [10,11], созданию полупроводников [12] и суперпроводников [13,14],

магнитных материалов [15], варисторов [16], латексов [17], используя микроэмульсии в качестве нанореакторов» [9].

Кроме того, использование микроэмульсий может помочь создавать экспериментальные модели клетки. Такие искусственные клетки могут являться полезным модельным объектом для изучения основных клеточных процессов и функционирования молекулярных структур в конденсированном состоянии. Поэтому изучение физико-химических свойств эмульсий и микроэмульсий является перспективным научным направлением.

В данной работе используются три вещества: лаурилсульфат натрия $C_{12}H_{25}SO_4Na$ или додецилсульфат натрия (SDS), олеиновую кислоту и дистиллированную воду. Хотя SDS в больших концентрациях и используется как вещество, разрушающее клеточные мембраны, в небольших количествах он, как было показано [18], может наоборот являться тем веществом, которое стимулирует упорядочение белковых структур. Более того, в другой работе на примере с магнитными частицами было показано [19], что SDS и олеиновая кислота могут формировать двойной слой подобный по структуре мембране из липидов [20]. Эту проблему мы обсудим точно и более полно в последней главе.

Поэтому возможно формирование мицеллы, содержащей двойной слой из SDS и олеиновой кислоты для последующей иммобилизации белка в ней [19,20].

Прежде всего, для нахождения оптимального соотношения между компонентами системы необходимо знание точной фазовой диаграммы. Поэтому целью данной работы является уточнение фазовой диаграммы системы, состоящей из трех веществ: лаурилсульфат натрия, олеиновой кислоты и дистиллированной воды.

Для этого была поставлена задача по измерению электрического сопротивления в разных точках фазовой диаграммы выбранной системы,

используя для перемещения по этой диаграмме метод выпаривания воды из эмульсии.

Исходя из поставленной задачи, структура диссертация такая. Первый раздел посвящен описанию фазовых диаграмм, факторам, влияющим на их изменение, современным направлениям исследования, а также методам их получения и завершается расширенной постановкой задачи. Во втором разделе будут рассмотрены материалы и методы, используемые в данной работе. Третий раздел посвящен исследованию фазовой диаграммы системы SDS/вода/олеиновая кислота, а также в нем представлены результаты проделанной ранее работы. В четвертом разделе представлено обсуждение полученных результатов, а в пятом идет обсуждение с точки зрения дальнейших планов исследований.

1. Фазовые диаграммы

Фазовые диаграммы состоят из различных фаз, формируемых сложными жидкостями. Первую классификацию фаз ввел Винзор в 1948 году в серии своих статей [21]. Схематичное представление этой классификации можно увидеть на рисунке 1.1. Кроме представленных, существуют еще и различные фазы жидких кристаллов.

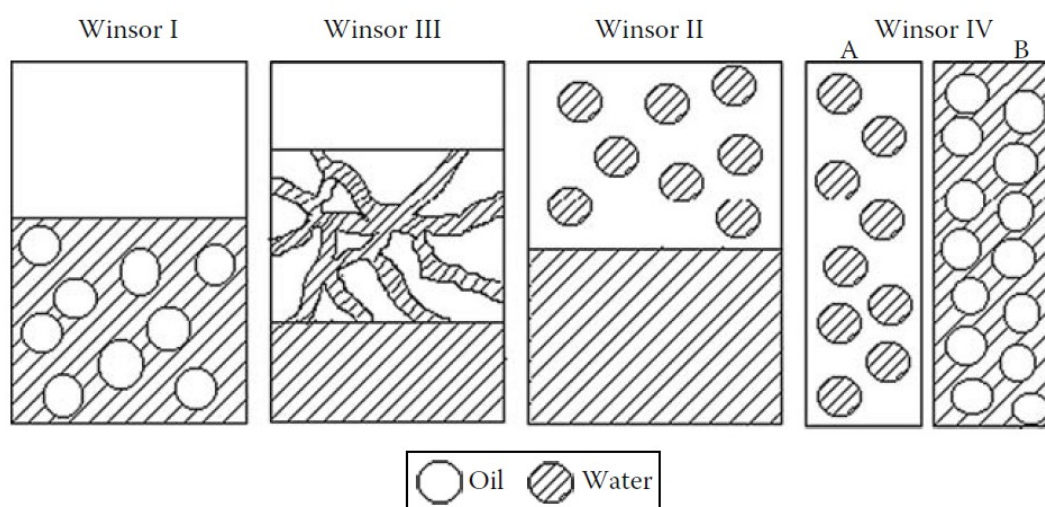


Рисунок 1.1 – Классификация по Винзору. WI – избыточное масло, WII – избыточная вода, WIII – биконтинуальная межфаза (как лапша), WIV – равномерное распределение o/w или w/o эмульсий [2].

Для того чтобы оценить влияние компонентов системы на фазовую диаграмму, необходимо рассмотреть различные варианты системы SDS-вода с различными углеводородными соединениями.

Для начала приведем на рисунке 1.2 фазовую диаграмму системы SDS/олеиновая кислота/вода, заимствованную из статьи [22]. Для удобства мы привели координаты треугольной диаграммы к традиционному виду, где вверху находится ПАВ, слева – вода, справа – масло.

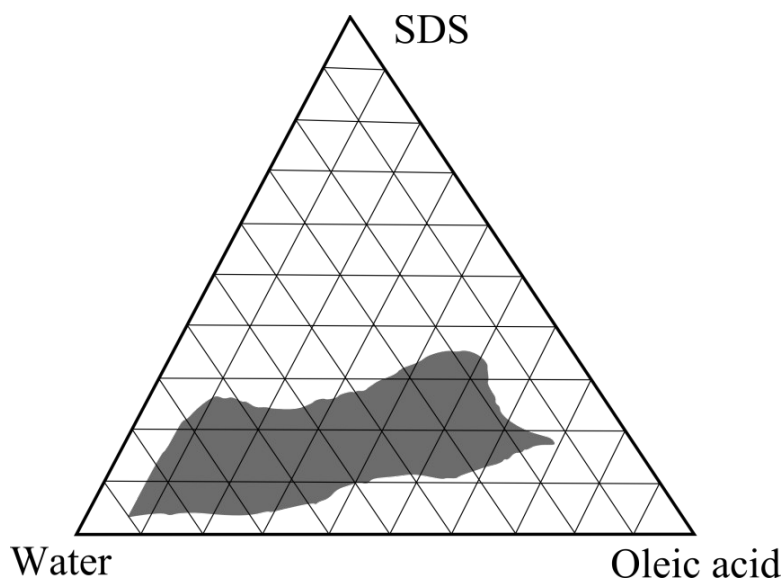


Рисунок 1.2 – Вид фазовой диаграммы SDS/олеиновая кислота/вода с традиционным расположением осей координат [22].

Сравним эту фазовую диаграмму с другой диаграммой из книги [23]. Здесь вместо олеиновой кислоты приведен бутанол (рисунок 1.3, пунктир), а также вместо воды – глицерин и вместо олеиновой кислоты – гексанол (рисунок 1.3, сплошная линия).

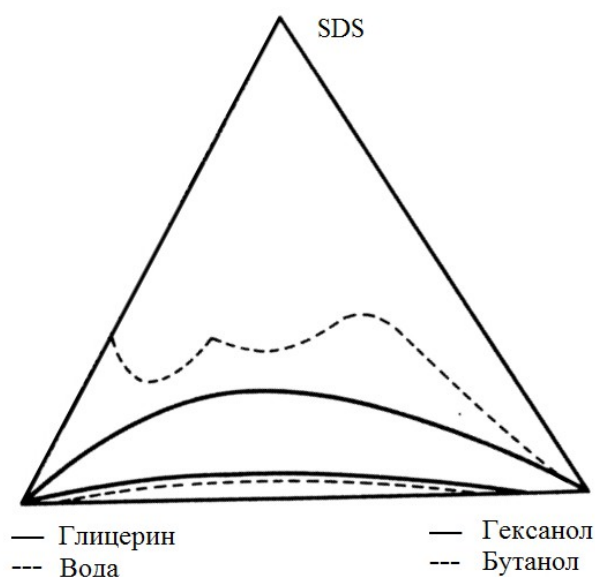
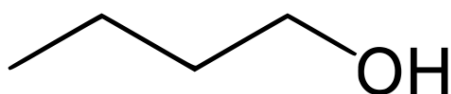


Рисунок 1.3 – Фазовая диаграмма системы SDS/бутанол/вода (пунктирная линия) и SDS/гексанол/глицерин (сплошная), заимствовано из книги [23].

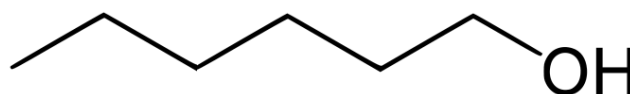
Из сравнения этих двух диаграмм видно, что они имеют примерно одинаковые по форме области фаз. Обе они начинаются ближе к вершине воды и тянутся до масляной вершины, почти не заходя в область высокого содержания ПАВ. Посмотрим на структуру веществ, формирующих эти диаграммы.

На рисунке 1.4 показаны структуры бутанола (а), гексанола (б), глицерина (в) и воды (г). Бутанол и гексанол имеют одинаковую линейную пространственную структуру, не содержат двойных жестких связей, и отличаются только длиной хвоста (у гексанола на два атома углерода больше). Вода и глицерин также имеют схожие пространственные структуры. Поэтому системы SDS/вода/бутанол и SDS/глицерин/гексанол так похожи.

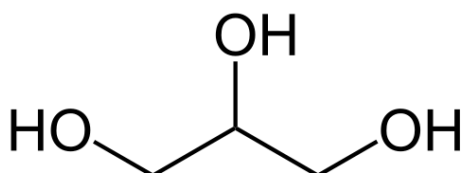
а) Бутанол



б) Гексанол



в) Глицерин



г) Вода

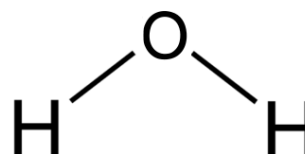


Рисунок 1.4 – Химическая структура веществ: а) Бутанол; б) Гексанол; в) Глицерин; г) Вода.

На рисунке 1.5 приведен вид олеиновой кислоты, ее ближайших соседей по длине углеводородной цепи, а также SDS, который является типичным компонентом модельных фазовых диаграмм. Видно, что олеиновая кислота

имеет отличительную черту в виде одной двойной связи, благодаря которой ее пространственная структура имеет прямоугольный вид.

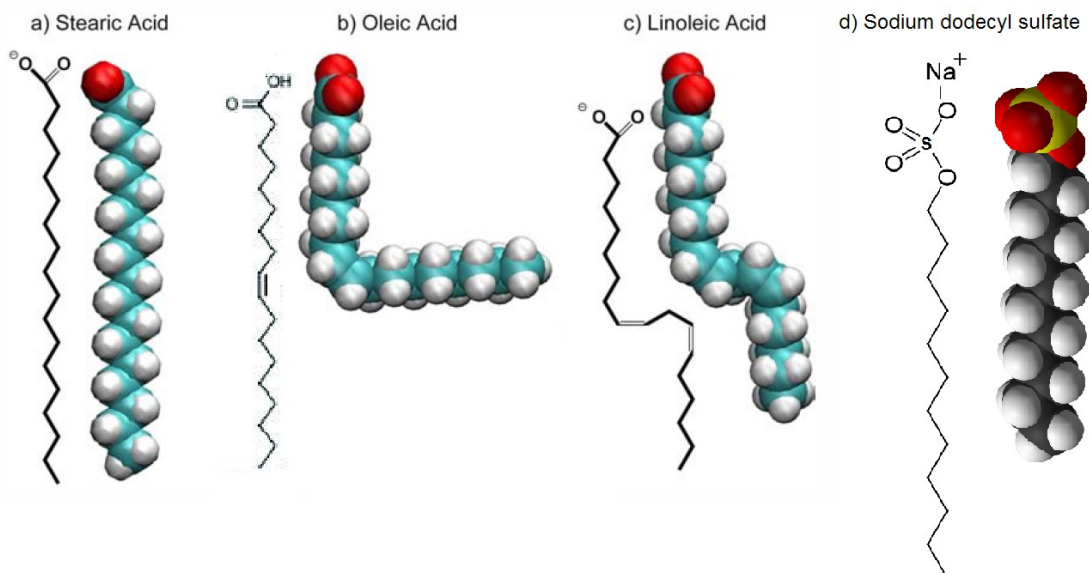


Рисунок 1.5 – Химическая структура веществ и их пространственная модель. а) насыщенная стеариновая кислота; б) мононенасыщенная олеиновая кислота с одной двойной связью; в) полиненасыщенная линолевая кислота с двумя двойными связями; г) химическая структура и пространственная модель додецилсульфата натрия. Рисунок заимствован из [24].

Олеиновая кислота частично похожа на SDS, они имеют близкие по количеству атомов углерода хвосты. Такая схожесть повышает их сродство и, следовательно, взаимную растворимость. SDS относится к группе анионных (отрицательно заряженных) поверхностно-активных веществ, также хорошо растворим в воде.

В зависимости от температуры SDS может формировать различные фазовые состояния (жидкокристаллические или мицеллярные), как показано на рисунке 1.6. При высокой, а также средней температуре и концентрации будут образовываться различные жидкокристаллические фазы, при невысоких

температурах и масс.% SDS, не превышающем ~30%, будут формироваться мицеллы.

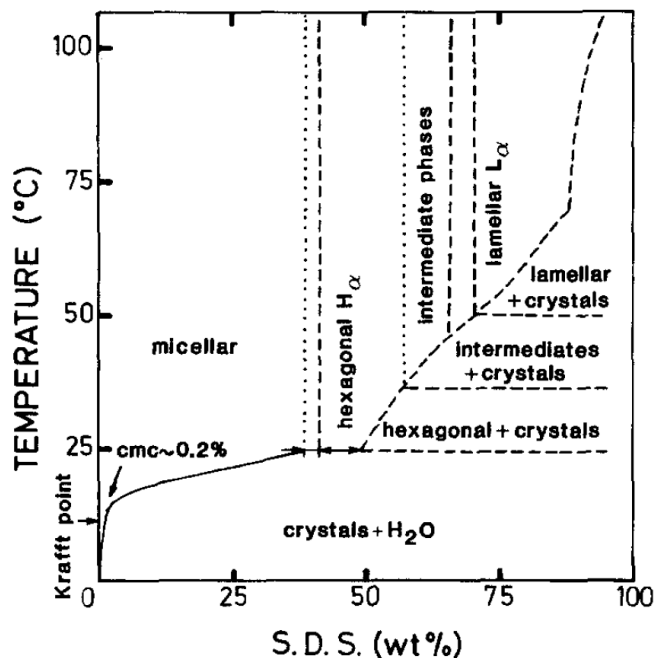


Рисунок 1.6 – Схематическая фазовая диаграмма системы SDS – вода [25].

Фазовая диаграмма системы лаурат натрия/олеиновая кислота/вода, представленная на рисунке 1.2, была построена при температуре 30°C в работе [22]. При такой температуре можно предположить, что на фазовой может быть только небольшое количество гексагональной H_{α} фазы.

На рисунке 1.7, заимствованном из книги [26], представлена система ПАВ/вода/масло. Вода и масло практически идентичны тому, что мы рассматривали ранее, отличается только ПАВ, а также присутствует небольшая добавка в виде аминотетрапропанола, структура которой представлена на рисунке 1.8, в. Вместо SDS здесь смесь из α -пинена и α -терпинеола, структура которых приведена на рисунке 1.8, а, б.

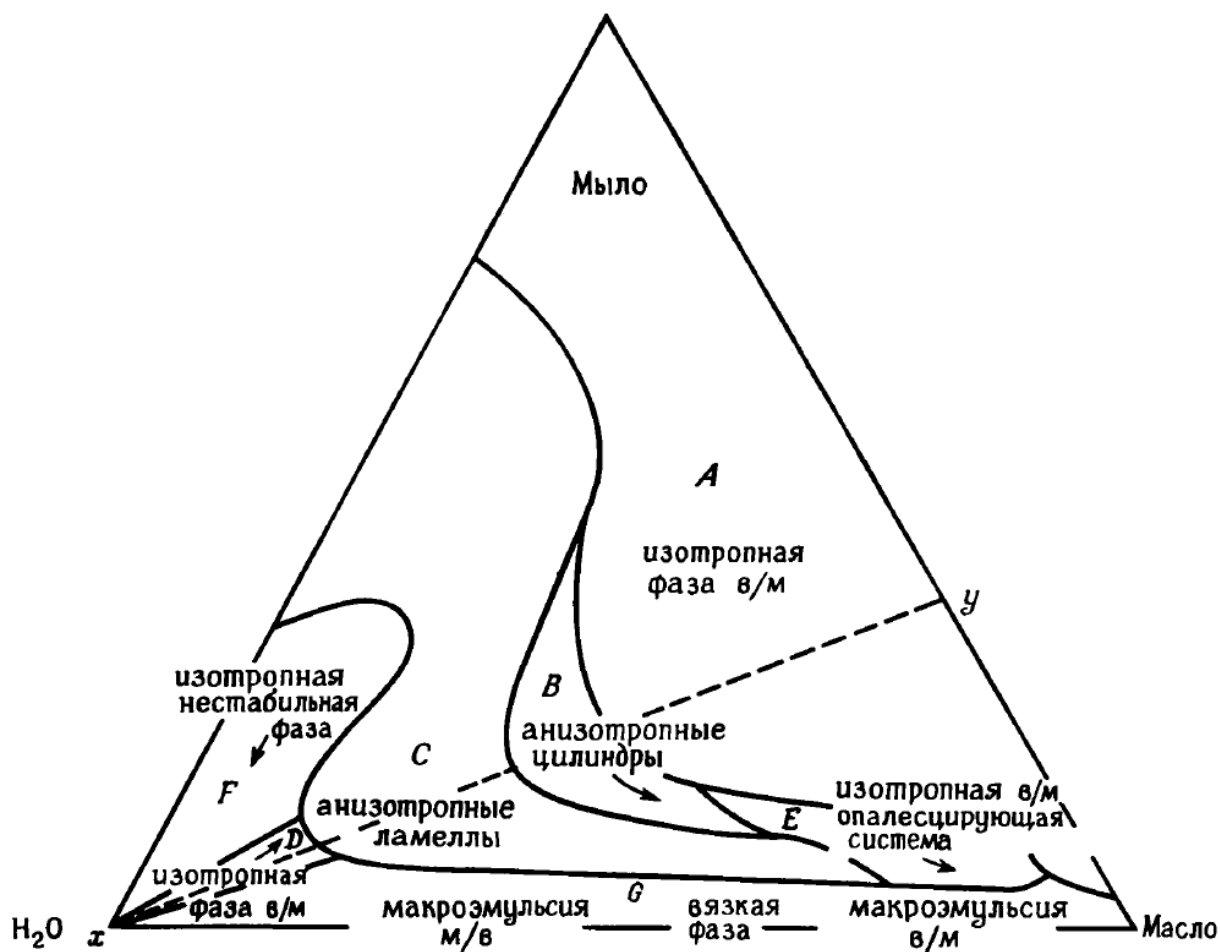
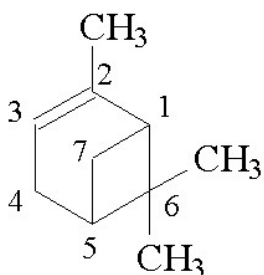


Рисунок 1.7 – Фазовая диаграмма системы вода – масло (3 части альфа-пинена и 1 часть -терпинеола) – мыло (4 г олеиновой кислоты + 5 г АМП). Представлены 9 областей.

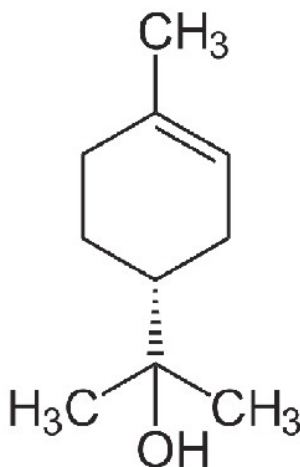
Заимствовано из [26].

Видно, что структура поверхностно-активного вещества меняет очень многое. Вместо двухфазной диаграммы, как в случае систем, представленных на рисунках 1.2 и 1.3, в данном случае присутствуют области с различными фазами: жидкокристаллическая (B, C), микроэмульсия м/в (D), неустойчивая эмульсия м/в (F и G).

а) α -пинен



б) α -терпинеол



в) Аминометил пропанол

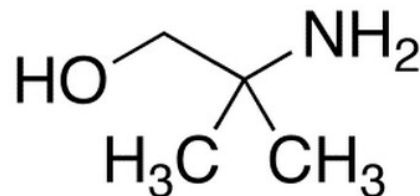


Рисунок 1.8 – Химическая структура веществ: а) альфа-пинен; б) альфа-терпинеол; в) аминометил пропанол (АМП).

Из рисунка 1.8 видно, что α -пинен и α -терпинеол имеют схожие циклические структуры, следовательно они хорошо растворяются друг в друге.

В дальнейшем мы рассмотрим различные факторы, которые влияют на формирование фазовой диаграммы.

1.1 Факторы, влияющие на изменение фазовой диаграммы

В данном разделе мы рассмотрим причины изменения вида фазовой диаграммы.

1.1.1 Состав и структура компонент

В первую очередь стоит отметить изменение пространственной структуры самого ПАВ. Ранее мы уже видели, как изменение длины углеводородной цепи и количества двойных связей в масле (рисунки 1.2 и 1.3)

способно изменить вид фазовой диаграммы. А используемые в диаграмме на рисунке 1.7 α -пинен и α -терпинеол в отличие от SDS обладают циклическими структурами, что уже очень сильно меняет структуру фазовой диаграммы.

На солубилизацию также сильно влияет тип углеводорода. На рисунке 1.9 приведен пример замены одного типа углеводорода на другой в присутствии неионогенного ПАВ. При этом L_2 и N фазы резко увеличиваются в объеме, а фаза M практически исчезает.

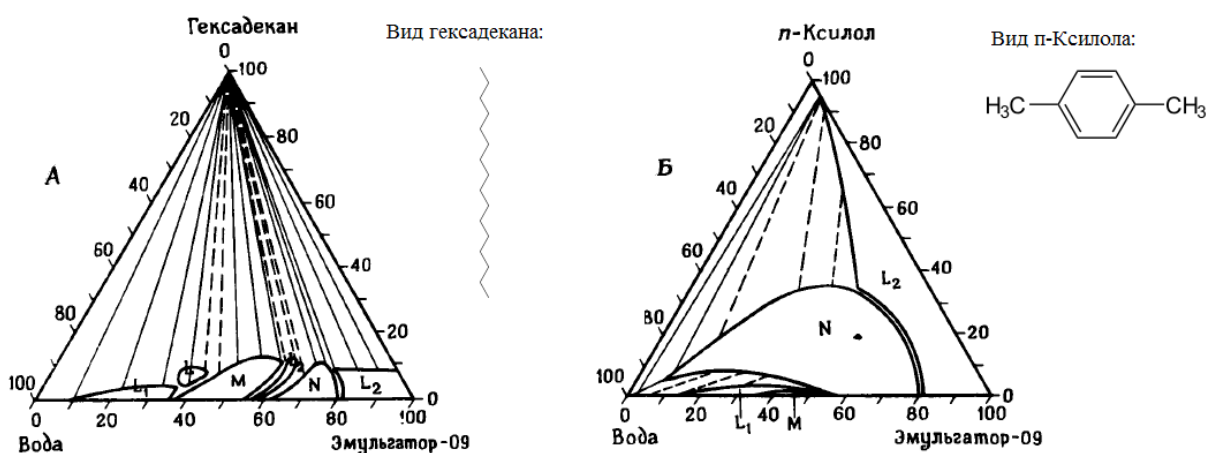


Рисунок 1.9 – Влияние замены алифатического углеводорода (А) на ароматический (Б) на изменение фазовых областей в системе вода – неионогенное ПАВ – углеводород.

Заимствовано из [26] и доработано.

1.1.2 Температура

Другой немаловажной характеристикой, влияющей на вид фазовой диаграммы, является температура. Фазовые диаграммы, в зависимости от температуры, могут меняться очень значительно. На рисунках 1.10 и 1.11 показан пример зависимости вида фазовой диаграммы от различных температур.

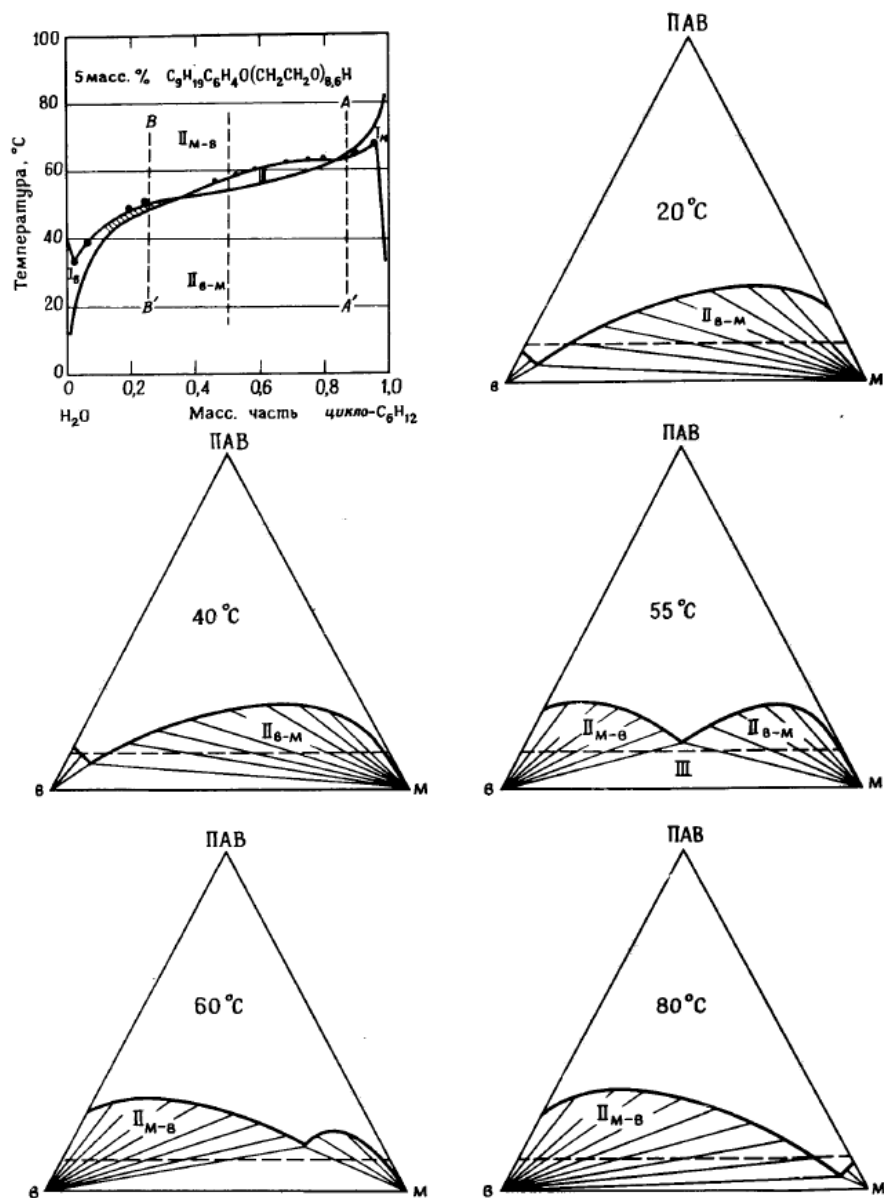


Рисунок 1.10 – Зависимость состава неионных микроэмульсий от температуры по работе [27]. Нижние и верхние точки на графике зависимости состава от температуры системы соответствуют различным соотношениям вода/циклогексан при постоянном содержании (5 масс.%) нонилфенола (8,6 групп окисиэтилена). I_B – изолированная фаза (м/в); I_M – изолированная фаза (в/м); II_{B-M} – двухфазная система (мицеллярная фаза в равновесии с избытком воды); III – трехфазная система (мицеллярная фаза в равновесии с водой и маслом). Тройные диаграммы иллюстрируют изменение формы фазовых областей и смещение инвариантной точки при изменении температуры.

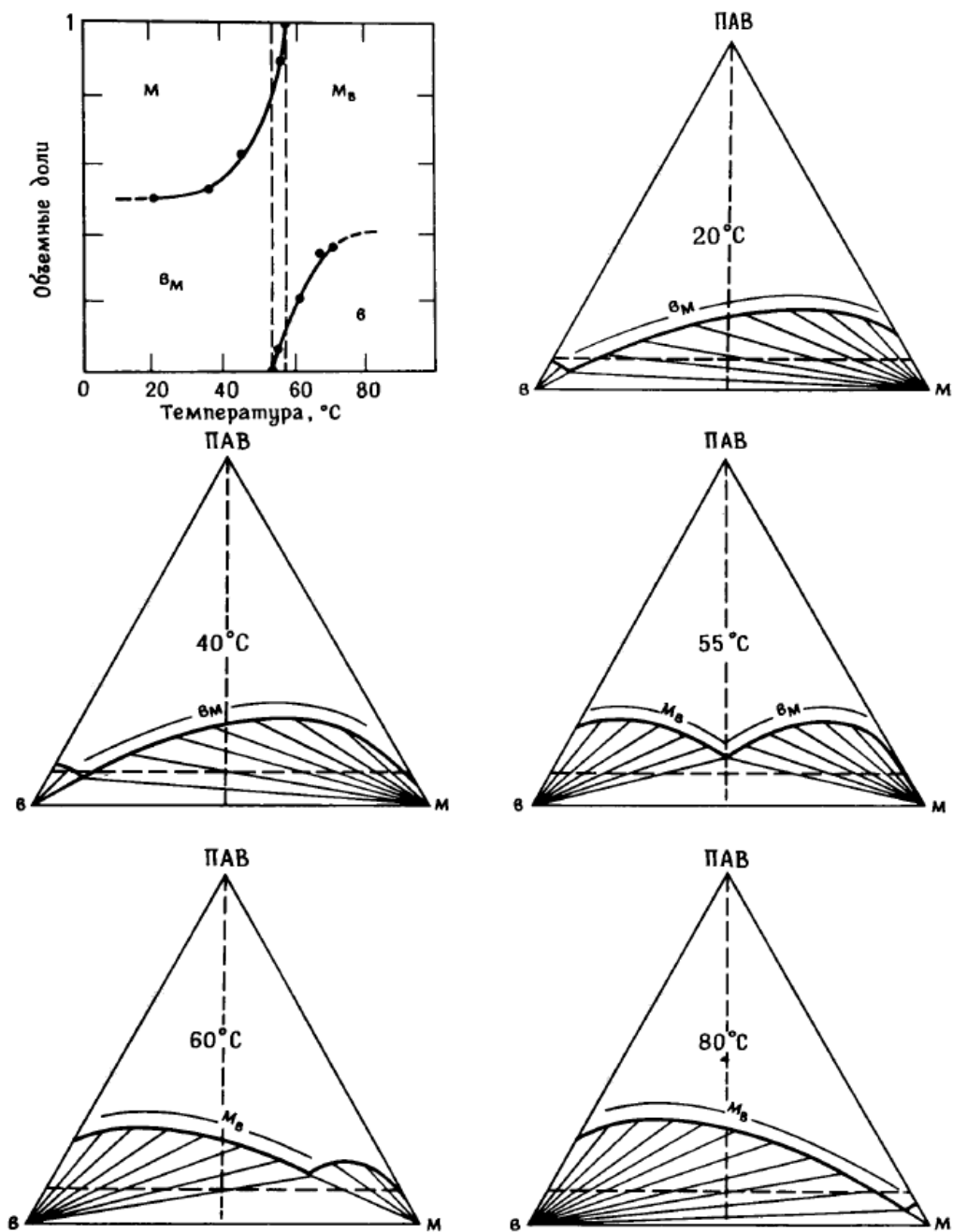


Рисунок 1.11 – График зависимости относительных объемов фаз от температуры. Зависимость объемной доли от температуры в равновесных системах (по работе [28]).
 Разделение фаз происходит при отношении вода/ циклогексан 1:1 при содержании этоксилированного нонилфенола 5 масс.% (8,6 ЭО). v_M – водно-непрерывная мицеллярная фаза в равновесии с избытком воды (в). Тройные диаграммы иллюстрируют изменение формы фазовых областей и смещение инвариантной точки при изменении температуры.

Займствовано из [26].

1.1.3 Концентрация солей

Еще одной важной характеристикой, которая влияет на вид фазовой диаграммы, является концентрация солей в эмульсии. На рисунке 1.12 приведен пример изменения растворимости в зависимости от концентрации солей. Видно, что по мере увеличения концентрации NaCl диаграмма все больше меняет свой вид. Область растворимости все больше смещается от пентанола к воде.

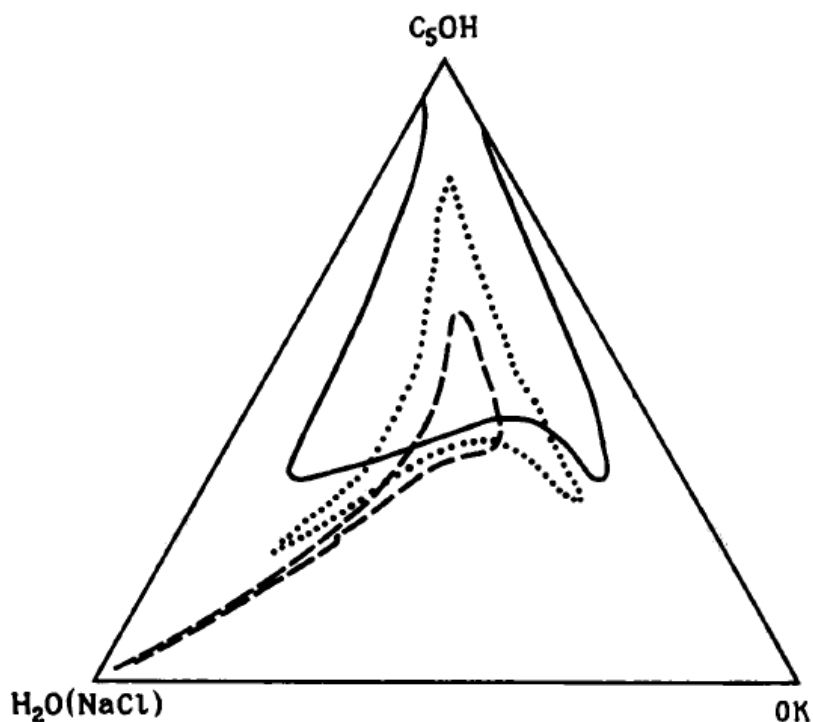


Рисунок 1.12 – Области растворимости для трех структурообразующих элементов при различной концентрации NaCl в воде.

_____ в отсутствие NaCl; 0,5M NaCl; _ _ _ _ 1M NaCl

Заимствовано из [26].

1.1.4 Гидрофильно-липофильный баланс

Гидрофильно — липофильный баланс (далее — ГЛБ) относится к таким характеристикам амфифильных молекул и эмульгаторов, для которых достаточно сложно определить количественную меру.

Для определения пузырьков молекул вплоть до сегодняшнего времени в основном пользуются экспериментальными данными, среди теоретических подходов стоит отметить использование таких параметров как гидрофильно-липофильный баланс и параметр упаковки Израелашвили-Митчелла-Нинэма (IMN) [29].

Метод гидрофильно-липофильного баланса относится к области, изучающей количественные взаимоотношения структуры-свойства ПАВ. Подробно о последних достижениях рассказано в обзорной статье [31].

Гидрофильно-липофильный баланс — это отношение относительного веса полярных и неполярных частей амфифильного вещества.

Параметр упаковки Израелашвили-Митчелла-Нинэма имеет вид

$$IMN = V(A_0 L_c)^{-1}, \quad (1)$$

где V — молекулярный объем, A_0 — оптимальная область поверхности раздела фаз углеводород-вода, L_c — наибольший диапазон в жидкой молекулярной цепи агрегата.

Зависимость между этими двумя параметрами представлена на рисунке 1.13.

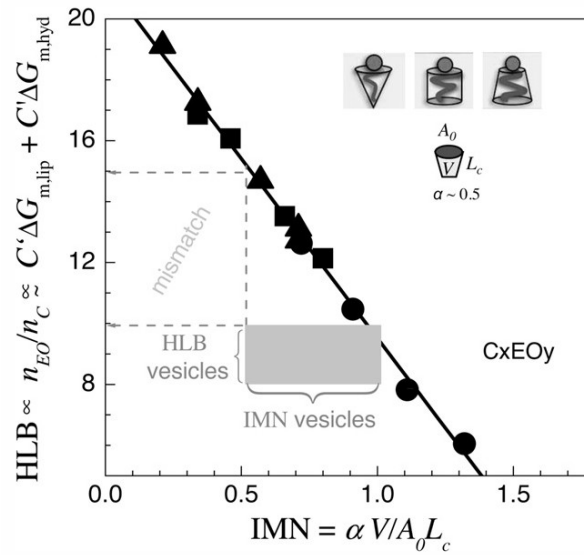


Рисунок 1.13 – Корреляция между показателем гидрофильно—липофильного баланса, ГЛБ, и так называемым параметром Израелашвили-Митчелла-Нинэма, ИМН. Заимствовано из [29].

Бэчер обнаружил [32] зависимость между ГЛБ и ИМН, которая имеет вид

$$10 \text{ IMN} = 20 - \text{HLB} \equiv \text{LHB}. \quad (2)$$

Математически выражение для ГЛБ выглядит следующим образом:

$$\text{HLB} = 20 \sum_{chains=1}^{N \text{ chains}} \left\{ f_{chains} \left[1 - \frac{(M_{acid,r} - (chains - 1)M_{water,r})}{M_{chains,r}} \right] \right\}, \quad (3)$$

где f_{chains} — относительная доля, $M_{i,r}$ — относительная молекулярная масса i вещества. Такое выражение охватывает как одиночные, так и двойные цепи амфифильного вещества.

Применительно к двумерным мицеллам НЛВ получает дальнейшее развитие в виде концепции баланса Януса, который описывает гидрофильно—липофильный баланс анизотропных частиц [33]. Баланс Януса — это безразмерное количество работы по переносу коллоидных амфифильных

частиц из границы раздела фаз масло-вода в масляную фазу, нормированное на работу, необходимую для переноса этих частиц в водную фазу [34]. Он важен при определении стабильности и типов эмульсий, когда они выступают в качестве твердых ПАВ [35].

Последний фактор, которого мы коснемся – это область температуры ГЛБ, гидрофильно–липофильного баланса. Этот порог существенно влияет на физические условия растворимости эмульсии. Приведем пример из книги [26]. «Ниже области температуры ГЛБ (ТОФ) неионные ПАВ типа алкильного эфира полиоксиэтиленгликоля преимущественно растворяется в воде, а выше этой температуры – в углеводороде. В области температур, близких к температуре ГЛБ, очень часто появляется новая фаза. Эта фаза состоит из ПАВ и может находиться в равновесии с фазами одновременно воды и масла».

Проиллюстрируем рисунками 1.14, 1.15 и 1.16 условия, которые можно наблюдать при температурах в области температуры ГЛБ.

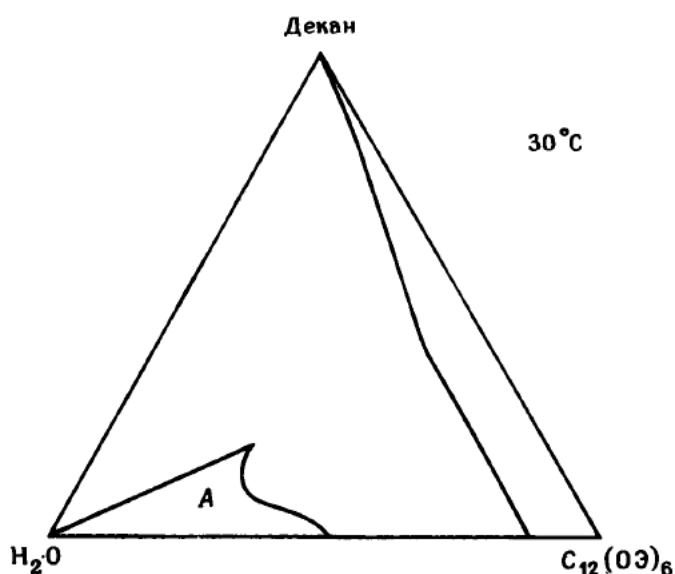


Рисунок 1.14 – При температурах ниже, чем температура ГЛБ, [C₁₂(ОЭ)₆] – додециловый эфир гексаоксиэтилена растворяется в воде, образуя прямые мицеллы, которые солюбилизируют углеводород (А). Растворимость воды в растворе декан/ПАВ пропорциональна количеству эмульгатора. Заимствовано из [26].

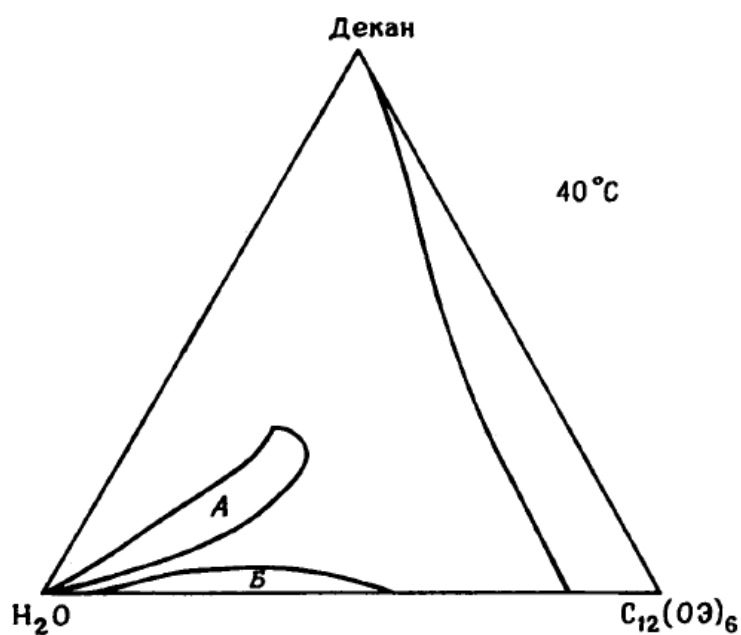


Рисунок 1.15 – При приближении температуры к области ГЛБ из водных мицеллярных растворов образуются две отдельные области растворимости (А) и (Б).
 Заимствовано из [26].

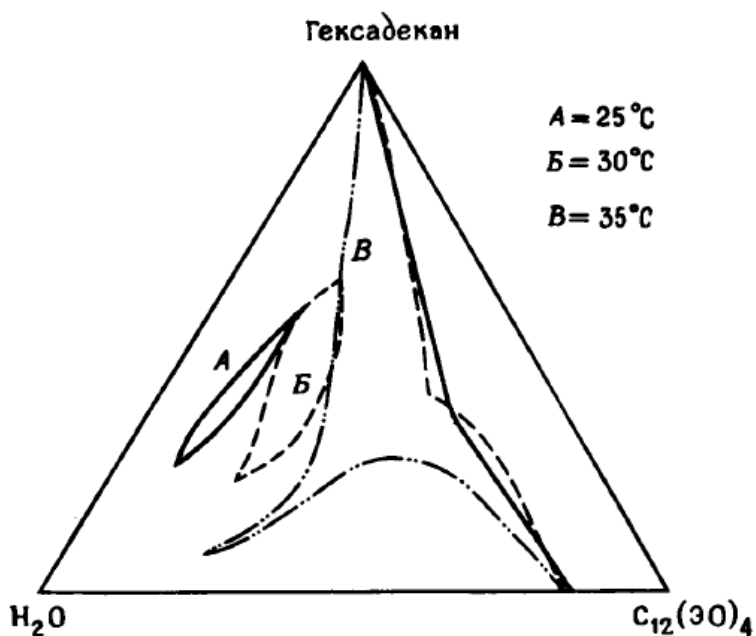


Рисунок 1.16 – При температурах выше температуры ГЛБ фаза ПАВ (А) на диаграмме сначала смещается в область более высоких концентраций эмульгатора, а затем наблюдается слияние эмульгатора и углеводорода. Заимствовано из [26].

Значения ГЛБ для молекул ПАВ, могут быть, в частности, определены аддитивным сложением эмпирически найденных так называемых групповых чисел B_i всех групп, составляющих молекулу [36]:

$$ГЛБ = \sum B_i + 7 \quad (4)$$

В таблице 1 приведены примеры соотношения между различными группами и групповыми числами, а в таблице 2 можно увидеть как сильно изменяется значение ГЛБ при различных модификациях молекулы олеиновой кислоты.

Таблица 1 — Значения групповых чисел.

Группа	Групповое число	Группа	Групповое число
-SO ₄ Na	38,7	-ОН	1,9
-COOK	21,1	-О-	1,3
-COONa	19,1	-(C ₂ H ₄ O)-	0,33
≡N	9,4	-(C ₃ H ₆ O)-	-0,15
-COOH	2,1	=CH-, -CH ₂ -, -CH ₃	-0,475

Таблица 2 — Гидрофильно—липофильный баланс некоторых ПАВ.

ПАВ	ГЛБ
Лаурилсульфат натрия	40
Олеат калия	20
Олеат натрия	18
Бутанол	7,0
Моностеарат глицерина	3,8
Олеиновая кислота	1,0

1.1.5 Общие замечания по разделу

Мы рассмотрели основные факторы, которые влияют на изменение фазовой диаграммы. Видно, что незначительные изменения этих факторов могут очень сильно изменить вид диаграммы, поэтому в экспериментах надо тщательно контролировать эти параметры.

В заключение приведем рисунок 1.17, который наглядно демонстрирует все вышесказанное, за исключением температуры ГЛБ. На нем видно, что по мере увеличения полярной головки и растворимости в воде мы будем получать преимущественно эмульсии по типу м/в, а по мере увеличения длины углеводородного хвоста и растворимости в масле – эмульсии по типу в/м. Переход от м/в к в/м происходит при увеличении температуры, концентрации соли и ароматичности соединений. Данные наблюдения относятся к идеализированным тройным диаграммам.

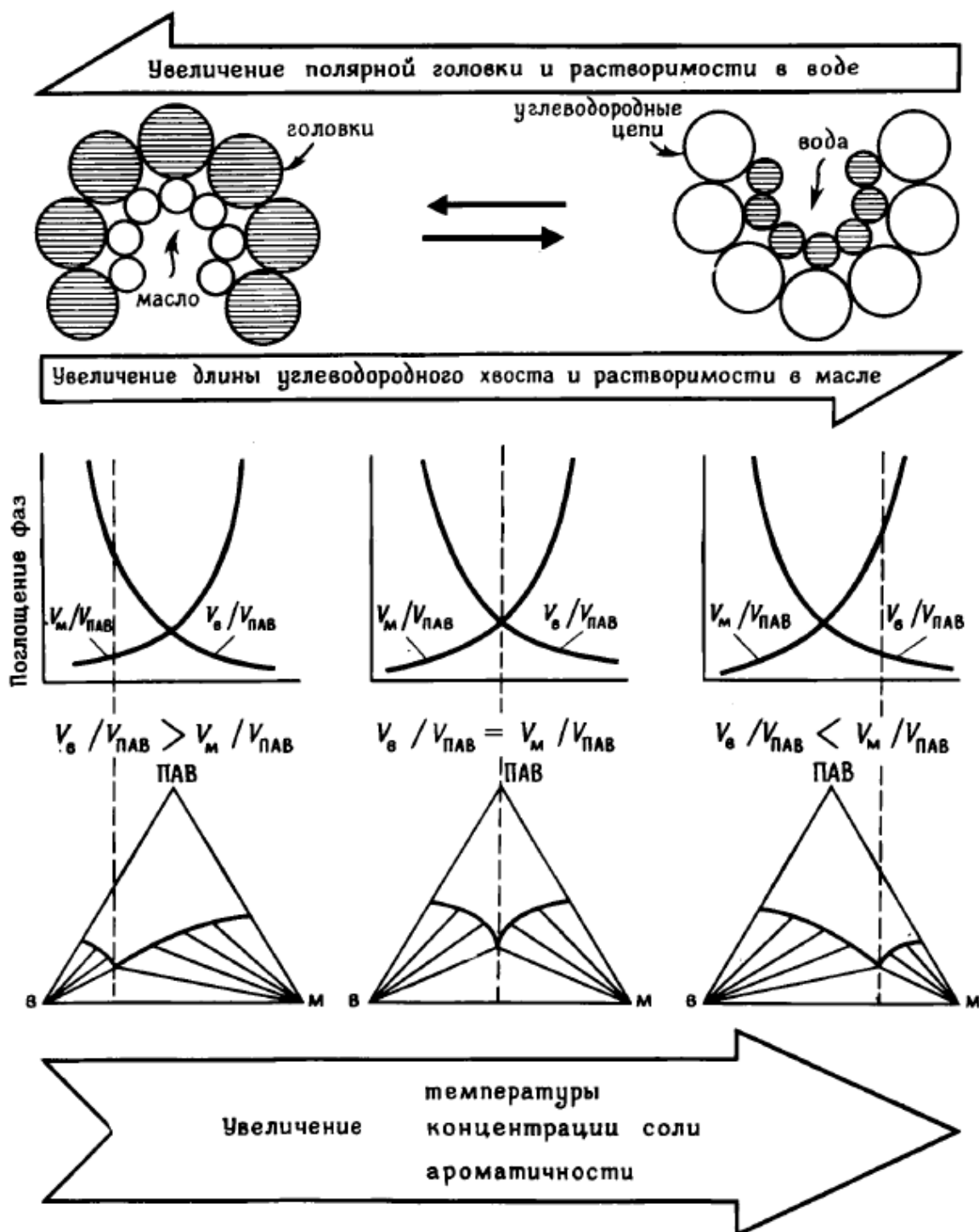


Рисунок 1.17 – Теория микроэмульсий. Корреляция мицеллярной модели с изменением поглощения воды и масла и изменением характера идеализованных тройных диаграмм. Липофильность возрастает слева направо. Заимствовано из [26].

1.2 Двуликие и многоликие эмульсии

Помимо обычных эмульсий и микроэмульсий в последние 20 лет проводятся исследования так называемых двуликих эмульсий. Свое название они получили от римского Бога Двуликого Януса (Janus emulsions). В основе этих эмульсий два несмешивающихся между собой масла, например, оливковое и силиконовое.

«Многоликие эмульсии полезны в ряде приложений пищевой, фармацевтической и косметической промышленности. В результате научный интерес к их свойствам в последние годы сильно возрос» [37].

Существуют различные методики получения двуликих эмульсий: метод двойного вращающегося диска; технология на основе топологической селективной модификации поверхности, способ на основе контролируемого фазового разделения, технология на основе управляемого зарождения поверхности [30].

Недавно был опубликован новый способ получения двуликих эмульсий с высоким внутренним отношением фазового объема [37, 38]. Также были исследованы дестабилизирующие механизмы в таких эмульсиях [39]. Новый способ получения включает в себя использование двух обычно не смешивающихся масел, которые эмульгируются с помощью перемешивателя. Типичный вид многоликих эмульсий представлен на рисунке 1.18.

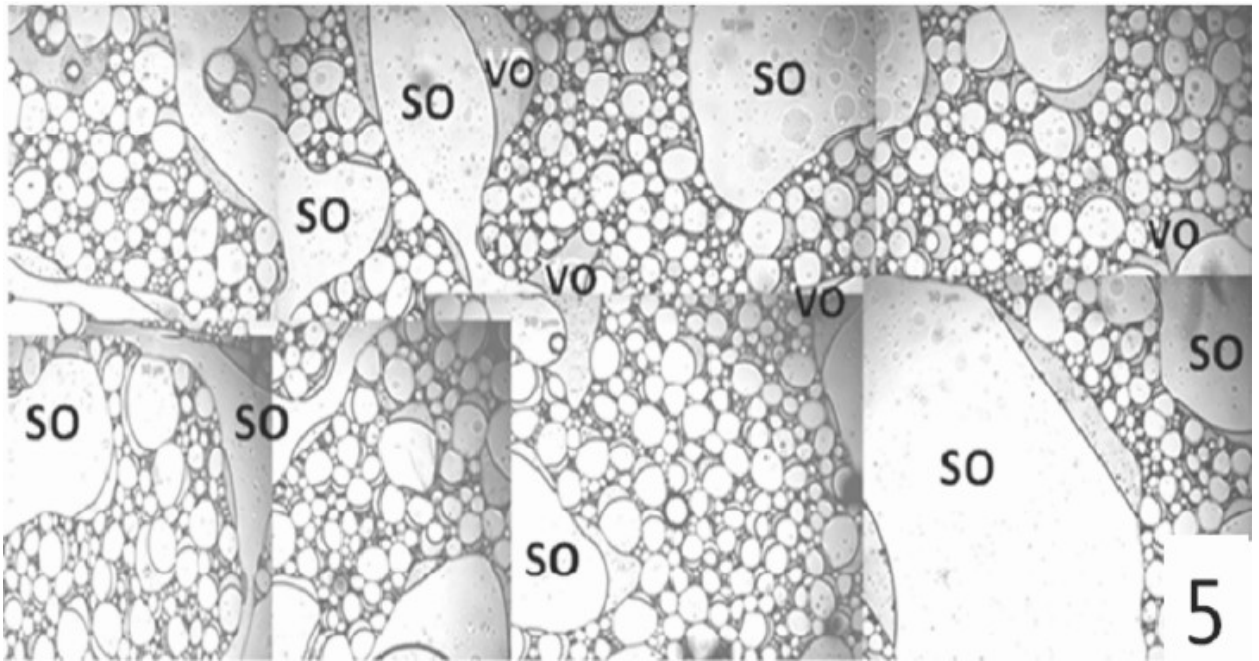
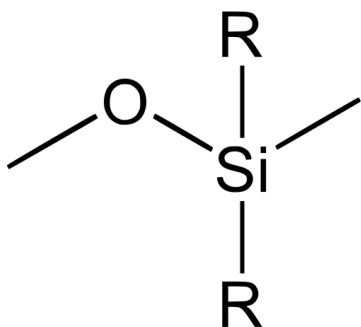


Рисунок 1.18 – Вид многоликих эмульсий. SO – силиконовое масло, VO – растительное масло. Заимствовано из [37].

Один из ключевых моментов в новом методе получения двуликих эмульсий – это использование двух обычно несмешивающихся масел: растительного и силиконового. На рисунке 1.19 приведены их структуры.

а) Фрагмент цепи силиконового масла



б) Растительное масло

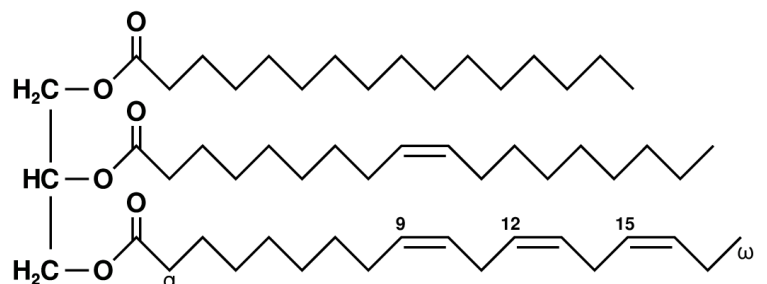


Рисунок 1.19 – Структура силиконового масла (а) и растительного масла (триглицерида) (б)

Растительное масло состоит из триглицеридов. Силиконовое масло представляет собой соединение кремния и кислорода с боковыми органическими радикалами. Таким образом, вместо традиционной углеродной цепи в силиконовом масле цепь из повторяющихся (...Si–O–Si–O...) с отходящими от кремния боковыми радикалами.

Предположительно, именно из-за такой сильной разницы в структуре эти два масла друг с другом в обычных условиях не смешиваются. Сделать это можно только в присутствии поверхностно-активного вещества.

1.3 Методы построения фазовых диаграмм

Для правильного понимания и интерпретации результатов экспериментов необходимо понять, как строят фазовые диаграммы.

Рассмотрим различные методы того, как ее получают. В этом разделе будут затронуты электрические и оптические методы, поскольку они были использованы в дальнейших экспериментах.

1.3.1 Электрические методы

На границах раздела фаз существует разница электрических потенциалов. Изменение электрического сопротивления является одним из показателей, по которым можно судить о том, что в эмульсии происходят определенные превращения фаз.

Традиционным способом измерения электрического сопротивления является измерение при помощи электродов [40,41]. На рисунке 1.20 приведен вид обычного электрода.

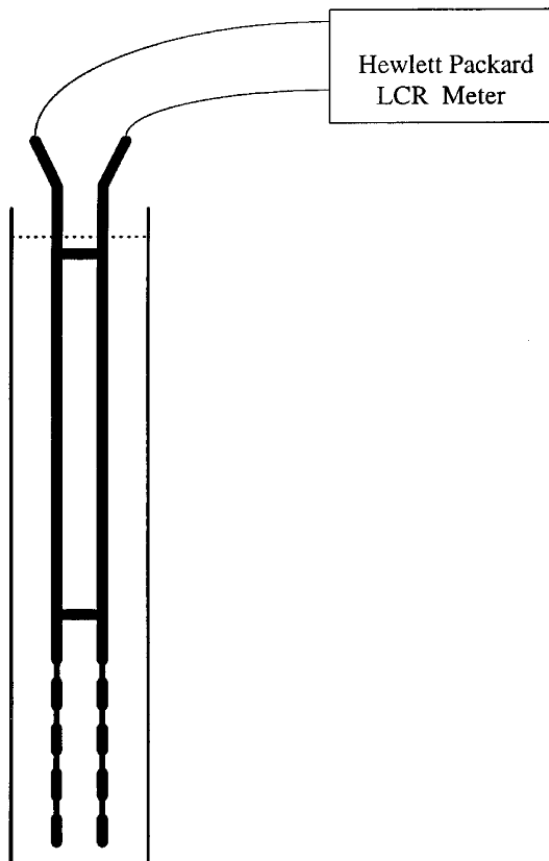


Рисунок 1.20 – Схематическое изображение измерительного электрода [40].

1.3.2 Оптические методы

Оптические методы довольно широки в своем разнообразии. Мы рассмотрим лишь некоторые из них, которые наиболее часто встречаются в литературе [2,8].

В эмульсиях могут формироваться различные по форме микроструктуры, и каждая из них будет преломлять или рассеивать свет по-разному. В связи с этим широкое распространение нашли методы рассеяния, с помощью которых можно определять форму и размер капель.

а) Малоугловое рассеивание нейтронов

Малоугловое нейтронное рассеивание (Small angle neutron scattering, SANS) позволяет измерять форму, размер и полидисперсность капель или кристаллов в эмульсии.

SANS очень похоже на SAXS – малоугловое рассеяние рентгеновских лучей, но в отличие от него лучше взаимодействует с водородом. Во время SANS испускается пучок нейтронов, которые направляются на образец. Нейтроны хорошо взаимодействуют со всеми атомами в веществе.

б) Динамическое рассеяние света

Динамическое рассеяние света (dynamic light scattering, DLS) также известно как фотонная корреляционная спектроскопия (photon correlation spectroscopy, PCS) [42–44] позволяет изучать трансляционную диффузию. Также может определять размер капель в образце.

Эта техника отличается от SANS тем, что фиксирует при прохождении сквозь вещество изменение частоты, интенсивности и направления движения света, прошедшего через среду движущихся частиц.

в) Спин-эхо спектроскопия нейтронов

Нейтронная спин эхо спектроскопия (neutron spin-echo spectroscopy, NSE) позволяет наблюдать за изменением формы капель.

NSE представляет собой разновидность неэластичного нейтронного рассеяния. От других техник нейтронного рассеяния отличается тем, что различает изменение кинетической энергии при неэластичном столкновении нейтронов с атомами образца.

1.3.3 Методы криоскальвания

Также эффективным методом для изучения структуры капель может являться метод криоскальвания.

а) Криоскальвание

Эта техника является разновидностью просвечивающей электронной микроскопии (ТЕМ). В основе ТЕМ лежит принцип направления пучка электронов на очень тонкий слой образца. В Cryo-ТЕМ образец сначала размазывают по тонкой пленке, а затем очень быстро замораживают [45–48].

б) Электронная микроскопия скальвания

«В электронной микроскопии скальвания (FFEM – freeze-fracture electron microscopy) образцы быстро замораживают, разламывают, затемняют, и реплицируют при помощи тонкой металлической пленки. Металлическую копию поверхности излома, морфология которой определяется микроструктурой образца, затем рассматривается на просвечивающем электронном микроскопе» [49].

От Cryo-ТЕМ отличается тем, что замороженные образцы подвергаются разрушению.

в) Техника прямой визуализации сколов

Техника прямой визуализации сколов (freeze-fracture direct imaging technique, cryo-FFDI) является комбинацией двух методов: FFEM и Cryo-ТЕМ, сочетая элементы скальвания и прямой визуализации [50].

По сравнению с традиционными техниками, cryo-FFDI имеет меньше артефактов на картинке, а также позволяет изучать образцы с большим содержанием масла.

1.4 Постановка задач диссертации

Исходя из проведенного анализа, мы решили поставить следующие цели и задачи.

Целью данной работы является изучение особенностей фазовой диаграммы системы SDS/вода/олеиновая кислота при температуре 30С.

Для этого были поставлены следующие задачи:

1) Проанализировать имеющиеся данные по фазовым диаграммам системы SDS–вода и выявить их закономерности;

Анализ данных позволит разобраться в вопросах построения фазовых диаграмм, а также понять зависимость вида диаграмм от различных параметров. Понимание процессов, происходящих в сложных системах типа эмульсий позволит успешнее решать экспериментаторские задачи.

2) Измерить электрическое сопротивление в разных точках фазовой диаграммы выбранной системы, используя для перемещения по этой диаграмме метод выпаривания воды из эмульсии;

Помимо самого измерения, это позволит овладеть навыками приготовления эмульсий, правильного обращения с фазовой диаграммой, а также позволит овладеть методами экспериментального измерения различных параметров эмульсий.

2. Материалы и методы

В этой главе будут рассмотрены материалы и методы проведения эксперимента. Кроме того, будут рассмотрены правила работы с фазовыми диаграммами.

2.1 Материалы

Для решения поставленных задач была использована система со следующим составом:

- Дистиллированная вода (сопротивление — 115 кОМ);
- Олеиновая кислота, ч (ТУ 6-09-5290-86).
- Додecil сульфат натрия SDS 4X Ultrapure производства GERBU Biotechnik GmbH, степень очистки 99,8%;

Порядок добавления компонентов в пробирку:

- 1) ПАВ;
- 2) Вода;
- 3) Олеиновая кислота.

Общий объем одной пробирки – 10 мл.

Фотографии эмульсий были получены при помощи Axio Imager производства Carl Zeiss без использования фильтров.

Электрическое сопротивление измерялось при помощи электродов, подсоединенных к мультиметру M-831 производства Мастер professional.

Процесс выпаривания осуществлялся двумя способами:

Первый способ: с использованием водяной бани WiseBath производства фирмы Wisd laboratory instruments;

Второй способ: с использованием установки на основе нагревательной плиты RET basic производства фирмы ИКА.

Установка, представленная на рисунке 2.1, использовалась только для выпаривания воды в точке 3. Дальнейшие эксперименты проводились с использованием водяной бани. Это связано с тем, что водяная баня обеспечивала более точный контроль за температурой, при которой происходило выпаривание.

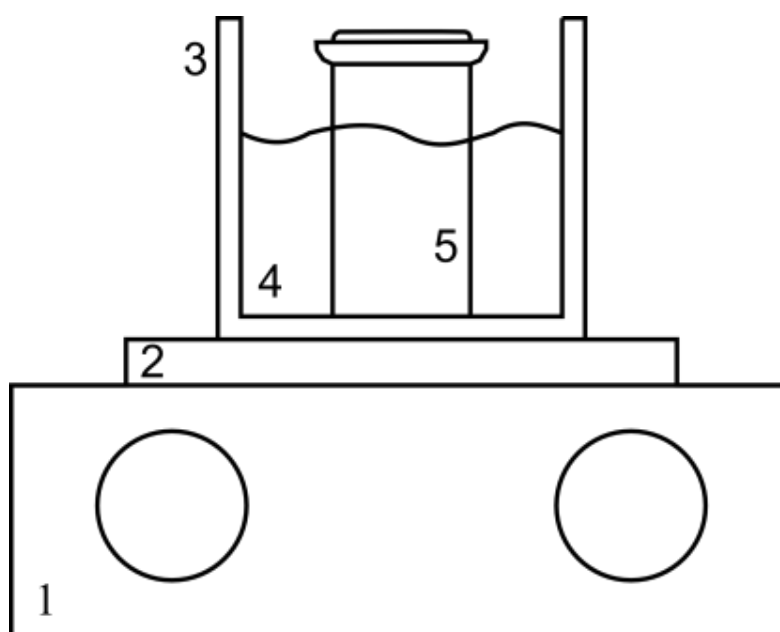


Рисунок 2.1 – Схема установки по выпариванию воды из эмульсии. 1 – нагревательная плита ИКА RET basic, 2 – нагревательный элемент, 3 – термостойкий стакан, 4 – вода, 5 – пробирка с образцом.

Температура плитки задавалась и поддерживалась внутренним термостатом самой плитки на уровне 175°C , это обеспечивало температуру воды в термостойком стакане на уровне $85\pm 5^{\circ}\text{C}$, которая измерялась при помощи внешнего термометра.

Температура водяной бани поддерживалась на уровне $90\pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Исходя из того, что температура кипения олеиновой кислоты составляет 360°C, а температура плавления додецилсульфат натрия составляет 206°C, мы пренебрежем их расходом в процессе выпаривания. На основании этого будем полагать, что в процессе выпаривания из смеси испарялась только вода.

2.2 Методика проведения эксперимента

Все эксперименты были проведены по единой схеме, как показано на рисунке 2.2. Проведение одного измерения требовало совершения последовательности действий:

- 1) Приготовление эмульсии;
- 2) Помещение образца на установку по выпариванию;
- 3) Выпаривание, которое длилось пять минут;
- 4) Охлаждение образца до температуры $30\pm 2^\circ\text{C}$ путем опускания в стакан с холодной водой;
- 5) Перемешивание охлажденного образца на мешалке IKA Vortex Genius 3 в течение 20 секунд на четвертой скорости;
- 6) Измерение электрического сопротивления и веса эмульсии;
- 7) Повторение, начиная с шага 2.

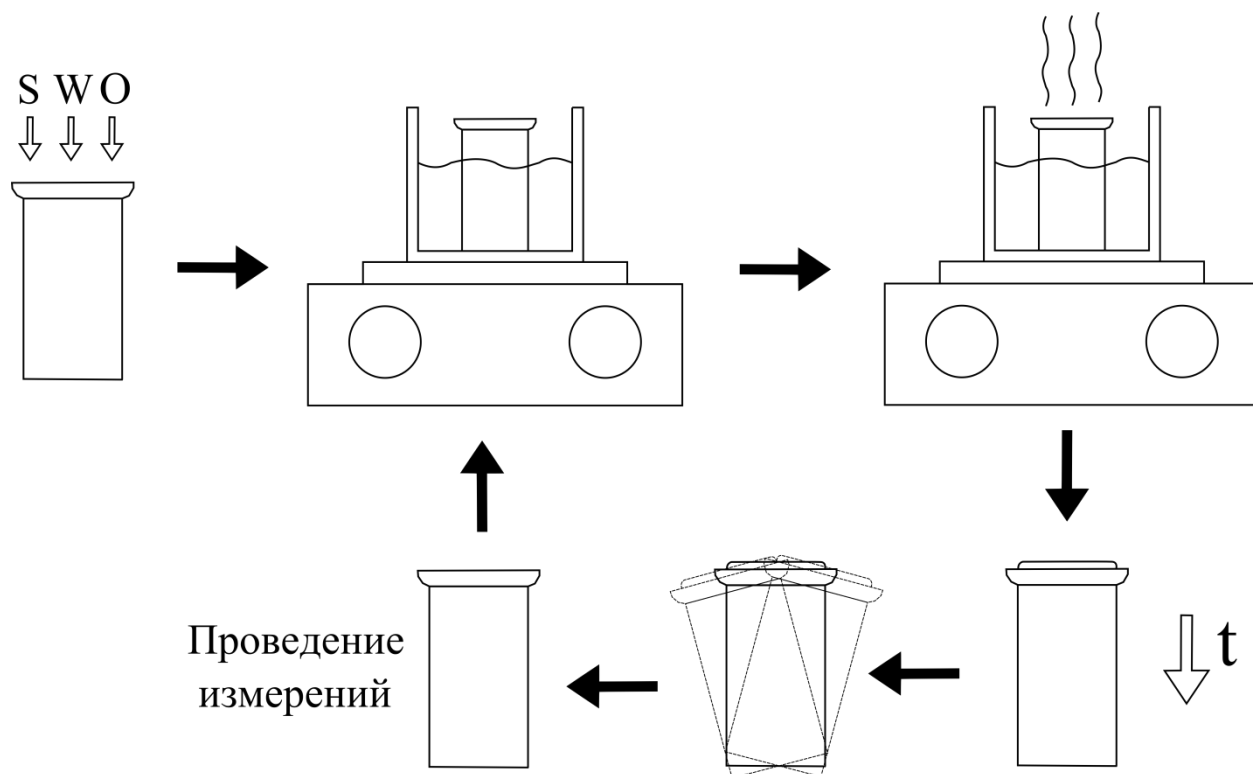


Рисунок 2.2 – Схема методики проведения эксперимента.

Расчет количества массовой доли воды производился следующим образом: от начально известного веса воды отнимался вес испаренной воды (разница между начальным весом эмульсии и весом эмульсии после одного акта выпаривания) и составлялась пропорция

$$\begin{aligned}
 \text{начальный вес эмульсии} &= \text{начальная массовая доля} \\
 \text{вес эмульсии после выпаривания} &= x.
 \end{aligned}
 \tag{5}$$

Траекторией выпаривания эмульсии будем называть линию на тройной диаграмме, которой соответствуют последовательные изменения массовой доли воды в процессе выпаривания.

2.3 Треугольная система координат для фазовых диаграмм

Для графического описания эмульсий используются трехкомпонентные диаграммы фазового равновесия. Они имеют много общего с подобными трехкомпонентными диаграммами для сплавов [51]. Их особенность состоит в использовании треугольных систем координат, где в вершинах откладывают компоненты эмульсии. Чем ближе к вершине, тем больше содержание какого-либо компонента. Стандартный вид треугольной системы координат представлен на рисунке 2.3.

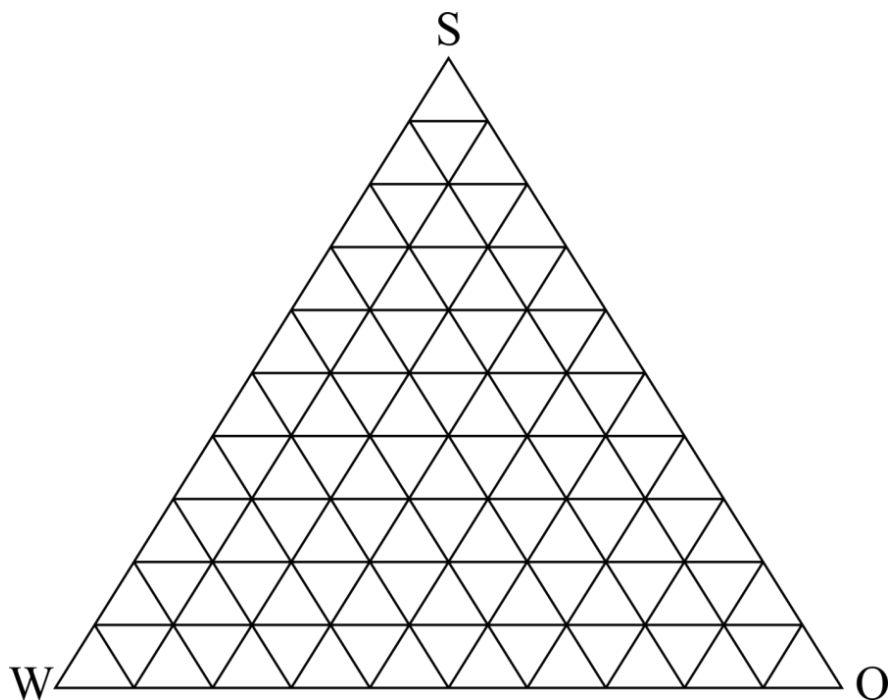


Рисунок 2.3 – Общий вид треугольной системы координат, используемой для описания эмульсий. В вершинах W – вода, S – ПАВ, O – масло.

2.3.1 Графические методы выражения состава трехкомпонентной системы

Для количественного выражения состава трехкомпонентной системы обычно используют треугольные координаты. Существуют два метода определения состава трехкомпонентных систем с помощью треугольных координат: метод Гиббса и метод Розебома [52].

В обоих методах используются трехкомпонентные диаграммы фазового равновесия, их вершины отвечают 100% чистому компоненту (W, S или O), на сторонах откладываются составы систем (в мольных, массовых долях или процентах), а любая точка внутри треугольника отвечает трехкомпонентной системе.

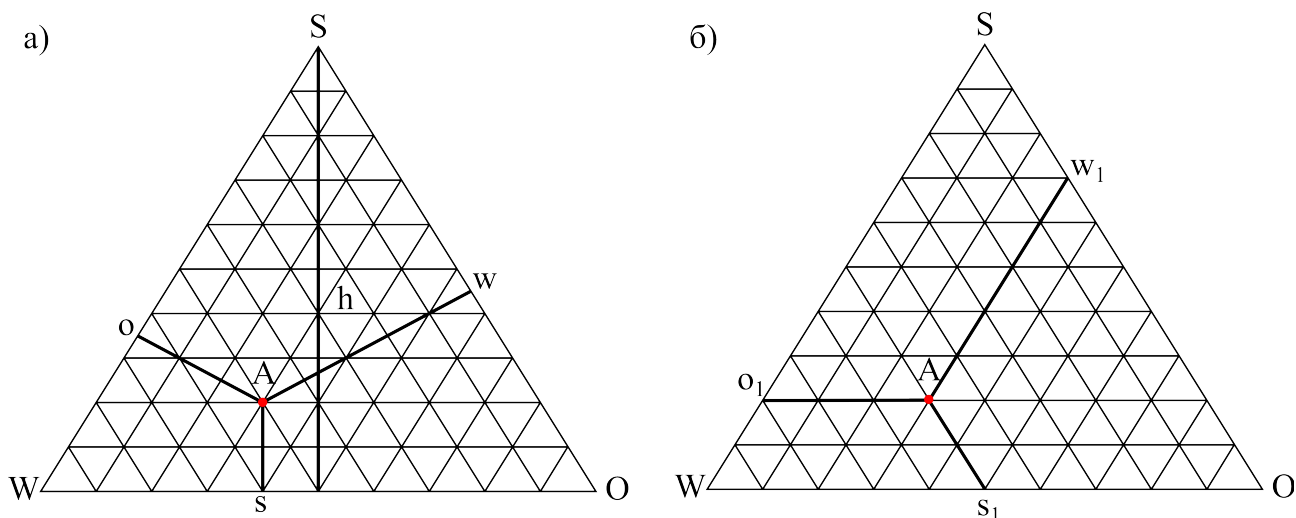


Рисунок 2.4 – Определение состава трехкомпонентных систем с помощью треугольника Гиббса – Розебома.

В методе Гиббса (рисунок 2.4, а) за 100% принимается высота треугольника и используется свойство равностороннего треугольника, согласно

которому сумма перпендикуляров, опущенных на стороны треугольника из любой точки внутри него, равна его высоте: $h = A_o + A_w + A_s = 100\%$.

В методе Розебома (рисунок 2.4, б) за 100% принимается сторона треугольника и используется свойство, согласно которому сумма отрезков, проведенных параллельно сторонам треугольника из любой точки внутри него, равна длине стороны: $l = A_{o_1} + A_{w_1} + A_{s_1} = 100\%$.

Чем меньше содержание какого-либо компонента в системе, тем дальше точка внутри треугольника отстоит от вершины, соответствующей 100%-ному содержанию этого компонента и тем короче отрезок, соединяющий точку с противоположащей стороной.

К примеру, рассмотрим состав, который задается этой точкой А. Здесь отрезок $A_o = 0,3h$, а отрезок $A_{o_1} = 0,3l$. Получается, что доля компонента о составляет 0,3, то есть 30%. То же справедливо и для других коэпONENTов: доля компонента w составляет 50%, а компонента s – 20%.

Таким образом, относительное содержание компонентов $\omega\%$ определяется отношением длин соответствующих отрезков:

$$\omega_w : \omega_o : \omega_s = A_w : A_o : A_s = A_{w_1} : A_{o_1} : A_{s_1} .$$

У трехкомпонентных диаграмм есть несколько полезных свойств [52,53]. Во-первых, если провести луч из какой-либо вершины треугольника (луч h на рисунке 2.4, а), то этот луч будет являться линией постоянного соотношения концентраций двух других компонентов. То есть вдоль h соотношение компонентов W и O будет постоянным. Во-вторых, если внутри треугольника провести прямую, параллельную одной из сторон (линия A_{o_1} на рисунке 2.4, б), то вдоль этой линии концентрация компонента, находящегося на

противоположной стороне, будет постоянной. В данном случае постоянной вдоль линии A_0_1 будет концентрация компонента S.

2.3.2 Численное выражение состава трехкомпонентной эмульсии

Для приготовления эмульсий знать состав компонентов в масс.% часто бывает недостаточно. Необходимо иметь представление о точном количестве компонентов, которые необходимо навесить и смешать, чтобы получить требуемый результат. В этом разделе мы рассмотрим, как можно этого достичь.

Известно, что массовая доля вычисляется как

$$\omega = \frac{m_i}{m}, \quad (6)$$

где m_i – масса растворенного вещества;

m – общая масса раствора.

Объем раствора может быть найден следующим образом:

$$V = \frac{m}{\rho}, \quad (7)$$

где m – масса растворенного вещества;

ρ – плотность.

Общий объем раствора складывается из объемов каждого его составляющего:

$$V_{tot} = \sum V_i. \quad (8)$$

Исходя из описанных выше уравнений, можно записать систему, из которой можно вычислить массы каждого i -го компонента системы. Запишем

её для трехкомпонентной системы, состоящей из поверхностно-активного вещества (S), воды (W), и масла (O):

$$\left\{ \begin{array}{l} V_{tot} = \frac{m_o}{\rho_o} + \frac{m_s}{\rho_s} + \frac{m_w}{\rho_w} \\ \omega_s = \frac{m_s}{m_{tot}} \\ \omega_o = \frac{m_o}{m_{tot}} \\ \omega_w = \frac{m_w}{m_{tot}} \end{array} \right. \quad (9)$$

2.3.3 Аналитический метод определения количества фаз

Существует алгебраический метод определения количественного состава фазы эмульсии [54,55]. Его суть заключается в аналитическом описании фракций разных фаз (1-й, 2-й или 3-й), когда общий состав изменяется вдоль линии, проходящей сквозь области, содержащие две или три фазы. Компоненты *A*, *B* и *C* даны в равновесии с каждой из фаз.

Рассмотрим сначала трехфазную область. Отметим точку *Q* на линии *t*, как показано на рисунке 2.5. Графически количество фазы 1 для этой точки можно определить, применяя правило рычага:

$$m_1 = m_{tot} b/a, \quad (10)$$

где m_1 – масса фазы 1;

m_{tot} – общая масса системы на линии *t*;

a и *b* – расстояния, как показано на рисунке 2.5.

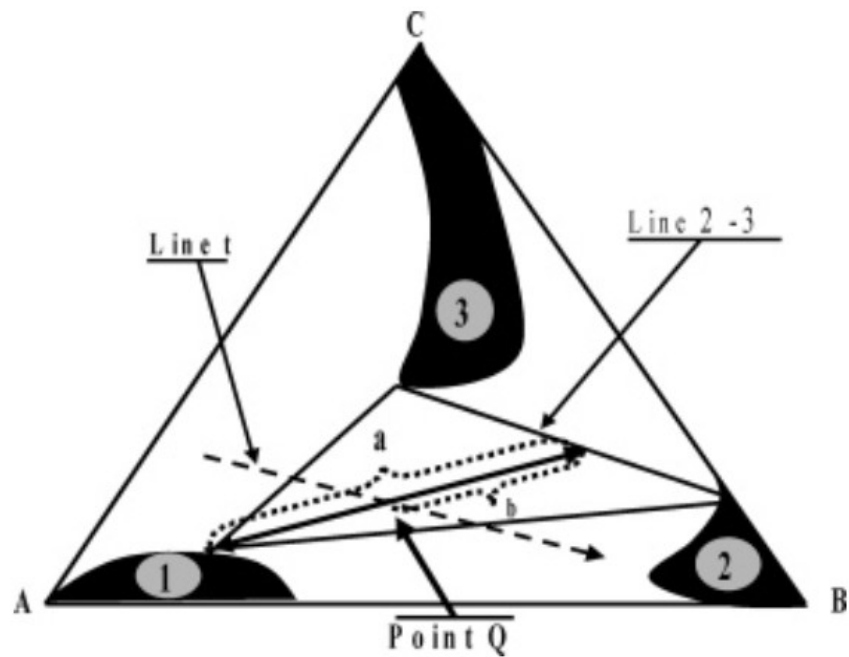


Рисунок 2.5 – Основные части фазовой диаграммы [46].

Также можно получить упрощенные выражения, как показано на рисунке 2.6. Количество фазы 3 в точке x , лежащей на линии ba будет равно

$$m_3 = m_{tot} \frac{xa}{ba}, \quad (11)$$

где xa и ba – расстояния между точками на рисунке 2.6.

Из рисунка 2.6 видно, что

$$\frac{xa}{ba} = \frac{\epsilon a}{ba} \quad (12)$$

и количество фазы 3 получается более простым выражением:

$$m_3 = m_{tot} \frac{C(\epsilon) - C(\alpha)}{C(b) - C(\alpha)}. \quad (13)$$

Весовую долю для фазы 1 в точке Q на рисунке 2.5 можно посчитать следующим образом.

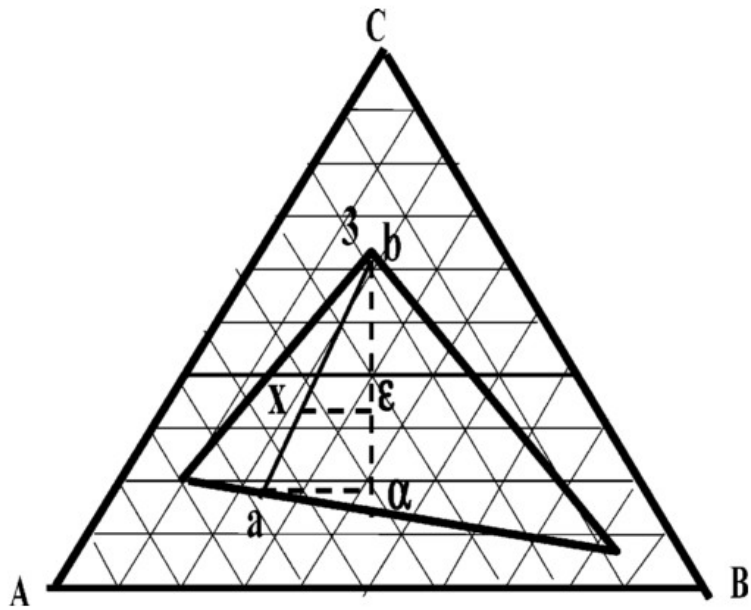


Рисунок 2.6 – Иллюстрация упрощенного метода расчетов [46].

Уравнение для линии 2–3 выглядит как:

$$B(2-3) = B(2) + \frac{(B(3) - B(2))(\Delta A(2-3) - A(2))}{(A(3) - A(2))}. \quad (14)$$

Уравнение линии между точкой на фазе 1 и точкой на линии t (отчка Q , рисунок 2.5) имеет вид:

$$B(1-t) = B(t) + \frac{(B(1) - B(t))(A(1-t) - A(t))}{(A(1) - A(t))}. \quad (15)$$

Комбинируя уравнения 9 и 10 можно получить уравнение для фазы A на линии 2–3 в точке Q :

$$A(2-3) = \frac{[\Delta Bt2 + (A(2) \frac{\Delta B32}{\Delta A32}) - (\frac{A(t) \Delta B1t}{\Delta A1t})]}{(\frac{\Delta B32}{\Delta A32}) - (\frac{\Delta B1t}{\Delta A1t})}, \quad (16)$$

где $\Delta A12 = \Delta A(1) - \Delta A(2)$.

Выражения $A(t)$ и $B(t)$ связаны между собой линейным образом:

$$B(t) = cA(t) + d. \quad (17)$$

Тогда $A(2-3)$ определяется через $A(t)$ для точки Q таким образом:

$$A(2-3) = \frac{[\Delta B(cA(t)+d)2 + (\frac{A(2)\Delta B32}{\Delta A32}) - \frac{(A(t)\Delta BI(cA(t)+d))}{\Delta AIt}]}{[(\frac{\Delta B32}{\Delta A32}) - (\frac{\Delta BI(cA(t)+d)}{\Delta AIt})]}. \quad (18)$$

И весовую долю фазы 1 можно определить как:

$$Fr(1) = \frac{(\Delta At, 2-3)}{(\Delta AI, 2-3)}. \quad (19)$$

3. Исследование фазовой диаграммы системы SDS/вода/олеиновая кислота

В данном разделе будет рассмотрен ряд предварительных оценочных экспериментов, которые предшествовали постановке основных задач данной диссертации. Кроме того, мы коснемся вопросов измерения электрического сопротивления и выпаривания из эмульсии.

3.1 Предварительные эксперименты

Природа не создает эмульсии и микроэмульсии из химически чистых веществ. Они обязательно подвергаются влиянию со стороны других соединений.

Мы провели предварительные эксперименты, целью которых было усилить наше понимание того, как на самом деле в природе появляются различного рода эмульсии и микроэмульсии. Для этой цели было решено использовать не химически чистые реагенты, а бытовые, которые включают в себя целый спектр различных добавок.

3.1.1 Необходимость контроля солености

Согласно классификации Винзора, эмульсии имеют три основных фазы: вода в масле, масло в воде и биконтинуальную. Было решено попробовать приготовить эмульсии согласно этой классификации, используя «грязные» бытовые компоненты: водопроводную воду с содержанием различных солей 10^{-5} М, подсолнечное масло рафинированное дезодорированное вымороженное «Дары кубани», водку марки «наш Лидер» крепостью 40% из пищевого сырья «люкс», а также прошедшую первичную переработку нефть.

Ввиду отсутствия опыта и оценочного характера проводимого эксперимента, обоснованные с научной точки зрения эмульсии согласно классификации Винзора получить не удалось. Полученные эмульсии очень быстро расслаивались, однако при соотношении компонентов водопроводной воды, масла и водки (0,33; 0,33; 0,33) удалось получить относительно стабильную эмульсию, которая расслаивалась в течение дня.

Был сделан вывод о том, что для получения стабильных эмульсий необходимо использовать химически более чистые компоненты.

Во втором эксперименте было решено заменить водопроводную воду на дистиллированную, а водку на детское жидкое мыло «Персиковый бум» товарного знака «Принцесса» и оценить эффект изменения концентрации солей.

Эксперименты, проведенные с этими веществами, показали, что замены водопроводной воды на дистиллированную недостаточно для получения относительно стабильных эмульсий, которые можно было бы визуальным образом классифицировать, не прибегая к специальным техникам, т. е. без измерений.

Итак, для оценки влияния концентрации солей на фазовую диаграмму необходимо использовать химически чистые вещества и точно известное содержание солей, и хорошо известную модельную фазовую диаграмму, на основе которой и проходил бы анализ получаемых результатов. Только подобный подход позволяет получать воспроизводимые результаты и грамотно их интерпретировать в более сложных случаях.

3.1.2 Подготовка к эксперименту со смесями двух масел

Также были предприняты попытки провести эксперимент по получению эмульсии, используя два несмешивающихся масла: силиконовое и растительное. Однако ввиду отсутствия данных реагентов и невозможности их

скорого приобретения, эксперимент не проводился. Проведение эксперимента с «грязными» реагентами, у которых степень чистоты точно неизвестна, как показали предыдущие попытки, приводило бы к невозпроизводимому результату.

3.1.3 Важность использования чистых реактивов

Ряд оценочных экспериментов, проведенных нами, позволил понять то, что для проведения экспериментов необходимо наличие химически чистых компонентов. Только тогда становится возможным проведение качественного эксперимента, в котором имеется возможность точно знать одни параметры и с достоверной точностью варьировать другие.

Однако наши оценочные эксперименты не позволили нам сделать какие-либо определенные выводы о том, как ведут себя эмульсии и микроэмульсии в природе, когда они образуются в сложных химически неоднородных системах. В дальнейших экспериментах было решено использовать химически чистые реагенты.

3.2 Измерение электропроводности

Вода и масло имеют различные показатели электрической проводимости. Переход от одной мицеллярной или жидкокристаллической фазы к другой повлечет за собой инверсию проводящей среды. Эти изменения в среде и регистрируется нашим электродом.

3.3 Изменение температуры и состава при выпаривании

При выпаривании из эмульсии изменяются два параметра: температура и состав. Рассмотрим подробнее последствия этих изменений далее.

При выпаривании изменяется температура эмульсии. Как видно из рисунков 1.10 и 1.11, при изменении температуры также изменяется и фазовая диаграмма. Поэтому для наших экспериментов необходимо возвращать температуру к исходному значению для того, чтобы можно было корректно сравнивать наши результаты с литературными данными.

Другим параметром, который изменяется при выпаривании, является состав эмульсии. Ранее мы уже предположили, что при выпаривании из нашей системы испаряется только вода. Это испарение означает, что система переходит в другую точку на фазовой диаграмме. Последовательность таких переходов и формирует траекторию выпаривания эмульсии, которая будет показана далее на рисунке 3.4.

3.3 Результаты решения задачи выпаривания

На фазовой диаграмме системы SDS/вода/олеиновая кислота [22] были выбраны несколько экспериментальных точек, как показано на рисунке 3.1. Каждой точке соответствует определенное соотношение компонентов системы. Согласно этим соотношениям были получены эмульсии для точек 3–6.

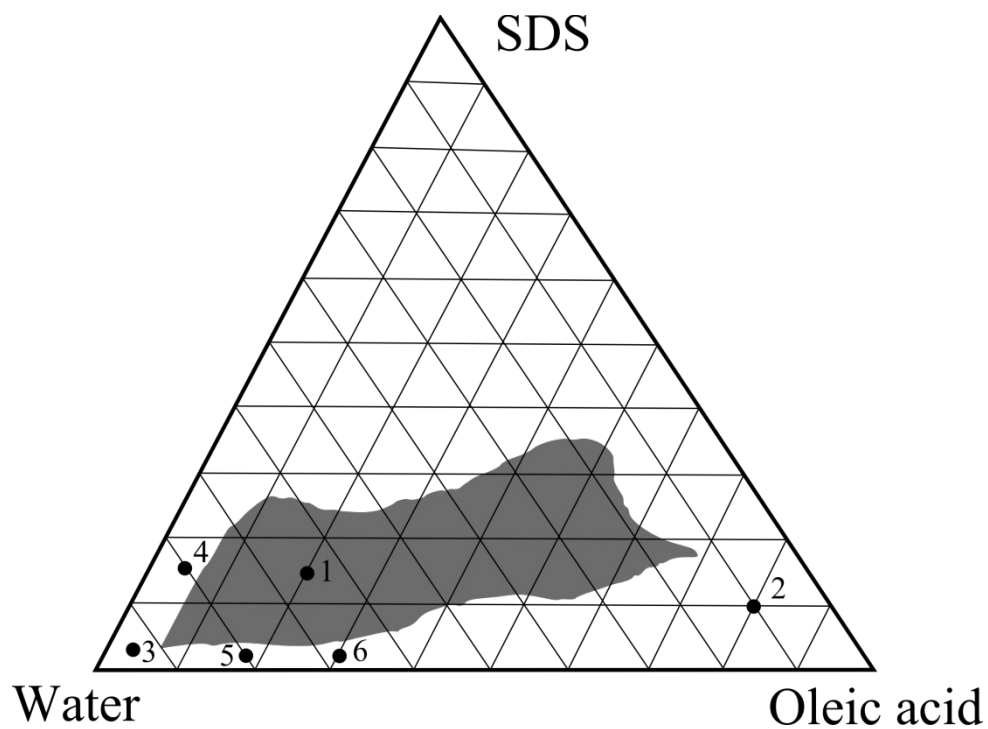


Рисунок 3.1 – фазовая диаграмма системы SDS/вода/олеиновая кислота с
выбранными экспериментальными точками.

Эмульсии, полученные согласно точкам 1 и 2 были сфотографированы и представлены на рисунке 3.2 и 3.3.

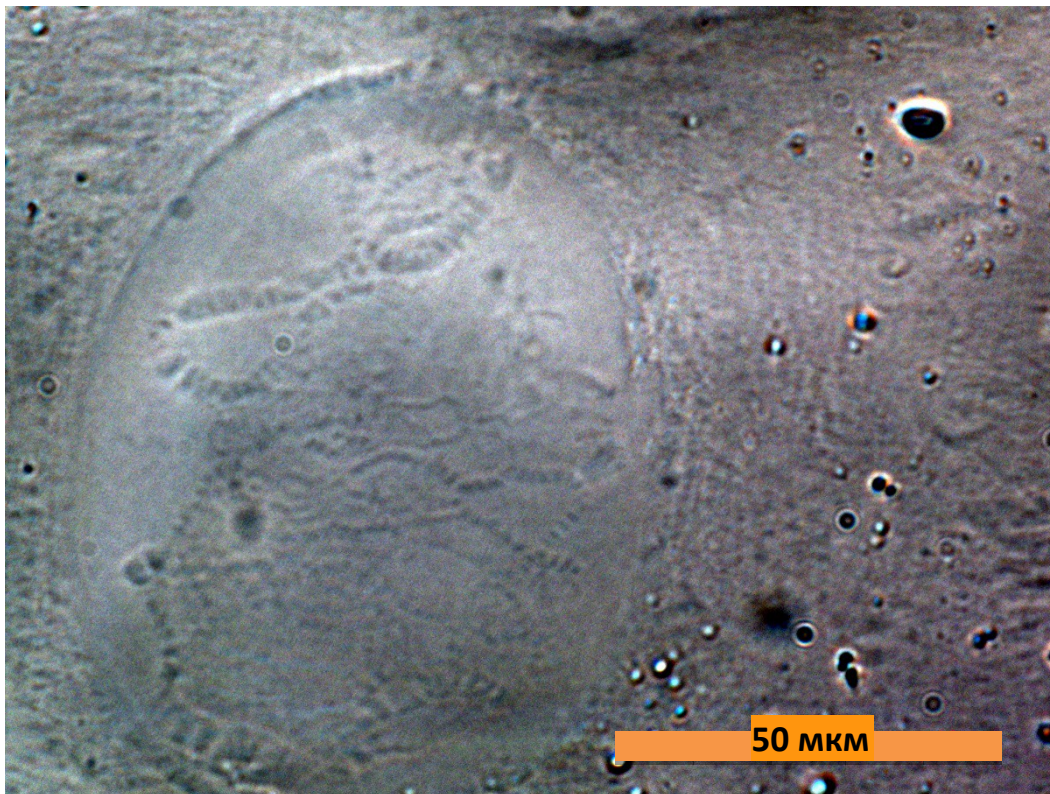


Рисунок 3.2 – Вид эмульсии в точке 1 при 100х увеличении.

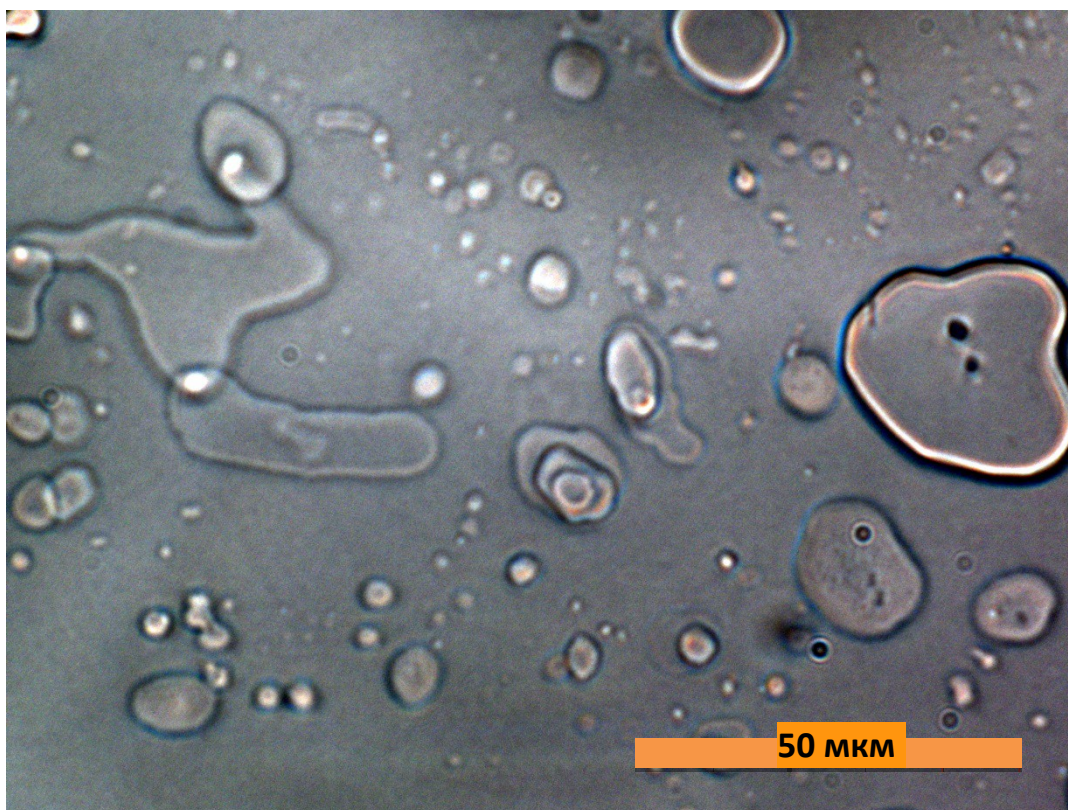


Рисунок 3.3 – Вид эмульсии в точке 2 при 100х увеличении.

С эмульсиями, полученными согласно точкам 3–6, была проведена серия экспериментов по измерению электрического сопротивления и веса. Каждая из них была подвергнута процессу выпаривания с промежуточными снятиями значения электрического сопротивления и веса. Траектория выпаривания представлена на рисунке 3.4.

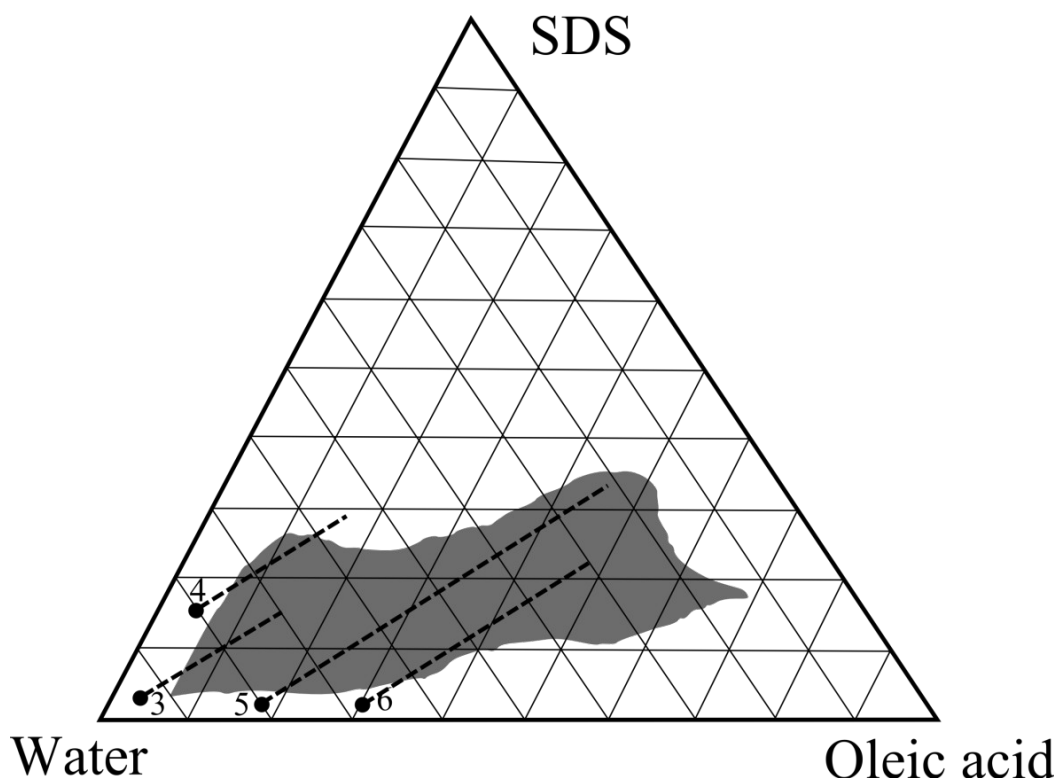


Рисунок 3.4 – Траектории выпаривания (пунктир) воды из эмульсии.

Результаты измерения электрического сопротивления представлены на рисунке 3.5.

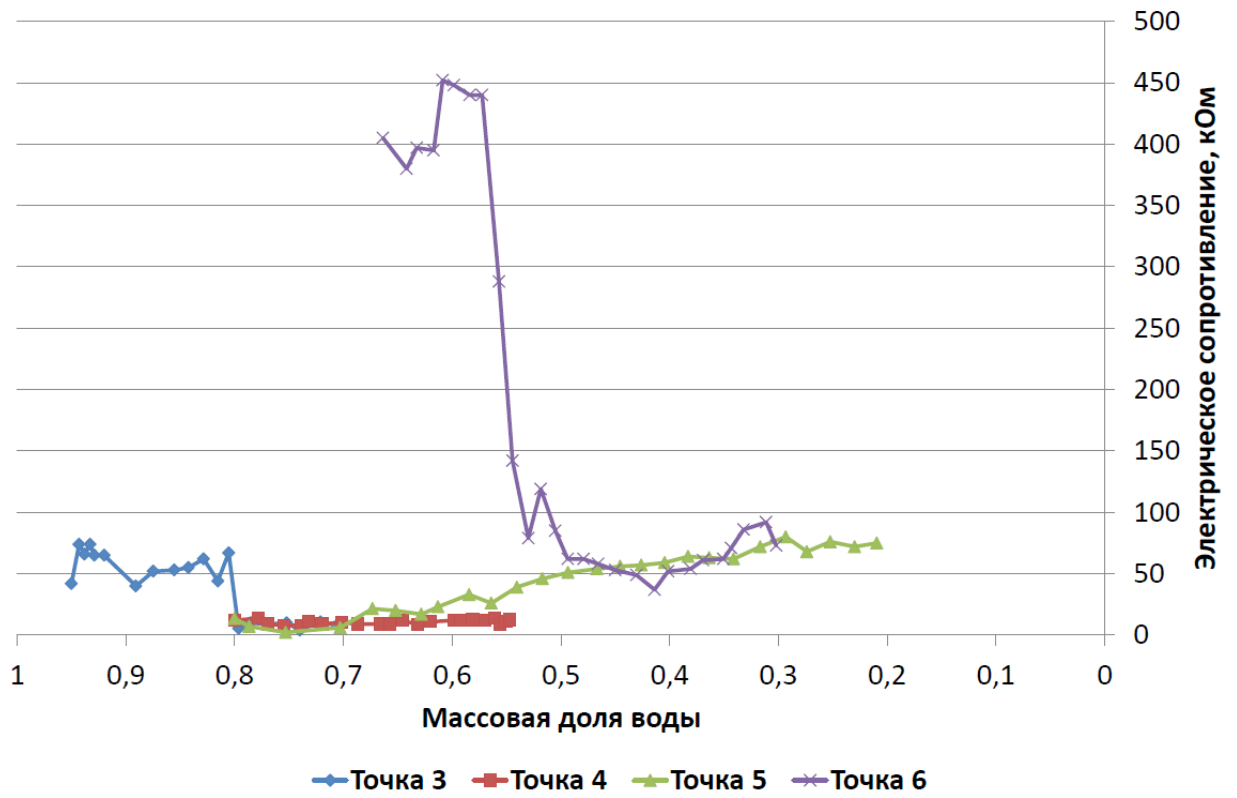


Рисунок 3.5 – Экспериментальные данные зависимости электрического сопротивления от массовой доли воды в эмульсии.

4. Результаты измерений в избранных точках фазовой диаграммы

В этом разделе мы обсудим основные результаты, полученные в ходе экспериментов. Обсуждение будет идти вокруг каждой из точек в отдельности, представляющей определенный состав эмульсии. Исключение составляют точки 1 и 2, обсуждение которых будет вестись совместно.

Точки 3-6 были выбраны ввиду того, что в этом месте фазовой диаграммы область мицеллярной фазы очень небольшая, поэтому необходимо точно знать ее границы. Это будет важно при осуществлении дальнейших экспериментов, когда потребуются знание точной фазовой диаграммы выбранной системы. Точки 1-2 были выбраны для того, чтобы в них оптическими методами убедиться в том, что перед нами действительно мицеллярная и ламеллярная фазы.

4.1 Ламеллярная фаза $L\alpha$ (точка 1) и эмульсия в/м (точка 2)

На рисунке 3.2 видно, что в точке 1, которая имеет состав массовой доли воды, масла и ПАВ (0,65; 0,2; 0,15) имеется ламеллярная фаза. Это видно по бугристой слоистой структуре эмульсии, а также резкому повышению мутности и вязкости образца.

На рисунке 3.3 представлена эмульсия, имеющая массовую долю веществ воды, масла и ПАВ (0,1; 0,8; 0,1). Видно, что фаза является мицеллярной. Исходя из состава эмульсии, можно предположить, что это эмульсия по типу вода в масле.

4.2 Эмульсии м/в (точка 3)

Исходя из данных, приведенных на рисунках 3.4 и 3.5, видно, что в процессе перехода от 0,95 масс.% воды до 0,7 масс.% воды был зафиксирован фазовый переход на отметке 0,8 масс.% воды, несмотря на то что согласно литературному источнику он должен был состояться на уровне 0,85 масс.% воды.

Причинами этому могут послужить несколько вещей. Во-первых, фазовая диаграмма системы SDS/олеиновая кислота/вода может быть очень чувствительной к изменению температуры. Литературная фазовая диаграмма была получена для значения температуры 30°C, наши эмульсии были получены при этой же температуре, но с погрешностью в 2°C. Во-вторых, могла иметь место ошибка экспериментатора в приготовлении эмульсии. В-третьих, приведенная из литературного источника фазовая диаграмма не является точной диаграммой.

4.3 Эмульсия м/в (точка 4)

В ходе выпаривания массовая доля воды уменьшилось с 0,8% до 0,55%. В отличие от точки 3 в данном случае, исходя из полученных данных, невозможно говорить о том, что за время проведения эксперимента был зафиксирован фазовый переход. Это опять противоречит данным диаграммы, полученной из статьи [25]. Однако фазовый переход наблюдался визуально при остывании образца. При температуре выше 60-70°C он становился полностью прозрачным, а по мере охлаждения вновь принимал мутноватый оттенок. В последних четырех измерениях наблюдалось замедление выпаривания. Предположительно, это связано с уменьшением количества свободной воды, не образующей никаких мицелл.

При сравнении данных зависимости электрического сопротивления от массовой доли воды в точках 3 и 4 становится видно, что во втором случае показатель сопротивления в 5-6 раз ниже, чем в первом. Такая разница может говорить о влиянии различного количества олеиновой кислоты и SDS на значение электрического сопротивления. В чистом виде олеиновая кислота имеет сопротивление более 2 МОм.

4.4 Эмульсия м/в (точка 5) + 0,2 массовой доли SDS

В данной точке наблюдается необычная зависимость электрического сопротивления от масс.% воды. Она носит плавный возрастающий характер. От 0,8 до 0,7 масс.% воды идет прямая, затем она плавно начинает подниматься. Мы предполагаем, что это связано с тем, что по мере измерений на электроде оставалась часть SDS, что влияло на концентрацию соли в эмульсии и повлекло за собой изменение в электропроводности.

4.5 Эмульсия м/в (точка 6) + 0,3 массовой доли SDS

Данная точка является показательной в плане резкого скачка электропроводности. От 0,675% до 0,57% массовой доли воды наблюдается стабильно высокое электрическое сопротивление. Но, начиная с 0,56% массовой доли, виден резкий спад, который продолжается до 0,49% массовой доли воды. После начинается плато низкого электрического сопротивления. Эти данные позволяют говорить о втором зарегистрированном фазовом переходе (первый был в точке 3).

5 Обсуждение результатов

Рассмотрим кратко основные результаты работы с точки зрения ближайших намеченных приложений и обсудим дискуссионные вопросы, которые придется выяснять в дополнительных исследованиях.

5.1 Обсуждение двухслойной мембраны

Следует отметить, что предположение о возможности существования двухслойной мембраны в изученной тройной системе основано на физико-химических исследованиях образования металлических наночастиц в коллоидной системе с олеиновой кислотой и лаурилсульфатом натрия (SDS). Здесь мы сталкиваемся с очень «тонким местом», когда ионы никеля, например, могут образовать соль никеля олеиновой кислоты, увеличивая тем самым ГЛБ почти в 20 раз, как это видно из таблицы (№№ из файла Шукин.odt). Это соль является очень сильным ПАВ почти на уровне SDS, её ГЛБ только в 2 раза меньше чем у SDS. Равновесие в этой системе требует специального дополнительного исследования.

5.2 Жирные альдегиды и кислоты бактериальных люцифераз

В бактериальной люциферазе субстратом реакции может быть каприновый (декановый), лауриновый (додекановый), миристиновый (тетрадекановый) или пальмитиновый (гексадекановый) альдегиды, а продуктом соответствующие жирные кислоты. Возможность образования солей этих жирных кислот достаточно высока. Поэтому идея иммобилизации люциферазы в мицеллы изученной тройной смеси имеет свои «за» и «против»,

которые необходимо тщательно исследовать, например так, как это было сделано в работе [56].

5.3 ГЛБ, ТОФ, ТИФ & РИТ

Сложность обсуждения температуры инверсии фаз на русском языке следует из того, что в русскоязычной литературе сначала его определяли как ТОФ [26], затем как ТИФ [23, 57], а в последние годы стали называть РИТ [58]. ТОФ — это узкая область температур, в которой солубилизация воды и масла достигает максимума, причем при увеличении температуры происходит переход системы от типа м/в к типу в/м [26]. Использование ТИФ было введено русским переводом [23] и закрепилось на некоторое время, уступив затем место английскому термину РИТ (Phase Inversion Temperature) [58].

5.4 Двумликие и многоликие эмульсии

Так как русский перевод термина Janus Emulsion появился впервые в этой работе, мы предложили термины двумликие и многоликие эмульсии, используя для количественного геометрического параметра Janus Balance [33] равновесие Януса или баланс Януса.

Следует заметить, что проблема получения и стабилизации многоликих эмульсий за счет использования нескольких не смешивающихся друг с другом масел далеко не тривиальна, как это может показаться на первый взгляд [37 – 39]. Решение проблемы усложняется тем, что, например, добавление в тройную эмульсию типа изученной в этой работе соответствующего жирного олеинового спирта может превратить эту эмульсию в микроэмульсию, т.е. сделать её прозрачной и термодинамически стабильной. Это, если говорить точно, является теоретическим предположением и, конечно же, требует

экспериментальной проверки. Изученные эмульсии на основе тройной системы вода/лаурилсульфат натрия/олеиновая кислота не являются термодинамически стабильными, однако фазовые состояния, в которые переходят исследованные в предыдущей главе точки с течением времени специально не изучались.

5.5 Липидных плоты и кластеры дифференцировки

Заметим, что в биологических системах «работают» более сложные липиды, где олеиновая кислота функционирует как часть липида наравне с пальмитиновой и другими жирными кислотами. За два последних десятилетия произошло сильное изменение в научных представлениях о структуре двухслойных мембран. На смену жидко-мозаичной структуре мембран сначала пришла жидко-кристаллическая модель, а затем и модель липидных плотиков или рафтов (lipid rafts). Первые доказательства того, что кластеры плотиков отделяются от неплотиковых белков были приведены в работе [59]. Размер плотиков в живых клетках были определена с помощью фотонно—силовой микроскопии [60]. Первая визуализация белка была получена во время измерения уровня сигнала IgE, находящегося в плотике и вне плота, при помощи иммуно—электронной спектроскопии [61]. В работе [62] обсуждаются проблемы в изучении плотиков, т.к. сама эта концепция входила в научные статьи более 10 лет. Важно, что введение плотиков (rafts) это не просто терминологическая замена, а принципиальное изменение представлений о структуре и функциях липид-белковых доменов в биологических мембранах, в клетках и многоклеточных тканях.

Эта концепция позволила гораздо точнее определить конденсированное состояние липидов и липидно—белковых комплексов в клетке (Lipidomes) [Luk 67, 69, 72], тем самым делая более определенными структуры целого ряда кластеров дифференцировки.

Понятие кластеров дифференцировки естественным образом связано с липидными плотами (rafts), в которых белки и липиды образуют достаточно устойчивую структуру, которая как единое целое перемещается по двухслойной мембране. Выявление этих доменов с помощью моноклональных антител и развитие представлений о специфических структурах мембран, связанных с изменениями статуса клеток, происходили параллельно [59–74]. Собственно, и сама идея о помещении в мицеллу (иммобилизация) плотика со специфическим белком является естественным продолжением этой мысли. Несмотря на простоту подобные структуры вполне могут быть экспериментальными моделями ли искусственными лимфоцитами. Возможность их создания логически вытекает из результатов проведенных исследований тройной системы вода/лаурилсульфат натрия/олеиновая кислота.

При выполнении данной работы четко определилась необходимость создания современного учебника на русском языке по эмульсиям, микроэмульсиям и асфальтенам, например, на основе книг [2,3,8]. Решением этой задачи автор предполагает заняться в магистратуре.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе выполнения данной работы была изучена фазовая диаграмма системы SDS/вода/олеиновая кислота, освоены методы получения и изучения свойств эмульсий, рассмотрены теоретические аспекты причин изменения фазовых диаграмм.

На основе анализа литературных источников и оптических наблюдений было показано, что фазовая диаграмма системы SDS/вода/олеиновая кислота имеет две фазы: ламеллярную и мицеллярную.

Найдены точки фазового перехода при соотношении массовых долей компонентов ПАВ, вода, масло (0,1; 0,8; 0,1) (в литературе указано соотношение (0,07; 0,87; 0,06)), а также (0,08; 0,56; 0,36) (в литературе – (0,06; 0,62; 0,32)). В точках с соотношениями (0,19; 0,72; 0,09) и (0,04; 0,77; 0,19) фазовые переходы обнаружены не были. Такие отличия могут быть связаны с различными способами регистрации точек фазового перехода.

Полученные данные позволяют предполагать возможность формирования мицеллы, содержащей двойной слой из SDS и олеиновой кислоты, для последующей иммобилизации белка в мембране этой мицеллы.

Для дальнейших исследований в качестве белков мы планируем выбрать люциферазы и некоторые интегральные мембранные белки, возможно, кластеры дифференцировки.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Hoar T.P., Schulman J.H. Transparent Water-in-Oil Dispersions: the Oleopathic Hydro-Micelle // Nature. Nature Publishing Group, 1943. Т. 152, № 3847, 102–103 с.
2. Fanun M. Microemulsions: properties and applications // Annals of Physics. 2009, 568 с.
3. Mullins O. Asphaltenes, Heavy Oils and Petroleomics // Annals of Physics. MIT Press, 2007. Т. 54, № 2. P. 677.
4. Левашов А.В. и др. Катализ водорастворимыми ферментами, включенными в обращенные мицеллы поверхностно-активного вещества в неводных растворителях // Биоорганическая химия. 1980. Т. 6, № 6. 929–943 с.
5. Хмельницкий Ю.Л. и др. Микрогетерогенная среда для химических (ферментативных) реакций на основе коллоидного раствора воды в органическом растворителе // Успехи химии. 1984. Т. 53, № 4. 545–565 с.
6. Клячко Н.Л. и др. Замена воды на водно-органическую смесь в системах обращенных мицелл - путь к повышению эффективности ферментативного катализа // Биоорганическая химия. 1990. Т. 16, № 5. 581–589 с.
7. Мартинек К., Семенов А.Н. Катализ ферментами в органическом синтезе // Успехи химии. 1981. Т. 50, № 8. 1376–1406 с.
8. Stubenrauch C. Microemulsions. Background, New Concepts, Applications, Perspectives. Edited by Cosima Stubenrauch. // Angewandte Chemie International Edition. 2009. Т. 48, № 25. 4474–4474 с.

9. Bagwe R.P. и др. Improved drug delivery using microemulsions: rationale, recent progress, and new horizons // *Critical reviews in therapeutic drug carrier systems*. 2001. Т. 18, № 1. 77–140 с.
10. Boutonnet M., Kizling J., Stenius P. The preparation of monodisperse colloidal metal particles from microemulsions // *Colloids and Surfaces*. 1982. Т. 5. 209–225 с.
11. Meldrum F.C., Kotov N.A., Fendler J.H. Ultra-thin Particulate Films prepared from Capped and Uncapped Reverse-micelle-entrapped Silver Particles // *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 1994. Т. 90, № 4. 673–680 с.
12. Karayigitoglu C.F. et al. Modifications of CdS nanoparticle characteristics through synthesis in reversed micelles and exposure to enhanced gas pressures and reduced temperatures // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 1994. Т. 82. 151–162 с.
13. Ayyub P., Maitra A.N., Shah D.O. Formation of theoretical-density microhomogeneous $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_{7-x}$ using a microemulsion-mediated process // *Physica C*. 1990. Т. 168. 571–579 с.
14. Kumar P., Pillai V., Shah D.O. Preparation of Bi-Pb-Sr-Ca-Cu-O oxide superconductors by coprecipitation of nanosize oxalate precursor powders in the aqueous core of water-in-oil microemulsions // *Applied Physics Letters*. 1993. Т. 62, № 7, 765 с.
15. Pillai V. и др. Structure and magnetic properties of nanoparticles barium ferrite synthesized using microemulsion processing // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 1993. Т. 80. 69–75 с.

16. Hingorani S. и др. Microemulsion mediated synthesis of zinc-oxide nanoparticles for varistor studies // *Mat. Res. Bull.* 1993. Т. 28, № с, 1303–1310 с.
17. Larpent C., Tadros T.F. Preparation of microlatex dispersions using oil-in-water microemulsions // *Colloid & Polymer Science.* 1991. Т. 269, № 11. 1171–1183 с.
18. Parker W., Song P.S. Protein structures in SDS micelle-protein complexes. // *Biophysical journal.* Elsevier, 1992. Т. 61, № 5. 1435–1439 с.
19. Landfester K., Ram L.P. Encapsulated magnetite particles for biomedical // *J. Phys.: Condens. Matter.* 2003. Т. 1345, № 15. 1345–1361 с.
20. Deepti S. Sidhaye и др. Preparation of Nearly Monodisperse Nickel Nanoparticles by a Facile Solution Based Methodology and Their Ordered Assemblies // *J. Phys. Chem. C*, 2009, 113 (9), 3426-3429 с.
21. Winsor P.A. Hydrotrophy, solubilisation and related emulsification processes // *Transactions of the Faraday Society.* 1948. Т. 44. 376–398 с.
22. Ismail A.Z.B. и др. Solubility of Betulinic Acid in Microemulsion System : (Part 2) // *Oriental Journal of Chemistry.* 2011.
23. Биэ Ж. и др. Микроэмульсии: структура и динамика: Пер. с англ. / ред. Фриберг С., Боторель П.; перевод. Белобров П.И., Левченко Е.Б. Москва: Мир, 1990. 320 с.
24. Freddolino P., Shih A. Case Study: Membranes. 2006. 1–26 с.
25. Kekicheff P., Grabielle-Madelmont C., Ollivon M. Phase Diagram of Sodium Dodecyl Sulfate-Water System. 1. A Calorimetric Study // *Journal of Colloid and Interface Science.* 1989. Т. 131, № 1, 112–132 с.

26. Миттел К. Мицеллообразование, солюбилизация и микроэмульсии // Москва: Издательство “МИР,” 1980. 598 с.
27. Shinoda K., Kunieda H. Conditions to Produce So-called Microemulsions : Factors to Increase the Mutual Solubility of Oil and Water by Solubilizer // Journal of Colloid and Interface Science. 1973. Т. 42, № 2. 381–387 с.
28. Saito H., Shinoda K. The Stability of W/O Type Emulsions as a Function of Temperature and of the Hydrophilic Chain Length of the Emulsifier // Journal of Colloid and Interface Science. 1970. Т. 32, № 4. 647–651 с.
29. Cevc G. Rational design of new product candidates: The next generation of highly deformable bilayer vesicles for noninvasive, targeted therapy. // Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society. Elsevier B.V., 2012. Т. 160, № 2. 135–146 с.
30. Perro A. и др. Design and synthesis of Janus micro- and nanoparticles // Journal of Materials Chemistry. 2005. Т. 15, № 35-36. 3745 с.
31. Hu J., Zhang X., Wang Z. A review on progress in QSPR studies for surfactants. // International journal of molecular sciences. 2010. Т. 11, № 3. 1020–1047 с.
32. Becher, P. Hydrophile-lipophile balance: history and recent developments (Langmuir lecture, 1983). J. Dispersion Sci. Technol. 1984, 5, 81-96 с.
33. Jiang, S.; Granick, S. Controlling the Geometry (Janus Balance) of Amphiphilic Colloidal Particles // *Langmuir* 2008, 24, 2438–2445 с.
34. Jiang S., Granick S. Janus balance of amphiphilic colloidal particles. // The Journal of chemical physics. 2007. Т. 127, № 16. 161102 с.

35. Liu B., Liu J., Liang F. и др. Robust Anisotropic Composite Particles with Tunable Janus Balance // *Macromolecules*. 2012.
36. Стась И.Е., Фомин А.С.. Дисперсные системы в природе и технике. // Учебное пособие к элективному курсу для студентов 4-го курса химического факультета. Барнаул 2005. 217 с
37. Hasinovic H., Friberg S.E. One-step inversion process to a Janus emulsion with two mutually insoluble oils. // *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*. 2011. Т. 27, № 11. 6584–6588 с.
38. Hasinovic H., Friberg S.E., Rong G. A one-step process to a Janus emulsion. // *Journal of colloid and interface science*. 2011. Т. 354, № 1. 424–426 с.
39. Hasinovic H., Friberg S.E. Destabilization mechanisms in a triple emulsion with Janus drops. // *Journal of colloid and interface science*. 2011. Т. 361, № 2. 581–586 с.
40. Sjoblom J., Gundersen S.A. High- and low-molecular-weight lignosulfonates and Kraft lignins as oil/water-emulsion stabilizers studied by means of electrical conductivity // *Colloid & Polymer Science*. 1999. Т. 468. 462–468 с.
41. Suttiprasit P., Al-Malah K., McGuire J. On evaluating the emulsifying properties of protein using conductivity measurements // *Food Hydrocolloids*. Elsevier Ltd., 1993. Т. 7, № 3. 241–253 с.
42. Attwood D., Ktistis G. A light scattering study on oil-in-water microemulsions // *International Journal of Pharmaceutics*. 1989. Т. 52. 165–171 с.

43. [Guest D., Langevin D. Light scattering study of a multiphase microemulsion system // *Journal of Colloid and Interface Science*. 1986. Т. 112, № 1. 208–220 с.
44. Hellweg T., Eimer W. The micro-structures formed by Ni²⁺-AOT/cyclohexane/water microemulsions: a light scattering study // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 1998. Т. 136. 97–107 с.
45. Regev O. и др. A Study of the Microstructure of a Four-Component Nonionic Microemulsion by Cryo-TEM, NMR, SAXS, and SANS // *Langmuir*. 1996. Т. 12, № 3. 668–674 с.
46. Ponsinet V., Talmon Y. Direct Imaging of Lamellar Phases by Cryo-Transmission Electron Microscopy. 1997. Т. 2, № 8. 7287–7292 с.
47. Bernheim-Groswasser A. и др. Direct Observation of Phase Separation in Microemulsion Networks // *Langmuir*. 1999. Т. 15, № 17. 5448–5453 с.
48. Bernheim-Groswasser A., Wachtel E., Talmon Y. Micellar Growth, Network Formation, and Criticality in Aqueous Solutions of the Nonionic Surfactant C12E5 // *Langmuir*. 2000. Т. 16, № 14. 4131–4140 с.
49. Burauer S. и др. Bicontinuous microemulsions revisited: a new approach to freeze fracture electron microscopy (FFEM) // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2003. Т. 228, № 1-3. 159–170 с.
50. Belkoura L., Stubenrauch C., Strey R. Freeze Fracture Direct Imaging: A New Freeze Fracture Method for Specimen Preparation in Cryo-Transmission Electron Microscopy // *Langmuir*. 2004. Т. 20, № 10. 4391–4399 с.

51. Лилеев А.С., Малютина Е.С., Столяров В.Л. Трехкомпонентные диаграммы фазового равновесия. Часть 1. // Москва, 2010. 22 с.
52. Зенин Г.С., Пенкина Н.В., Коган В.Е. Физическая химия: Ч. 3. Фазовые равновесия и учение о растворах. // СПб.: СЗТУ, 2005. 119 с.
53. Минаев А.М., Пручкин В.А. Основы термодинамики фазовых равновесий двойных и тройных сплавов. // Тамбов: Изд-во Тамб. гос. техн. Ун-та, 2006. 44 с.
54. Friberg S.E., AlBawab A. Analytical expressions to calculate relative amounts of phases in a three-component phase diagram. // *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*. 2005. Т. 21, № 22. 9896–9900 с.
55. Friberg S.E. Weight fractions in three-phase emulsions with an $L\alpha$ phase // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2006. Т. 282-283, № August 2005. 369–376 с.
56. Родионова Н.С., Петушков В.Н., Белобров П.И. Кинетические особенности переключения бактериальной люциферазы с одного альдегидного субстрата на другой // *Биофизика*.- 1988.- Т.33, № 3. 396-400 с.
57. Бабак В.Г. - Научный доклад: "Эмульсии-гели, или двухжидкостные пены. Получение, свойства, применение" // *Общесмоковский семинар Научного совета по ВМС РАН "Новейшие достижения в области науки о полимерах"*.
58. Бабак В.Г. Высококонцентрированные эмульсии. Физико-химические принципы получения и устойчивость // *Успехи химии*, 2008, Том 77, Номер 8, 729-756 с.

59. Harder T., Scheiffele P. и др. Lipid Domain Structure of the Plasma Membrane Revealed by Patching of Membrane Components // *J. Cell Biol.* 1998 JCB T. 141 no. 4 929-942 с.
60. Pralle A., Keller P., Florin E и др. Sphingolipid-Cholesterol Rafts Diffuse as Small Entities in the Plasma Membrane of Mammalian Cells // *JCB T.* 2000, №148, 5 997-1008 с.
61. Wilson B., Pfeiffer J., Oliver J. Observing Fcεr1 Signaling from the Inside of the Mast Cell Membrane // *JCB T.* 2000, №149, 5 1131-1142 с.
62. Munro S. Lipid Rafts: Elusive or Illusive? // *Cell*, T. 115, № 4, 2003, 377-388 с.
63. Lipid Rafts. Conclusions 1 // 78 Steps Health Journal, 2012.
64. Simons K., Toomre D. Lipid rafts and signal transduction // *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 1, 31-39 с.
65. Varma R., Mayor S. GPI-anchored proteins are organized in submicron domains at the cell surface // *Nature* 394, 798-801 с.
66. Friedrichson T., Kurzchalia T. V. Microdomains of GPI-anchored proteins in living cells revealed by crosslinking // *Nature* 394, 802-805 с.
67. Quehenberger O., Dennis E. The Human Plasma Lipidome // *N Engl J Med*, 2011.
68. Simons K., Ehehalt R. Cholesterol, lipid rafts, and disease // *J. Clin. Invest.* T. 110, 597-603 с., 2002.

69. Gerl M. J. Sampaio J. и др. Quantitative analysis of the lipidomes of the influenza virus envelope and MDCK cell apical membrane // *J. Cell Biol.*, Т. 196, №. 2, 213-221 с, 2012.
70. Cao X., Simons K., Surma M. Polarized sorting and trafficking in epithelial cells // *Cell Research*, 22, 793-805 с, 2012.
71. Sezgin E. Levental I. и др. Partitioning, diffusion, and ligand binding of raft lipid analogs in model and cellular plasma membranes // *Biochim. Biophys. Acta*, №1818, 1777-1784 с., 2012.
72. Klose C. Surma M. и др. Flexibility of a Eukaryotic Lipidome - Insights from Yeast Lipidomics // *PLoS ONE*, 7, № 4, 35063-1 с, 2012.
73. Sezgin E., Kaiser H. и др. Elucidating membrane structure and protein behavior using giant plasma membrane vesicles // *Nat Protoc*, 7, № 6, 1042-1051 с, (2012).
74. Simons K.; Sampaio J.. Membrane organization and lipid rafts // *Cold Spring Harb Perspect Biol*, Т. 3, № 10, (2011).