

## ДЛЯ ФІЗИЧНИХ ФАКТОРІВ НА БІОЛОГІЧНІ ОБ'ЄКТИ

УДК 547.426

**ОБРАЗОВАНИЕ МЕТАСТАБИЛЬНЫХ ЖИДКИХ ФАЗ В  
ИЗОТОНИЧЕСКОМ РАСТВОРЕ НАТРИЯ ХЛОРИДА ПРИ ОХЛАЖДЕНИИ****А.Т. Ходько***Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков,  
61015, Украина*

Поступила в редакцию 11 ноября 2015 года

Принята 10 декабря 2015 года

Методом криомикроскопии процесса охлаждения 0,15 М изотонического водного раствора натрия хлорида показано, что процессу кристаллизации льда предшествует фазовый переход типа жидкость – жидкость (ликвация), в результате чего образуется метастабильная грубодисперсная система – высококонцентрированная эмульсия. Дисперсная фаза и дисперсионная среда в бинарной системе при одинаковом качественном химическом составе отличаются по концентрации, следовательно, чем больше соотношение объемов сосуществующих фаз, тем больше различается их количественный состав. Дисперсная фаза, составляющая основной объем в изучаемой в данной работе системе, должна иметь концентрацию NaCl ниже, чем дисперсионная среда и исходный раствор. Следовательно, она будет гипотоничной, а дисперсионная среда гипертоничной по отношению к цитоплазме клеток внутренней среды организма человека. Этот, не учитываемый ранее физико-химический фактор, может быть причиной осмотических повреждений живых клеток при охлаждении клеточной суспензии в процессе криоконсервирования.

**Ключевые слова:** фазовые превращения (переходы), ликвация, кристаллизация, дисперсные системы, криопротекторы.

**FORMATION OF METASTABIL LIQUID PHASES IN THE ISOTONIC SOLUTION OF  
SODIUM CLORAIIDE DURING COOLING**

A.T. Khodko

*Institute for problems of cryobiology and cryomedicine, 23, Pereyaslavskaya Str., 61015 Kharkiv, Ukraine*

In this paper the cooling process cryomicroscopy of 0.15 M of isotonic sodium chloride solution was conducted. It was shown that there is liquid – liquid phase change before the crystallization process. As a result, the coarse system (highly concentrated emulsion) was formed. The dispersed phase and the disperse medium in a binary system with the same qualitative chemical composition differ in concentration. Therefore, the greater is the volume ratio of the coexisting phases, the greater is the difference in their quantitative compositions. The dispersed phase, that composes the main volume in the system under investigation, should have lower NaCl concentration than the disperse medium and the initial solution. In this case it will be hypotonic (and disperse medium – hypertonic) in relation to cytoplasm of human internal environment. This physical-chemical factor, which hasn't been considered previously, might be responsible for osmotic damage in living cells during cryopreservation of cell suspensions.

**KEY WORDS:** phase changes (transitions), liquid phase separation, crystallization, dispersed system, cryoprotectors.

**УТВОРЕННЯ МЕТАСТАБІЛЬНИХ РІДКИХ ФАЗ В ІЗОТОНІЧНОМУ РОЗЧИНІ НАТРІЮ  
ХЛОРИДУ ПРИ ОХОЛОДЖЕННІ**

О.Т. Ходько

*Институт проблем криобіології і криомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, м. Харків, 61015, Україна*

Методом криомікроскопії процесу охолодження 0,15 М ізотонічного водного розчину натрію хлориду показано, що процесу кристалізації льоду передують фазовий перехід типу рідина – рідина (ліквация), внаслідок чого утворюється грубодисперсна система – висококонцентрована емульсія. Дисперсна фаза і дисперсійна середина в бінарній системі маючи однаковий якісний склад відрізняються за концентрацією, отже, чим більше співвідношення об'ємів співіснуючих фаз, тим більше розрізняється їх кількісний склад. Дисперсна фаза, що утворює основний об'єм досліджуваної в цієї роботі системи, повинна мати концентрацію NaCl нижче, ніж дисперсійна середина і початковий розчин. Отже, вона буде гіпотонічною, а дисперсійна середина гіпертонічною.

відносно цитоплазми клітин внутрішньої середі організму людини. Цей фізико-хімічний фактор, який раніше не брався до уваги, може бути причиною осмотичних пошкоджень живих клітин при охолодженні клітинної суспензії під час кріоконсервування.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** фазові перетворення (переходи), ліквідація, кристалізація, дисперсні системи, кріопротектори.

Криоконсервирование биологических объектов сегодня является одним из высокотехнологичных приоритетных отраслей биотехнологии. Подавляющее большинство этих процессов производится с применением различных химических веществ, в присутствии которых резко повышается процент выживших клеток в процессе охлаждения-отогрева клеточной суспензии. Такие вещества в криобиологии обобщенно называются кріопротекторами. Исторически первым из них был глицерин [1].

Основой для подавляющего большинства физиологических растворов является 0,15 М (0,9 %) водный раствор натрия хлорида, который является изотоничным по отношению к клеткам крови. Эта концентрация соответствует концентрации NaCl в их плазме. Развитие практической и теоретической криобиологии делает актуальным изучение физико-химических процессов, сопровождающих охлаждение-отогрев биологических систем.

Клеточная суспензия на этапе криоконсервирования (криобиологическая система) представляет собой дисперсную систему, в которой дисперсной фазой являются клетки, а дисперсионной средой – физиологический раствор, в который добавлен кріопротектор. Для понимания процессов, имеющих место в процессе охлаждения суспензии, и определения факторов кріоповреждений необходимо изучать, в том числе, и фазовые превращения в среде, окружающей клетки.

В работе Г.П. Вишневской с соавторами методом электронного парамагнитного резонанса было показано, что 15 %-ный водный раствор глицерина при охлаждении путем погружения его в жидкий азот стеклуется по всему объему [2].

В водно-глицериновых растворах с содержанием глицерина 20 % и 45 % при охлаждении – отогреве был обнаружен фазовый переход типа жидкость – жидкость (ФПТЖ-Ж), приводящий к появлению двух аморфных фаз, а в системе вода – диметилсульфоксид (ДМСО) – NaCl были обнаружены как ФПТЖ-Ж, так и последующая кристаллизация [3, 4].

Указанные системы содержат в своем составе кріопротектор, но для понимания того, как его присутствие изменяет фазовое поведение раствора, что в свою очередь влияет на выживание клеток, и для понимания механизма действия кріопротекторов, необходимо знать какие фазовые переходы происходят в базовой среде – 0,15 М водном растворе натрия хлорида.

Фазовая диаграмма (точнее диаграмма фазового равновесия) этой системы эвтектического типа хорошо известна [5]. Согласно ей в равновесных условиях в доэвтектической концентрации при понижении температуры до точки фазового перехода образуется лед, а оставшаяся часть раствора становится более концентрированной по NaCl. В точке эвтектики (23 % NaCl при  $-21\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) выделение кристаллов NaCl и льда происходит одновременно.

Исходя из этого, в криобиологии утвердились представления о том, что вследствие образования льда клетки начинают контактировать с раствором более высокой тоничности, что должно приводить к их дегидратации [6, 7]. В теоретических и экспериментальных работах Е.А. Гордиенко, С.Е. Коваленко, Н.М. Шпаковой, С.С. Ершова, О.Е. Нипот также рассматривались только гипертонические растворы для суспендирования клеток [8, 9, 10, 11].

Равновесные условия предполагают, что изменение параметров состояния (здесь температура) происходит с бесконечно малой скоростью, и они являются научной абстракцией. Все реальные процессы протекают вдали от равновесия [12]. В неравновесных условиях могут появляться метастабильные фазы, не отображаемые на диаграммах фазового равновесия.

Часто в переохлажденных гомогенных растворах ниже некоторой температуры, как результат термодинамической неустойчивости, перед выделением кристаллических фаз происходит ФПТЖ-Ж, который называют ликвацией или расслаиванием раствора. Этот процесс характеризуется выделением каплевидных областей, отличных по химическому составу от матричной фазы [13, 14]. Различают стабильную и метастабильную ликвацию. Первая может иметь место выше линии ликвидуса, вторая только в подликвидусной области при переохлаждении. Термодинамика обоих видов ликвации одинакова, но кинетика их сильно различается. Скорость обмена веществом между фазами при метастабильной ликвации намного ниже из-за большей вязкости и в этом случае не происходит полного расслаивания раствора на два несмешивающихся между собой слоя, а образуется дисперсная система, где одна фаза распределена в другой. Процесс незавершенного расслаивания принято называть жидкостным фазовым разделением [15]. В этом случае анализировать химический состав сосуществующих фаз крайне затруднительно вследствие практической невозможности их механического разделения.

С.Я. Френкель и В.А. Каргин считают, что процессы кристаллизации при образовании новой фазы в полимерных растворах являются вторичными [16].

Наряду с этим, В.М. Залкиным [17] были сформулированы представления о превращении истинного водного раствора NaCl в коллоидный, мотивируемые изменением структуры воды при температурах немного превышающих 0 °C и приводящих к резкому снижению растворимости NaCl. Автор считает, что фазовая диаграмма системы вода – NaCl является неполной.

В случае ликвации в первоначально однофазном изотоническом растворе образуется две жидкие фазы с концентрацией NaCl как выше, так и ниже исходной, и, соответственно, отличающиеся по тоничности. Если в системе будут находиться клетки, то они потенциально могут реагировать на это путем обмена водой между цитоплазмой и суспендирующим раствором в сторону установления одинакового значения ее химического потенциала по обе стороны полупроницаемой клеточной мембраны.

Следствием процесса установления осмотического равновесия будет изменение клеточного объема, который уменьшится в клетках, находящихся в гипертонической фазе, и увеличится в гипотонической. Увеличение клеточного объема с высокой вероятностью может привести к осмотическому лизису и стать одним из факторов криоповреждений.

J.E. Tanner [5] при визуальном изучении процессов быстрого охлаждения растворов солей NaCl, KCl, CaCl<sub>2</sub> не учитывал неравновесность системы, и использованная им методика практически не позволяла наблюдать процесс фазового перехода в динамике, поскольку время охлаждения образца раствора толщиной около 20 мкм составляло порядка 0,1 с.

Цель работы – установить природу фазовых переходов в 0,15 М водном растворе NaCl при охлаждении в термодинамически неравновесных условиях, которые близки к реальным режимам криоконсервирования.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служил 0,15 М (0,9 %) изотонический водный раствор NaCl производства “Лубныфарм”.

Микроскопические исследования процесса отогрева замороженного раствора проводили в капле объемом 25 мкл, наносимой на поверхность стеклянной чашки Петри, которая при свободном растекании по поверхности стекла имела диаметр 7-9 мм, что превышает поле зрения микроскопа при выбранном увеличении. Образцы охлаждались однократно путем обдува парами жидкого азота под объективом микроскопа из горловины сосуда Дьюара с высоты 20-30 мм над образцом без внесения затравок кристаллизации. Охлаждение объектов в программных замораживателях также производится парами сжиженного азота. Общее число экспериментов – 7.

Микроскопию в проходящем свете проводили на микроскопе PZO Warszawa (Польша) результаты фиксировали в видео режиме цифровой микроскопической камерой “LEVENHUK C 130” (Китай). Во всех случаях увеличение составляло  $\times 80$ . Промежутки времени определялись по видеogramме. В качестве объекта сравнения была выбрана бидистиллированная вода.

Зависимость температура – время (термический анализ по Курнакову) снимали в образцах раствора объемом 1 мл, помещенных в криопробирку “Nunc” (США) со скоростью охлаждения 2 градуса в минуту на программном замораживателе ЗП – 10 разработки и производства Специального конструкторского и технологического бюро с опытным производством (СКТБ с ОП) ИПКиК НАН Украины.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На термограмме отогрева исследуемого раствора отсутствует температурная остановка (плато плавления), а регистрируется излом в диапазоне  $-4^{\circ}\text{C} \div -1^{\circ}\text{C}$ , что согласно принципу непрерывности и соответствия Н.С. Курнакова свидетельствует об имеющем место в системе фазовом превращении. Размытость по температуре характерна для растворов, которые изменяют свое фазовое состояние не в точке, а в определенном температурном диапазоне [18].

При охлаждении образца – капли исследуемого раствора, в поле зрения вначале появляются свободноплавающие частицы второй фазы, имеющие преимущественно округлые контуры (Рис. 1 и 2).

За время примерно 10 – 15 с их свободное плавание прекращается и формируется связнодисперсная система с четко выраженными частицами дисперсной фазы, которые разделены прослойками дисперсионной среды (Рис. 3).

При дальнейшем охлаждении на исходно однородной поверхности частиц дисперсной фазы (Рис. 3) наблюдается появление вогнутых участков (Рис. 4 и 5). Они появляются и исчезают в хаотическом порядке в пределах контура частиц. При продолжении охлаждения количество этих участков возрастает, и они уже не исчезают с поверхности, образуя как кратеры, так и поры (Рис. 4).

В какой-то момент появляется перемещающийся фронт фазового превращения (Рис. 5) (несколько выше пунктирной линии), приводящий к потускнению микроскопической картины за время порядка 6 с в поле зрения. После завершения этого процесса видимых изменений на поверхности частиц дисперсной фазы не наблюдалось.

При охлаждении контрольного объекта – бидистиллированной воды, которое описано в [19], наблюдается образование льда и выделение пузырей растворенного воздуха. Формирование второй фазы (льда) здесь протекает без видимых деформаций ее поверхности.

Морфологическая картина охлажденного образца с анизометрическими формами частиц дисперсной фазы характерна для аморфной грубодисперсной системы – высококонцентрированной эмульсии [20, 21].

Появление и исчезновение на начальном этапе вогнутых участков на поверхности частиц дисперсной фазы указывает на их жидкостную природу и подтверждает, что изучаемая система является эмульсией.



Рис. 1. Начальный этап формирования дисперсной системы.

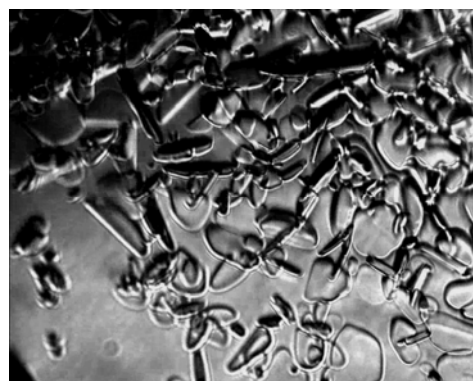


Рис. 2. Начальный этап формирования дисперсной системы. Второй эксперимент.

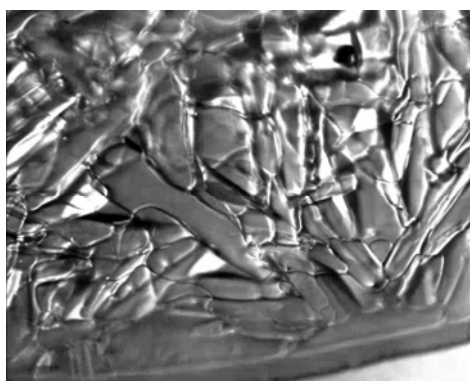


Рис. 3. Сформированная связнодисперсная система.

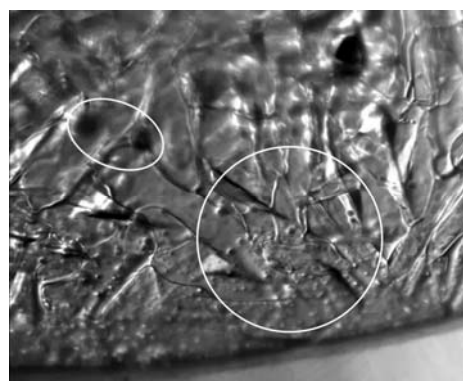


Рис. 4. Кратеры и поры в частицах дисперсной фазы – проявление процесса залечивания. Состояние через 50 с от состояния на Рис. 3.



Рис. 5. Кристаллизация дисперсной фазы (выше пунктирной линии). Состояние через 55 с от состояния на Рис. 4.

Такие явления происходят в результате обмена веществом между фазами в условиях термодинамической неравновесности. Изменение химического состава, особенно в растворах электролитов, ведет к изменению удельных показателей, в том числе объема [22]. Молекулы воды в растворе электролита находятся как в свободном состоянии, так и в составе гидратных оболочек, имеющих несколько слоев. При перемещении ион тянет их за собой, что приводит к изменению объема фазы на величину, значительно превышающую его собственный объем [23]. По мере повышения концентрации электролита увеличивается количество молекул воды, входящих в состав гидратной оболочки, в которой структура воды резко отличается от объемной из-за действия мощного электростатического поля иона, создающего в первой гидратной оболочке давление в десятки тысяч атмосфер [22]. Это приводит к изменению удельного объема, диэлектрической проницаемости и других показателей воды. Образование по мере концентрирования раствора электролита ионных двойников и тройников [23] в свою очередь также изменяет строение гидратных оболочек.

М.Н. Родниковой сформулированы представления о роли упругости пространственной сетки водородных связей ассоциированных растворителей, к которым относится и вода, в процессах выталкивания молекул примесей к местам нарушения структуры сетки и к фазовым границам, что вызывает образование областей повышенной концентрации одного из компонентов [24, 25].

Процессы переноса в растворах электролитов очень многообразны и сложны. Мощные электрические поля ионов способны сильно изменять структуру воды в своем окружении, влиять на ориентацию ее дипольных молекул и соответственно на удельные характеристики раствора [26]. Это же взаимодействие вполне может препятствовать образованию кристаллической решетки льда при охлаждении и, вероятно, что без предшествующего процесса ликвации в растворе кристаллизация воды вообще невозможна.

Помимо этих процессов на объем фазы влияет температурная зависимость плотности и частичное испарение молекул воды из образца.

Объем фазы изменяется пропорционально кубу линейных размеров, а площадь пропорционально квадрату, что приводит к появлению избытка поверхности и соответственно поверхностной энергии при уменьшении размера частицы. Этот избыток устраняется самопроизвольным переносом вещества с поверхности вовнутрь фазы под действием сил межмолекулярного взаимодействия. Такой релаксационный процесс адаптации фазовой поверхности к изменяющимся термодинамическим условиям получил название «залечивание» [27].

Наблюдаемая картина деформации поверхности дисперсной фазы, наиболее вероятно, является внешним проявлением этого процесса.

В начале проявления процесса залечивания наблюдается полное восстановление целостности поверхностного слоя, но по мере продолжения охлаждения вогнутые участки сохраняются, приводя к появлению сплошных пор и кратеров на поверхности частицы. Поверхностное натяжение увеличивается по мере удаления системы от критической температуры смещения, где оно имеет нулевое значение [21]. Повидимому, это приводит к увеличению вязкости раствора и замедлению процессов релаксации.

Формирование пористых структур в пленках раствора при фазовом распаде является частым явлением. Так, в частности, оно наблюдалось при изучении фазовых превращений в клеточном соке чеснока и в частицах дисперсной фазы в водных растворах глицерина при охлаждении-отогреве [19, 3]. Технология TIPS – thermally

induced phase separation – используется в процессе изготовления пористых мембран из пленок растворов полимеров [28].

После завершения фазового перехода, начальная стадия которого представлена на (Рис. 5), капля приобретает твердую консистенцию и в отличие ото льда, полученного из бидистиллированной воды, легко отделяется от стеклянной подложки что, вероятно, связано с гетерогенностью ее строения. Из этих наблюдений следует, что в системе произошел процесс кристаллизации. Оптически однородная среда дисперсной фазы эмульсии при этом мутнеет вследствие ее превращения в поликристалл, который обладает большим светорассеянием, чем исходная капля.

Несмотря на то, что образуемая эмульсия является метастабильной фазой, время ее существования может оказаться достаточным для проявления осмотических реакций со стороны находящегося в ней биообъекта.

В данном наблюдении от момента начала формирования эмульсии до кристаллизации прошло около 2,5 мин. Перед кристаллизацией система представляет собой высококонцентрированную эмульсию, в которой суммарный объем частиц жидкой дисперсной фазы значительно превышает объем также жидкой дисперсионной среды, которая вырождается в прослойки между ними. Исходя из этого ясно, что основной объем системы занимает фаза с меньшей концентрацией NaCl. Если в этих условиях в системе находилась бы клеточная суспензия, то большая часть клеток оказалась в гипотонической по отношению к цитоплазме среде, что потенциально способно вызвать осмотические повреждения.

При отогреве изучаемой системы на тепловой эффект процесса плавления льда накладывается тепловой эффект смешения воды с NaCl, что приводит к исчезновению на термограмме характерной для индивидуальных веществ температурной остановки (плато плавления) во время фазового перехода. При охлаждении ликвация и кристаллизация в системе протекают в весьма близких термодинамических условиях, что затрудняет их идентификацию на термограмме. Выраженные проявления ликвации имеют место в природе при замерзании морской воды [29].

## ВЫВОДЫ

При охлаждении 0,15 М водного раствора натрия хлорида в неравновесных термодинамических условиях имеет место фазовый переход типа жидкость – жидкость (ликвация), приводящий к появлению метастабильной грубодисперсной системы – высококонцентрированной эмульсии.

При продолжении подвода хладагента к сформированной аморфной дисперсной системе происходит кристаллизация дисперсной фазы.

Жидкая дисперсная фаза, составляющая основной объем метастабильной системы, имеет концентрацию растворенного NaCl меньше, чем исходный изотонический раствор, и она будет гипотонична по отношению к цитоплазме живых клеток, что может стать повреждающим фактором при криоконсервировании.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Смит О. Биологическое действие замораживания и переохлаждения / О. Смит – М.: Изд-во иностранной литературы, 1963. – 503с. / Smit O. Biologicheskoe deystvie zamorajivaniya i pereohlajdeniya / O. Smit. – М.: Izd-vo inostrannoy literatury', 1963. – 503s.
2. Структурные изменения и фазовые переходы в водных растворах нитрата гадолиния в процессе их замораживания / Г.П. Вишневецкая [и др.] // Физика твердого тела. – 2003., том 45, вып. 7. С. 1263 – 1266. / Strukturny'e izmeneniya i fazovy'e perehody' v vodny'h rastvorah nitrata gadoliniya v processe ih zamorajivaniya / G.P. Vishnevskaya [i dr.] // Fizika tverdogo tela. – 2003., tom 45, vy'p. 7. S. 1263 – 1266./
3. Ходько А.Т. Критические явления, фазовые переходы и физические состояния в водно – глицериновых растворах при охлаждении – отогреве / А.Т. Ходько // Вісник Харківського національного

ун - ту. – 2012. – № 1026. – Хімія. Вип. 21 (44). – С. 177 – 184. / Hodko A.T. Kriticheskie yavleniya, fazovy'e perehody' i fizicheskie sostoyaniya v vodno – glicerinovy'h rastvorah pri ohlajdenii – otogreve / A.T. Hodko // Vi'snik Harki'vs'kogo naci'onaln'ogo un - tu. – 2012. – № 1026. – Hi'mi'ya. Vip. 21 (44). – S. 177 – 184.

4. Ходько А.Т. Фазовые превращения в криопротекторной системе вода-диметилсульфоксид / А.Т. Ходько // Вісник Харківського національного ун - ту. – 2014. – № 1136. – Хімія. Вип. 24 (47). – С. 118 – 125. / Hodko A.T. Fazovy'e prevrasch'eniya v krioprotekturnoy sisteme voda - dimetilsul'foksid / A.T. Hodko // Vi'snik Harki'vs'kogo naci'onaln'ogo uni'versitetu. – 2014. – № 1136. Hi'mi'ya. Vip. 24 (47). – S. 118 - 125.

5. Tanner J.E. Observation of rapid freezing of salt solutions / J.E. Tanner // Cryobiology. – 1975. – V. 12. – № 4. – P. 353 – 363.

6. Life in the frozen state / edited by Barry J. Fuller, Nick Lane, Erica E. Benson. Boca Raton London New York Washington. – 2004. – 663 p.

7. Низкотемпературная кристаллизация в биологических системах / Пушкарь Н.С. [и др.]. – К.: Наукова думка, 1972. – 242 с. / Nizkotemperaturnaya kristallizaciya v biologicheskikh sistemah / Pushkar' N.S. [i dr.]. – К.: Naukova dumka, 1972. – 242 s./

8. Шпакова Н.М. Гіпертонічний криогемоліз еритроцитів ссавців в електролітному та неелектролітному середовищі / Н.М. Шпакова, С.С. Ершов, О.Є. Ніпот // Біологія тварин. – 2010. – Т. 12. – № 2. – С. 524 – 530. / Shpakova N.M. Gi'pertonichniy kri'ogemoli'z eri'trociti'v ssavci'v v elektroli'tnomu ta neelektroli'tnomu seredovisch'i' / N.M. Shpakova, S.S. Ershov, O.E. Ni'pot // Bi'ologiya tvarin. – 2010. – T. 12. – № 2. – S. 524 – 530.

9. Шпакова Н.М. Гипертонический криогемоліз эритроцитов млекопитающих / Н.М. Шпакова, С.С. Ершов // Пробл. криобиологии. – 2006. – № 3. – С. 286-291. / Shpakova N.M. Gipertonicheskiy kriogemoliz e'ritrocitov mlekopitayusch'ih / N.M. Shpakova, S.S. Ershov // Probl. kriobiologii. – 2006. – № 3. – S. 286-291.

10. Гордиенко Е.А. Основные закономерности явления гипертонического криогемоліза / Е.А. Гордиенко, С.Е. Коваленко // Пробл. криобиологии. – 1997. – № 3. – С. 3-7. / Gordienko E.A. Osnovny'e zakonomernosti yavleniya gipertonicheskogo kriogemoliza / E.A. Gordienko, S.E. Kovalenko // Probl. kriobiologii. – 1997. – № 3. – S. 3-7.

11. Гордиенко Е.А. Биофизическая модель явления гипертонического криогемоліза / Е.А. Гордиенко, С.Е. Коваленко // Пробл. криобиологии. – 1996. – № 4. – С. 24-32. / Gordienko E.A. Biofizicheskaya model' yavleniya gipertonicheskogo kriogemoliza / E.A. Gordienko, S.E. Kovalenko // Probl. kriobiologii. – 1996. – № 4. – S. 24-32.

12. Кобеко П.П. Аморфные вещества / П.П. Кобеко. – М.– Л.: Изд-во АН СССР, 1952. – 432с. / Kobeko P.P. Amorfny'e veshchestva / P.P. Kobeko. – М. – Л.: Izd – vo AN SSSR, 1952. – 432s.

13. Андреев И.С. Явления ликвации в стеклах / И.С. Андреев, О.В. Мазурин, Е.А. Порай-Кошиц – Л.: Наука, 1974. – 220 с. / Andreev I.S. Yavleniya likvacii v steklah / I.S. Andreev, O.V. Mazurin, E.A. Poray-Koshic – L.: Nauka, 1974. – 220 s.

14. Фельц А. Аморфные и стеклообразные неорганические твердые тела: Пер. с нем. / А. Фельц – М: Мир, 1986. – 558с., ил. / Fel'c A. Amorfny'e i stekloobrazny'e neorganicheskie tverdy'e tela: Per. s nem. / A. Fel'c – М: Mir, 1986. – 558 s., il.

15. Дерябин В.А. Физическая химия дисперсных систем / В.А. Дерябин, Е.П. Фарафонтובה – Екатеринбург. Издательство Уральского университета, 2015. – 86 с. / Deryabin V.A. Fizicheskaya himiya dispersny'h system / V.A. Deryabin, E.P. Farafontova – Ekaterinburg. Izdatel'stvo Ural'skogo universiteta, 2015. – 86 s.

16. Барте́нев Г.М. Физика полимеров / Г.М. Барте́нев, С.Я. Френкель. – Л.: Химия, 1990. – 432 с. / Bartenev G.M. Fizika polimerov / G.M. Bartenev, S.Ya. Frenkel'. – L.: Himiya, 1990. – 432 s.

17. Залкин В.М. О превращении раствора NaCl в воде при низких температурах в коллоидный раствор / В.М. Залкин // Журнал физической химии. – 1995. – Т. 69. – № 2. – С. 379 – 382. / Zalkin V.M. O prevrasch'eniі rastvora NaCl v vode pri nizkih temperaturah v kolloidny'y rastvor / V.M. Zalkin // Jurnal fizicheskoy himii. – 1995. – t. 69. – № 2. – S. 379 – 382.

18. Ландау Л.Д. Статистическая физика. Часть 1. / Л.Д. Ландау, Е.М. Лифшиц – М: Наука. – 1976. – 584 с. илл. / Landau L.D. Statisticheskaya fizika. CHast' 1 / L.D. Landau, E.M. Lifshic – М: Nauka. – 1976. – 584 s. ill.

19. Ходько А.Т. Природа и динамика фазовых превращений при охлаждении – отогреве клеточного сока чеснока / А.Т. Ходько, Ю.С. Лысак // Біофізичний вісник. – 2014. – Вип. – 32 (2). – С. 48 – 60. / Hodko A.T. Priroda i dinamika fazovy'h prevrasch'eniі pri ohlajdenii - otogreve kletochnogo soka chesnoka / A.T. Hodko, YU.S. Ly'sak // Bi'off'izichniy vi'snik – 2014. – Vip. – 32 (2). – S. 48 - 60.

20. Бабак В.Г. Высококонцентрированные эмульсии. Физико-химические принципы получения и устойчивость / В.Г. Бабак // Успехи химии. – 77 (8). – 2008. – С. 729–756. / Babak V.G. Vy'sokokoncentrirrovanny'e e'mul'sii. Fiziko-himicheskie principy' polucheniya i ustoychivost' / V.G. Babak // Uspehi himii – 2008. – 77 (8). – S. 729 – 756.



21. Гельфман М.И. Коллоидная химия / М.И. Гельфман, О.В. Ковалевич, В.П. Юстратов – СПб.: Издательство “Лань”. – 2004. – 336 с. / Gel'fman M.I. Kolloidnaya himiya / M.I. Gel'fman, O.V. Kovalevich, V.P. Yustratov – SPb.: Izdatel'stvo “Lan”. – 2004. – 336 s.
22. Микулин Г.И. Вопросы физической химии растворов электролитов / Г.И. Микулин – Л.: Химия, 1968. – С. 126 – 139. / Mikulin G.I. Voprosy' fizicheskoy himii rastvorov e'lektrolitov / G.I. Mikulin – L.: Himiya, 1968. – S. 126 – 139.
23. Измайлов Н.А. Электрохимия растворов / Н.А. Измайлов Изд. 3 – е, испр., М.: Химия, 1976. – 488 с. / Izmaylov N.A. E'lektrohimiya rastvorov / N.A. Izmaylov Izd. 3 – e, ispr., M.: Himiya, 1976. – 488 s.
24. Родникова М.Н. Особенности растворителей с пространственной сеткой Н-связей / М.Н. Родникова // Журнал физич. химии. – 1993. – Т. 67. – № 2. – С. 275 – 280. / Rodnikova M.N. Osobennosti rastvoriteley s prostranstvennoy setkoy N-svyazey / M.N. Rodnikova // Jurnal fizich. himii. – 1993. – Т. 67. – № 2. – С. 275–280.
25. Структурная самоорганизация в растворах и на границе раздела фаз / Отв. ред. А.Ю. Цивадзе. – М: Издательство ЛКИ, 2008. – 544 с. / Strukturnaya samoorganizatsiya v rastvorah i na granice razdela faz / Отв. red. A.Yu. Civadze. - M: Izdatel'stvo LKI, 2008. – 544 s.
26. Эрдеи-Груз Т. Явления переноса в водных растворах / Т. Эрдеи-Груз Пер. с англ. – М: Мир, 1976. – 597 с., ил. / E'rdei-Gruz T. Yavleniya perenosa v vodny'h rastvorah / T. E'rdei-Gruz Per. s angl. – M: Mir, 1976. – 597 s., il.
27. Волынский А.Л. Залечивание межфазной поверхности в полимерных системах / А.Л. Волынский, Н.Ф. Бакеев // Высокомолекулярные соединения. Серия А. – 2009. – Т. 51. – № 10. – С. 1783–1816. / Voly'nskiy A.L. Zalechivanie mejfaznoy poverhnosti v polimerny'h sistemah / A.L. Voly'nskiy, N.F. Bakeev // Vy'sokomolekulyarny'e soedineniya., Seriya A. – 2009. – Т. 51. – № 10. – С. 1783–1816.
28. Изучение формирования пористой структуры мембран при фазовом распаде раствора полиэтилсульфона / [Астахов Е.Ю. и др.] // Высокомолекулярные соединения, Серия А. – 2011. – Т. 53. – № 7. – С. 1090–1097. / Izuchenie formirovaniya poristoy struktury' membran pri fazovom raspade rastvora polie`tilsul'fona / [Astahov E. YU. I dr.] // Vy'sokomolekulyarny'e soedineniya, Seriya A. – 2011. – Т. 53. – № 7. – С. 1090–1097.
29. Лед и снег. Свойства, процессы, использование. Под ред. У.Д. Кингери. Пер. с англ. – М: Мир, 1966. – 480 с., ил. / Led i sneg. Svoystva, processy', ispol'zovanie. Pod red. U.D. Kingeri. Per. s angl. – M: Mir, 1966. – 480 s., il.