КОЛЛОИДНЫЙ ЖУРНАЛ / COLLOID JOURNAL, 2026, Т. 88. № 4. С. 563–575

DOI: 10.31857/S0023291226040093
УДК 544.723.2+577.151

Оригинальная статья

Роль галогенид-анионов в модуляции коллоидно-химических свойств лизоцима и его каталитической функции

М.Г. Чернышева*, В.Д. Криулина, Г.А. Бадун

Химический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация
**E-mail: chernyshevamg@my.msu.ru*

Аннотация. Исследовано влияние галогенид-ионов F^-, Cl^-, Br^-, I^- на поведение лизоцима в системе водный раствор–толуол и его бактериолитическую активность. Добавление NaF приводит к тому, что молекулы лизоцима образуют более плотный слой на межфазных границах за счет стабилизации белковой глобулы и усиления гидрофобных взаимодействий. В результате добавка NaF не влияет на ферментативную активность лизоцима. В отличие от фторида, добавление NaCl при той же концентрации приводило к снижению адсорбции и каталитической активности фермента. Вероятной причиной является эффективное экранирование электростатических взаимодействий, а также взаимная компенсация гидрофобного притяжения и стерического отталкивания. Хаотропные анионы, усиливают притяжение между молекулами в адсорбционном слое, но одновременно снижают каталитическую активность. В случае сильного хаотропа (NaI) это объясняется дестабилизацией сетки водородных связей как в растворителе, так и в структуре самого белка, что повышает сродство белка к гидрофобной поверхности, но негативно сказывается на его ферментативной функции. Ключевым фактором, определяющим каталитические параметры (v_{max}, K_m) в присутствии космотропных анионов и слабого хаотропа (NaBr), является молярная концентрация соли: с ее ростом значения параметров снижались. При этом отношение v_{max}/K_m для этих анионов оставалось практически независимым от концентрации, а бромид-анион оказался наиболее благоприятным для поддержания активности лизоцима среди изученных солей.

Ключевые слова: лизоцим, хаотропные анионы, космотропные анионы, адсорбция, граница раздела жидкость–жидкость

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (проект № 25-23-00845).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

Вклад авторов в публикацию. Концепция статьи — ЧМГ; проведение экспериментов — ЧМГ, КВД; анализ данных литературы — ЧМГ, КВД; написание рукописи — ЧМГ; редактирование — КВД, БГА; работа со списком литературы и рисунками — ЧМГ, КВД, БГА.

Ссылка для цитирования: Чернышева М.Г., Криулина В.Д., Бадун Г.А. Роль галогенид-анионов в модуляции коллоидно-химических свойств лизоцима и его каталитической функции. *Коллоидный журнал / Colloid Journal*. 2026. Т. 88. № 4. С. 563–575. https://doi.org/10.31857/S0023291226040093

© Чернышева М.Г., Криулина В.Д., Бадун Г.А., 2026

КОЛЛОИДНЫЙ ЖУРНАЛ / COLLOID JOURNAL, 2026, vol. 88, no. 4, pp. 563–575

DOI: 10.31857/S0023291226040093 Original Article

Halide Anion's Role in the Modulation of Colloidal Chemical Properties of Lysozyme and Its Catalytic Function

M.G. Chernysheva*, V.D. Kriulina, G.A. Badun

Department of Chemistry, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation
**E-mail: chernyshevamg@my.msu.ru*

Abstract. The effect of the halide ions F^-, Cl^-, Br^-, and I^- on the behavior of lysozyme in the aqueous–toluene system and its bacteriolytic activity has been studied. The addition of NaF causes lysozyme molecules to form a denser layer at the interphase due to stabilization of the protein globule and enhanced hydrophobic interactions. As a result, the addition of NaF does not affect the enzymatic activity of lysozyme. A different effect was found with the addition of NaCl: in the same molar concentration, there was a decrease in both adsorption and catalytic activity of the enzyme. The probable reason is the effective shielding of electrostatic interactions, as well as the mutual compensation of hydrophobic attraction and steric repulsion. Chaotropic anions enhance the attraction between molecules in the adsorption layer, but at the same time reduce the catalytic activity. In the case of strong chaotrope (NaI), this is explained by the destabilization of the hydrogen bond network both in the solvent and in the structure of the protein itself, which increases the affinity of the protein to the hydrophobic surface, but negatively affects its enzymatic function. The key factor determining the catalytic parameters (v_{max}, K_m) in the presence of cosmotropic anions and weak chaotrope (NaBr) is the molar salt concentration: with its increase, the parameter values decreased. At the same time, the v_{max}/K_m ratio for these anions remained almost independent of concentration, and the bromide anion proved to be the most favorable for maintaining lysozyme activity among the studied salts.

Keywords: lysozyme, chaotropic anions, cosmotropic anions, adsorption, liquid–liquid interface

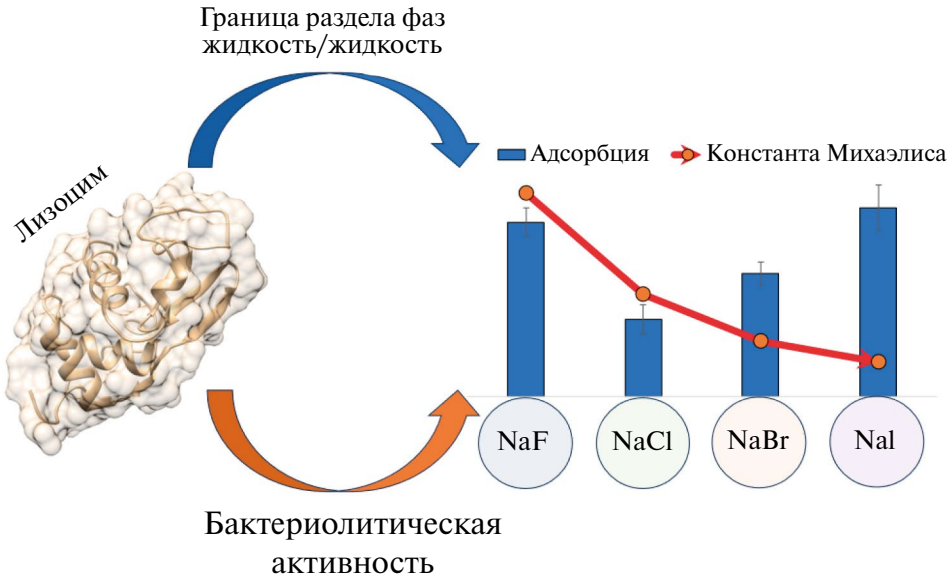
Funding. The work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 25-23-00845).

Conflict of interest. The authors declare no conflicts of interest.

Authors' contributions. The concept of the article — CMG; experiments providing —CMG, KVD; literature analysis — CMG, KVD; writing a draft — CMG; editing — KVD, BGA; working with the list of references and drawings — CMG, KVD, BGA.

For Citation: Chernysheva M.G., Kriulina V.D., Badun G.A. Halide Anion's Role in the Modulation of Colloidal Chemical Properties of Lysozyme and Its Catalytic Function. *Kolloidnyi zhurnal / Colloid Journal*. 2026;88(4):563–575. (In Russ.) https://doi.org/10.31857/S0023291226040093

© Chernysheva M.G., Kriulina V.D., Badun G.A., 2026



ВВЕДЕНИЕ

Ряд ионов Гофмейстера определяет их влияние на различные свойства белков и используется, в частности, при выборе условий высаливания из водной среды. Для большинства белков последовательность анионов Гофмейстера выглядит следующим образом (от космотропов к хаотропам):

$$SO_4^{2-} > HPO_4^{2-} > F^- > CH_3COO^- > Cl^- > Br^- > NO_3^- > I^- > ClO_4^- > SCN^-.$$

Хотя необходимо отметить, что в зависимости от изучаемого свойства ионы «меняются» местами в последовательности, либо эффект усиливается в противоположном направлении [1].

Положение аниона в ряду или отнесение его к хаотропным или космотропным определяется тем, как они влияют на структуру воды, водородные связи и межмолекулярные взаимодействия: хаотропные ионы разрушают сетку водородных связей, увеличивая ее хаотичность и динамику, а космотропные, наоборот, повышают структурный порядок и снижают подвижность молекул. Для белков это может приводить к облегчению денатурации (действие хаотропных ионов) либо к еще большему сворачиванию глобулы (действие космотропных ионов). Анализ с помощью ИК-спектрометрии структуры воды на поверхности белков в присутствии анионов показал, что хаотропные анионы индуцировали интенсивность сигналов, в то время как космотропные не оказывали влияния [2]. В цитируемой работе предложена следующая последовательность перехода от космотропных анионов к хаотропным:

$$SO_4^{2-} \approx F^- \approx \text{чистая вода} > Cl^- > Br^- \approx NO_3^- > I^- > ClO_4^- > SCN^-.$$

Для оценки эффектов анионов из ряда Гофмейстера ключевым параметром является осмотический второй вириальный коэффициент (B_{22}), который определяют, например, методами статического светорассеяния, рентгеновского и нейтронного рассеяния [3, 4]. B_{22} определяет силу отталкивания или притяжения между макромолекулами в растворе, а также их эффективный гидродинамический обътм, который включает гидратацию. По сути, этот коэффициент показывает, как соль влияет на «кажущийся размер» полимерной цепи и ее взаимодействие с окружением [5–11]. Оптимальный диапазон значений B_{22}, при которых белки должны кристаллизоваться из солевого раствора составляет от $-2\cdot10^{-4}$ до $-8\cdot10^{-4}$ мл·моль/г^2. В свою очередь, этот параметр зависит от ионной силы и pH [6, 7]. Например, для лизоцима в растворах 0.1 M NaCl и 0.1 M KCl при pH 4.5 (pI 11) значение B_{22} составляет около $-1\cdot10^{-4}$ мл·моль/г^2 [6, 7], для бромид-аниона значение снижается [12]. Поскольку при pH, близком к нейтральному, лизоцим останется положительно заряженным, то следует ожидать прямое соответствие с рядом Гофмейстера. Однако для этого белка известны эффекты как прямого, так и обратного ряда Гофмейстера. Так, например, электрофоретическая подвижность лизоцима по абсолютному значению сильно зависит от концентрации солей. Показано, что в области pH ниже изоэлектрической точки (pI лизоцима около 11) при низкой концентрации солей (до 10 мМ) модуль электрофоретической подвижности меняется согласно прямому ряду анионов Гофмейстера [13]. При повышении ионной силы по 100 мМ значение модуля электрофоретической подвижности начинает меняться согласно обратному ряду анионов Гофмейстера. Авторы объяснили наблюдаемое явление, введя в уравнение Пуассона–Больцмана дополнительный параметр, связанный с поляризуемостью и размером аниона, вклад которого увеличивается при увеличении концентрации соли [14].

Другим примером обращенного ряда Гофмейстера для лизоцима является изменение точки помутнения. Причину обращенного ряда Гофмейстера для лизоцима при низких концентрациях солей связывают с его низкой температурой помутнения – температурой, при которой белок начинает выпадать в осадок при понижении температуры. При низкой ионной силе электростатическое отталкивание молекул лизоцима приводит к увеличению растворимости. При взаимодействии хаотропных анионов с поверхностью белка поверхностный заряд понижается, что приводит к усилению белок-белкового притяжения и, следовательно, повышению точки помутнения [15]. С увеличением концентрации хаотропных анионов взаимодействие белок–белок снижается, поэтому снижается точка помутнения. Последнее связано с двумя фазовыми процессами: первая фаза описывает способность анионов сорбироваться на поверхности белка по модели Ленгмюра и приводит к нейтрализации белка, что соотносится с обратным рядом Гофмейстера [15, 16]. Вторая фаза связана с действием аниона на поверхностное натяжение растворителя у поверхности белка, что коррелирует с прямым рядом Гофмейстера [16–18].

Еще один важнейший аспект – действие ионов на активность ферментов. Здесь снова следует упомянуть, что ферментативные реакции, как правило проводят при низких концентрациях ферментов. В цитируемых выше работах исследования проводились для достаточно высоких концентраций белка (не ниже 1 г/л). Таким образом, влияние ионов на низкие концентрации фермента недостаточно изучено и является актуальным направлением исследований. В большинстве случаев влияние ионов на ферментативную активность подчиняется прямому ряду Гофмейстера: космотропы не влияют или активируют фермент, в то время как хаотропы – его ингибируют [1, 19–25]. Однако в некоторых случаях изменение активности происходит согласно обратному ряду Гофмейстера или же зависимость имеет «колоколообразную» форму [26, 27].

В настоящей работе было исследовано влияние галогенид-анионов на распределение лизоцима в системе раствор–органическая жидкость, его адсорбцию на границе раздела фаз жидкость–жидкость, а также на бактериолитическую активность. Лизоцим выбран как модельный, достаточно хорошо изученный фермент, но благодаря своей бактериолитической активности не теряющий актуальности для исследований в области биохимии и фармакологии [28, 29]. Поведение белка в системе жидкость–жидкость изучали методом радиоактивных индикаторов, что позволило непосредственно измерить количество вещества в контактирующих жидкостях и на межфазной границе. В качестве органической фазы использовали толуол, как типичный растворитель для жидких сцинтилляторов [30]. Исследования проводили в присутствии солей NaF, NaCl, NaBr и NaI. Определение коэффициента распределения лизоцима между жидкостями и его адсорбции на границе раздела жидкость–жидкость проводили при концентрации белка 0.05 г/л, что существенно ниже тех, что описаны в литературе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали лизоцим белка куриного яйца (MP Biomedicals); фторид натрия, хлорид натрия, бромид натрия и иодид натрия (х.ч., АО «Реахим», Россия); лиофилизованные клетки Micrococcus Luteus (Sigma, США). Для приготовления растворов и суспензий использовали воду, очищенную с помощью системы AquaLab (Россия), сопротивление в потоке 18 МОм, поверхностное натяжение на границе с воздухом 72 ± 1 мН/м.

Для проведения экспериментов в двухфазной системе использовали толуол (АО «Реахим», Россия), для придания сцинтилляционных свойств в него добавляли 2,5-дифенлиоксазол (АО «Реахим», Россия) в концентрации 8 г/л. Все реагенты российского производства имели категорию «х.ч.». Добавка 2,5-дифенлиоксазола не изменяла поверхностное натяжение на границе раздела толуол–вода, которое составляло 43±1 мН/м.

Получение меченного тритием лизоцима

Меченный тритием лизоцим получали с помощью метода термической активации трития согласно методике, приведенной в работе [31]. 0.3 мг лизоцима в водном растворе равномерно распределяли по стенкам стеклянного реакционного сосуда и воду удаляли лиофилизацией. Сосуд с мишенью присоединяли к специальной установке для работы с газообразным тритием. После вакуумирования систему заполняли газообразным тритием до давления 0.5 Па, при этом стенки реакционного сосуда охлаждали жидким азотом. Вольфрамовую проволоку, расположенную в центре реакционного сосуда, нагревали электрическим током до 1850 K в течение 10 с. Затем остаточный газ откачивали, заполняли систему новой порцией трития и повторяли процедуру. После этого реакционный сосуд нагревали до комнатной температуры, отсоединяли от вакуумной установки и смывали лизоцим со стенок водой. Далее в течение 7 сут проводили диализную очистку от лабильного трития, используя пробирки 8–10 кДа Float-A-Lyzer G2 Dialysis Device, периодически меняя внешний солевой фосфатный буфер (PBS, pH 7.3 ± 0.1). После диализной очистки с помощью концентраторов с диаметром пор 10 кДа уменьшили объем раствора лизоцима до 0.20 мл и провели очистку с помощью гельпроникающей хроматографии. Использовали ВЭЖХ систему Waters, колонку Ultrahydrogel Column, 1000Å, (размер частиц 12 мкм, 7.8×300 мм), скорость подвижной фазы (PBS, pH 7.3) 0.5 мл/мин, детекция при 280 нм. На всех стадиях работы измеряли радиоактивность растворов с помощью жидкостного сцинтилляционного спектрометра RackBeta 1215 (Финляндия).

Изучение распределения лизоцима в системе раствор–толуол и адсорбции на границах раздела фаз раствор–воздух и раствор–толуол.

Для исследования поведения лизоцима в системе жидкость–жидкость меченный тритием лизоцим вносили в раствор галогенида натрия таким образом, что концентрация галогенид-ионов в итоговом растворе составляла 0.15 М, а концентрация белка 0.05 мг/мл. Водная фаза представляла собой раствор лизоцима в 0.15 М водном растворе галогенида натрия, а также 0.15 М растворе галогенида натрия в 0.01 М фосфатном буфере (pH 7.4 ± 0.1). Отметим, что изучение влияния NaI в фосфатном буфере оказалось невозможным ввиду образования молекулярного иода и окрашивания им в розовый цвет толуола, что вносит существенный вклад в гашение излучения трития. Определение адсорбции лизоцима на границе раздела фаз раствор–толуол проводили методом сцинтиллирующей фазы [32–34]. К 1 мл раствора [^{3}H]лизоцима добавляли 3 мл сцинтилляционной жидкости на основе толуола. Двухфазные системы выдерживали при 25°C, пока скорость счета в двухфазной системе не переставала меняться (4 сут) [34]. Затем измеряли скорость счета всей двухфазной системы (I), скорость счета аликвоты органической фазы ($V_1 = 1$ мл) (I_1) и остатка двухфазной системы (I_2). Концентрацию меченного тритием лизоцима в объеме органической фазе (c_O) рассчитывали, как

$$c_O = \frac{I_1}{\varepsilon \cdot V_1 \cdot a}, \quad (1)$$

где a – удельная активность [^{3}H]лизоцима; ε – эффективность регистрации трития, которую определяли для каждого измерения с помощью калибровочной кривой гашения.

К остатку добавляли 1 мл толуола, снова выдерживали систему и повторяли процедуру измерения по описанной выше методике (всего 3–4 раза).

Концентрацию лизоцима в водной фазе c_W определяли по разности между его содержанием в исходном водном растворе и его содержанием в органической фазе.

Коэффициент распределения лизоцима (D) между водной и толуольной фазами рассчитывали, как отношение

$$D = \frac{c_O}{c_W}, \quad (2)$$

где c_W – концентрация лизоцима в водной фазе.

Для расчета концентрирования лизоцима на границе раздела жидкость–жидкость использовали уравнение (3):

$$A = \frac{I - I_1\frac{V_O}{V_1}}{\frac{1}{2}\varepsilon \cdot a \cdot S} = \frac{I_2 - I_1\frac{V_2}{V_1}}{\frac{1}{2}\varepsilon \cdot a \cdot S}, \quad (3)$$

где V_O – объем органической фазы, V_2 – объем органической фазы после отбора аликвоты; S – площадь границы раздела фаз; 1/2– коэффициент, учитывающий уменьшение эффективности регистрации трития в поверхностном слое из-за низкой энергии β-излучения трития (E_{max}=18.6 кэВ), частицы, испущенные в сторону водной фазы, не регистрируются.

После проведения измерений радиоактивности оставшуюся двухфазную систему использовали для измерения поверхностного натяжения ($\sigma_{толуол}$) методом висящей капли. Для этого органическую фазу переносили в кварцевую кювету, водную фазу отбирали шприцом и формировали каплю (4–5 мкл) в объеме толуола. Измерение проводили помощью анализатора краевого угла смачивания OCA 15EC (DataPhysics, Германия) в режиме "as fast as possible" в течение 20 мин. Для каждого раствора формировали по 3 капли. Анализ формы капель проводили с помощью программного обеспечения прибора. Анализ формы капли при измерении поверхностного натяжения проводили по уравнению Юнга–Лапласа.

При измерении поверхностного натяжения на границе водный раствор–воздух ($\sigma_{воздух}$) на дно кюветы наливали 1 мл раствора для уменьшения испарения капли, с помощью шприца на конце иглы формировали каплю 5–7 мкл и проводили измерение в течение 20 мин. Для каждого раствора проводили измерения по три раза. Анализ формы капли проводили также как описано выше.

Определение ферментативной активности лизоцима

Активность лизоцима определяли по отношению к клеткам *M. Luteus* с помощью турбодиметрического подхода [35, 36]. Поскольку концентрация физиологического раствора NaCl составляет 0.15 М, что соответствует 0.9 масс. % обе эти концентрации использовали и для остальных солей галогенидов. Точную навеску лиофилизованных клеток *M. Luteus* суспензировали в растворе галогенида натрия до концентрации клеток 5 мг/мл. В таком же растворе галогенида натрия растворяли точную навеску лизоцима. В полиакриловую кювету вносили раствор галогенида натрия и добавляли аликвоту суспензии клеток до конечной концентрации от 0.05 до 0.25 мг/мл. После интенсивного перемешивания измеряли оптическую плотность при 650 нм в течение 100 с. Затем вносили раствор, содержащий 4 мкг лизоцима и снова измеряли оптическую плотность после интенсивного перемешивания в течение 100 с.

Для определения ферментативной активности (A_E) использовали линейный участок изменения оптического поглощения (A) за время (t) (15–20 с):

$$A_E = \lim_{t\to 0}\left(-\frac{dA}{dt}\right). \quad (4)$$

Получали зависимость активности от концентрации клеток, которую описывали уравнением Михаэлиса–Ментен. Статистическую обработку данных и определение параметров уравнения Михаэлиса–Ментен проводили с использованием ПО Prism.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изучение влияния галогенид-анионов на поведение лизоцима в системе водный раствор–толуол и его ферментативные свойства проводили при концентрации солей 0.15 М. С помощью метода сцинтиллирующей

фазы определены коэффициенты распределения белка в системе раствор–толуол (D) и его адсорбция (A) на границе раздела фаз жидкость–жидкость (табл. 1).

Как для воды, так и для 0.01 М фосфатного буфера, не было обнаружено влияния галогенид-анионов на распределение лизоцима между толуолом и водным раствором. Отметим сразу, что поскольку специфика хроматографического выделения меченного тритием лизоцима такова, что получаемый продукт находится в солевом фосфатном буфере, то не проводили экспериментов в воде в отсутствие галогенида натрия. Значение коэффициента распределения лизоцима между водной фазой и толуолом согласуется с полученным ранее [34] для обоих случаев – вода и фосфатные буфер. Полученный результат свидетельствует о воспроизводимости используемых методик получения меченного тритием лизоцима и анализа его поведения в системе жидкость–жидкость.

В то же время в обеих системах галогенид-анионы существенно повлияли на адсорбцию лизоцима. Более того, для всех случаев показано, что адсорбция лизоцима в 0.01 М фосфатном буфере выше, чем в воде. Поскольку в фосфатном буфере происходит частичная компенсация заряда молекул, повышается плотность упаковки лизоцима в адсорбционном слое [37–39]. Тенденция влияния галогенид-анионов сохранялась: F^- увеличивал адсорбцию. В присутствии Br^- и особенно Cl^- адсорбция лизоцима существенно снижалась. Поскольку фосфат-анионы катализируют окисление I^- кислородом воздуха [40], то измерения методом жидкостной сцинтилляционой спектрометрии оказались невозможны из-за окрашивания толуольной фазы в розовый цвет молекулярным иодом. Поэтому дальнейшие эксперименты сделаны только для 0.15 М галогенидов натрия в воде.

В водной среде в присутствии F^- и I^- адсорбция лизоцима была максимальной и близкой по величине. Разница средних значений для этих анионов составила 0.05 мг/м^2, что статистически незначимо (меньше порога НСР).

Попробуем объяснить наблюдаемое явление с помощью ряда Гофмейстера. Так как F^- является сильным космотропным ионом, который сильно упорядочивает водную оболочку вокруг белка и делает взаимодействие неполярных групп со структурированной водой энергетически невыгодной [41], происходит увеличение гидрофобных взаимодействий в белковой глобуле и ее стабилизация, что способствует переходу лизоцима на межфазную границу.

Иодид-ион, как сильный хаотроп, дестабилизирует сеть водородных связей в воде, а также способен связываться с гидрофобными фрагментами глобулы [42], что способствует ее разрыхлению и высвобождению гидрофобных участков. В результате, казалось бы, противоположного действия I^- на водный раствор, этот анион также способствует выходу лизоцима на межфазную границу.

Хлорид- и бромид-ионы занимают промежуточное положение между фторидом и иодидом: бромид – хаотропный анион, поэтому адсорбция в его присутствии выше, чем в присутствии хлорид-иона. В присутствии NaCl наблюдалось самое сильное по сравнению с другими анионами снижение адсорбции. Вероятной причиной этого является подавление электростатических взаимодействий, а также баланс между гидрофобным притяжением и стерическим отталкиванием, которые взаимно компенсируют друг друга.

Таким образом, для адсорбции лизоцима на границе жидкость–жидкость выполняется следующая последовательность анионов:

$$HPO_4^{2-} > F^- \approx I^- > Br^- > Cl^-.$$

На рис. 1 показано изменение поверхностного натяжения на границе с толуолом и с воздухом для исследуемых растворов.

Таблица 1. Значения коэффициента распределения лизоцима (D) и адсорбции (A) на границе раздела фаз раствор–толуол для 0.05 г/л растворов в 0.15 М галогениде натрия. Приведены средние значения ± стандартное отклонение, $n = 3$

Table 1. Values of the lysozyme distribution coefficient (D) and adsorption (A) at the aqueous–toluene interface for 0.05 g/L solutions in 0.15 M sodium halide. The average values of ± standard deviation are given, $n = 3$

Галогенид натрия	Водный раствор		0.01 М фосфатный буфер	
	D	A, мг/м^2	D	A, мг/м^2
Без галогенида	н.д.(*)	н.д.	$(1.2 \pm 0.3) \times 10^{-3}$	1.35 ± 0.17
NaF	$(1.3 \pm 0.1) \times 10^{-3}$	0.61 ± 0.05	$(1.2 \pm 0.3) \times 10^{-3}$	3.43 ± 0.13
NaCl	$(1.1 \pm 0.3) \times 10^{-3}$	0.27 ± 0.05	$(1.2 \pm 0.2) \times 10^{-3}$	0.95 ± 0.20
NaBr	$(1.1 \pm 0.1) \times 10^{-3}$	0.43 ± 0.04	$(1.3 \pm 0.3) \times 10^{-3}$	1.41 ± 0.23
NaI	$(1.1 \pm 0.2) \times 10^{-3}$	0.66 ± 0.08	нет	нет
Наименьшая существенная разность (НСР), $p < 0.05$	$HCP = 4.34^{-4}$	$HCP = 0.069$	$HCP = 3.44^{-4}$	$HCP = 0.153$

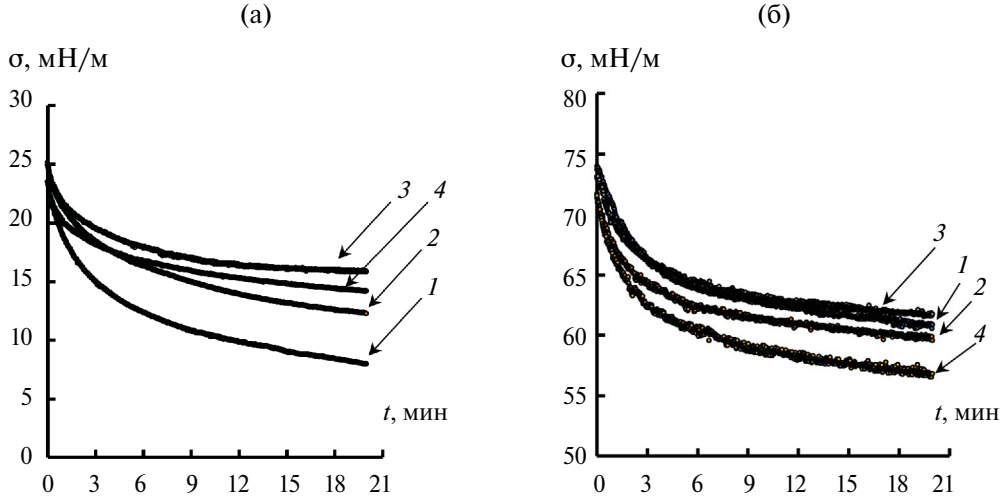


Рис. 1. Зависимость изменения поверхностного натяжения на границе раствор–толуол (а) и раствор–воздух (б) от времени для растворов 0.05 г/л лизоцима в 0.15 M NaF (*1*), NaCl (*2*), NaBr (*3*), NaI (*4*)
Fig. 1. Dependence of surface tension changes at the solution–toluene (a) and solution–air (б) interface on time for 0.05 g/L lysozyme solutions in 0.15 M NaF (*1*), NaCl (*2*), NaBr (*3*), NaI (*4*)

Показано, что поверхностное натяжение на границе с толуолом сильнее снижается (достигает 8 мН/м) в растворе с фторид-ионом ввиду упорядоченности адсорбционного слоя из «свернутых» молекул и гидрофобного взаимодействия между ними. Снижение поверхностного натяжения в остальных случаях было меньше, и предельная величина составила 12, 16 и 14 мН/м для NaCl, NaBr и NaI соответственно. С учетом погрешности измерения методом висящей капли (±1 мН/м) различия значений, полученных для NaBr и NaI, незначимы. В тоже время адсорбция лизоцима на границе раствор–толуол выше для случая с NaI по сравнению с NaBr (табл. 1). Таким образом, уменьшение величины поверхностного натяжения происходит в соответствии с прямым рядом Гофмейстера:

$$F^- > Cl^- \geq I^- \approx Br^-.$$

Для анализа результатов использовали модифицированное Файнерманом и соавт. уравнение Фрумкина [43–45]:

$$-\frac{\pi\omega_0}{RT} = \ln(1-\theta) + \theta\left(1-\frac{\omega_0}{\omega}\right) + a\theta^2, \qquad (5)$$

$$\theta = \omega\Gamma = \sum_{i=1}^{n}\omega_i\Gamma_i, \qquad (1.1)$$

где π — двумерное давление; Γ — адсорбция; θ — общее покрытие поверхности белком; ω — средняя молярная площадь белка, которая для каждого *i*-го состояния меняется по закону $\omega_i = \omega_1 + (i-1)\omega_0$ ($1 \leq i \leq n$), ω_0 — молярная площадь растворителя; *a* — параметр межмолекулярного взаимодействия.

Таким образом, на основании концентрирования вещества на границе раздела фаз по данным метода сцинтиллирующей фазы и величины поверхностного натяжения на границе радела раствор–толуол, определили параметр межмолекулярного взаимодействия (*a*) для лизоцима в присутствии каждого электролита. Используя полученные значения параметра межмолекулярного взаимодействия, нашли значение адсорбции лизоцима на границе раствор–воздух из данных поверхностного натяжения. Полученные результаты приведены в табл. 2.

На основании параметров межмолекулярного взаимодействия, можно сделать предположение, что в присутствии NaF молекулы лизоцима в адсорбционном слое склонны к уплотнению. В присутствии NaCl, напротив, $a = 0$, что свидетельствует о скомпенсированном взаимодействии, что обусловлено эффективным подавлением электростатических взаимодействий и взаимной скомпенсированностью гидрофобного притяжения и стерического отталкивания. Данное предположение подтверждается близостью к нулю второго вириального коэффициента для лизоцима в растворе NaCl с концентрацией электролита около 0.1 M. Важно отметить, что химический состав поверхности лизоцима существенно не изменяется при связывании хлорид-иона [6]. NaBr и NaI занимают «промежуточное» положение. При этом бромид-ион, согласно ряду Гофмейстера, находится ближе к хаотропам, но его действие на белок остается более мягким по сравнению с иодид-анионом, который является сильным хаотропом и может приводить к денатурации белка [46]. В этих растворах, вероятно, наблюдается более слабое, чем в NaF, притяжение между молекулами лизоцима.

Важно отметить, что ранее с помощью нейтронной рефлектометрии было показано, что при концентрации лизоцима в воде около 0.03 мг/мл образуется плотный монослой, молекулы в котором ориентированы под

Таблица 2. Параметр межмолекулярного взаимодействия молекул лизоцима в поверхностном слое (*a*) и адсорбция на границе раздела раствор–воздух (Г)

Table 2. The parameter of intermolecular interaction of lysozyme molecules in the surface layer (*a*) and adsorption at the solution–air interface (Г)

Параметры, относящиеся к лизоциму [43–45]	Галогенид натрия	*a*	Г
$\omega_0 = 4.95 \cdot 10^5$ м^2/моль $\omega_{min} = 7.72 \cdot 10^7$ м^2/моль $\omega_{max} = 2.45 \cdot 10^6$ м^2/моль	NaF	0.64	0.63
	NaCl	0.00	0.48
	NaBr	0.32	0.54
	NaI	0.40	0.61

углом к поверхности, демонстрируя промежуточное состояние между параллельной и перпендикулярной укладкой [47]. Величина поверхностной концентрации лизоцима, полученная в 0.15 М растворе галогенидов натрия на границе с воздухом также, как и на границе с толуолом, свидетельствует об образовании неплотных адсорбционных слоев.

Влияние галоген анионов на ферментативную активность лизоцима определили с помощью турбодиметрического подхода по отношению к клеткам *M. Luteus*. Зависимости скорости лизиса клеток на начальном участке кривой от их количества в суспензии, в данном случае в мг/мл, (рис. 2) описывали уравнением Михаэлиса–Ментен, из которого определяли значение константы Михаэлиса (K_m) и максимальную скорость реакции (v_{max}). В данном случае определяли кинетические параметры не по отношению к индивидуальному веществу, а по отношению к поверхности клеток. Абсолютные значения полученных параметров носят лишь иллюстративный характер, показывающий тенденцию их изменения при одинаковой подготовке суспензии клеток (концентрация, интенсивность и время перемешивания и др.). В качестве характеристики также приведено отношение величин v_{max}/K_m (табл. 3).

Оба кинетических параметра (константа Михаэлиса и максимальная скорость реакции) для одной и той же молярной концентрации (0.15 М) изменяются в ряду:

$$NaF > NaCl > NaBr > NaI.$$

Таким образом, для ферментативной активности лизоцима по отношению к *M. Luteus* снижение кинетических параметров происходит в соответствии с рядом Гофмейстера. Снижение одновременно обоих параметров свидетельствует о том, что галогенид-анионы действуют как смешанные неконкурентные ингибиторы с повышенным сродством к фермент-субстратному комплексу. Известно, что отрицательно заряженные анионы будут притягиваться к положительно заряженным боковым цепям посредством образования ионных пар [48]. Боковые цепи аргинина являются универсальным центром для связывания галогенидов

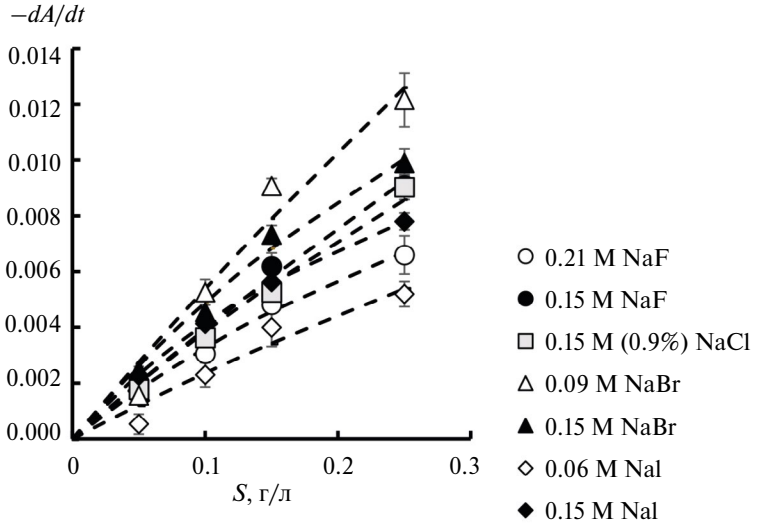


Рис. 2. Зависимость скорости лизиса от концентрации клеток в суспензии. Пунктирными линиями показана аппроксимация экспериментальных данных уравнением Михаэлиса–Ментен с параметрами, приведенными в табл. 3
Fig. 2. Dependence of the lysis rate on the concentration of cells in the suspension. The dotted lines show the approximation of the experimental data by the Michaelis–Menten equation with the parameters given in the table 3

Таблица 3. Параметры уравнения Михаэлиса–Ментен для лизиса клеткам *M. Luteus* лизоцимом (r – коэффициент корреляции Пирсона)

Table 3. Parameters of the Michaelis–Menten equation for lysing *M. Luteus* cells with lysozyme (r is the Pearson correlation coefficient)

Галогенид натрия	Концентрация, М	v_{max}	K_m	r	v_{max}/K_m
NaF	0.15	0.091	2.217	0.995	0.041
	0.21 (0.9%)	0.023	0.595	0.996	0.039
NaCl	0.15 (0.9%)	0.047	1.113	0.998	0.042
NaBr	0.15	0.034	0.599	0.994	0.057
	0.09 (0.9%)	0.117	2.079	0.979	0.056
NaI	0.15	0.019	0.369	0.999	0.051
	0.06 (0.9%)	0.038	1.513	0.972	0.025

с помощью гуанидиниевого фрагмента, в то время как связывание Cl^-, Br^- и I^- преимущественно происходит с ε-аминогруппой лизина, а фторид-ион связывается имидазольной группой гистидина [49].

Ферментативная активность лизоцима обусловлена гидролизом гликозиднной связи. Ключевую роль в этом процессе играют аминокислотные остатки глутаминовой и аспарагиновой кислот (Glu35, Asp52). Аминокислотные остатки лизина и аргинина повышают pK_a Glu35, помогая ему оставаться в протонированной форме и понижают pK_a Asp52, помогая оставаться в депротонированной форме. Гистидин также может участвовать в тонкой настройке этого электростатического окружения и pH-зависимости фермента. Таким образом, в случае лизоцима связывание галогенид-ионов может происходить как в активном центре, тогда реализуется смешанное неконкурентное ингибирование, так и в других участках глобулы лизоцима, влияя на его стабильность или конформацию.

Важно отметить, что ключевым фактором, влияющим на активность лизоцима, является концентрация электролита (табл. 3). Для трех солей было показано снижение обоих кинетических параметров, что свидетельствует о ключевой роли кулоновского взаимодействия между лизоцимом и поверхностью клеток [50]. Более того, как следует из табл. 3, снижение максимальной скорости реакции при повышении концентрации электролита в случае иодид-иона происходит не так резко, как для бромида и фторида. Отметим, что отношение v_{max}/K_m возрастает в обратном ряду Гофмейстера и его зависимость от концентрации аниона наблюдается лишь для иодид-аниона, причем оно увеличивается с повышением концентрации электролита. Это позволяет предположить дополнительно и специфическое взаимодействие: I^-, как сильный хаотроп, эффективно нарушает гидратационную оболочку и внутренние взаимодействия белка, что сильно сказывается на каталитической активности. С другой стороны, размер иона и стерические ограничения активного центра также могут влиять на связывание иодид-иона, благоприятствуя связыванию ионов меньшего диметра.

Таким образом, в реальной системе, в том числе биологической, могут одновременно и согласованно работать два фундаментальных физико-химических принципа: 1) закон соответствия сродства к воде, который утверждает, что катионы и анионы образуют стабильные ионные пары, если их соответствующие энтальпии гидратации совпадают [51], и 2) ряд Гофмейстера, который объясняет неспецифическую стабильность. Более слабое ингибирование F^- по сравнению с другими ионами – это маркер специфичности сайта связывания, а более сильное снижение кинетических параметров в среде с I^- – маркер общей конформационной чувствительности фермента к хаотропным воздействиям.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе показано, что в присутствии космотропного аниона (F^-) и хаотропного аниона (I^-) адсорбция лизоцима на границах раздела полярной и неполярной сред близка по данным метода сцинтиллирующей фазы. Однако параметры, характеризующие как межмолекулярные взаимодействия в адсорбционном слое, определенные из изотерм межфазного натяжения, так и активность фермента, существенно различаются.

В присутствии NaF увеличиваются гидрофобные взаимодействия соответствующих участков глобулы, что приводит к сворачиванию белка и его стабилизации. Специфическое связывание фторид-иона боковыми аминогруппами аминокислотных остатков лизина и аргинина, а также имидазольным фрагментом гистидина, приводит к тому, что молекулы лизоцима в адсорбционном слое склонны к уплотнению и кооперативному взаимодействию. Однако такие взаимодействия, если они происходят на поверхности клетки сохраняют ферментативные свойства лизоцима.

При той же молярной концентрации NaCl приводит к снижению как величины адсорбции, так и ферментативных характеристик, что вероятно связано

с эффективным подавлением электростатических взаимодействий и взаимной скомпенсированностью гидрофобного притяжения и стерического отталкивания.

В присутствии хаотропных анионов происходит притяжение молекул в адсорбционном слое, но при этом снижается каталитическая активность лизоцима. Так в присутствии сильного хаотропа (NaI) происходит дестабилизация сети водородных связей в воде и в белке, за счет этого увеличивается его способность адсорбироваться на гидрофобной границе раздела фаз, но при этом снижается бактериолитическая активность.

Следует еще раз отметить, что ключевым фактором, влияющим на каталитические параметры (v_{max}, K_m) в случае действия космотропных анионов и слабого хаотропа (Br^-), является молярная концентрация электролита. С увеличением концентрации солей значения кинетических параметров снижались. В то же время отношение v_{max}/K_m для этих анионов мало зависело от концентрации соли, и присутствие бромид-аниона оказалось лучшим для активности лизоцима. Понимание наблюдаемых эффектов необходимо для корректной интерпретации биохимических экспериментов, инженерии ферментов и понимания их физиологической регуляции в изменчивой внутриклеточной среде.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Garajová K., Balogová A., Dušeková E. et al. Correlation of lysozyme activity and stability in the presence of Hofmeister series anions. *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteom*. 2017. Vol. 1865. no. 3. Pp. 281–288. https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2016.11.016
2. Yanjie Zhang, Cremer P.S. Chemistry of Hofmeister anions and osmolytes. *Annual Rev. Phys.* Chem. 2010. Vol. 61. no. 1. Pp. 63–83. https://doi.org/10.1146/annurev.physchem.59.032607.093635
3. Alford J.R., Kendrick B.S., Carpenter J.F. et al. Measurement of the second osmotic virial coefficient for protein solutions exhibiting monomer–dimer equilibrium. *Anal. Biochem*. 2008. Vol. 377. no. 2. Pp. 128–133. https://doi.org/10.1016/j.ab.2008.03.032
4. Kalyuzhnyi Y.V., Vlachy V. Explicit-water theory for the salt-specific effects and Hofmeister series in protein solutions. *J. Chem. Phys*. 2016. Vol. 144. no. 21. P. 215101. https://doi.org/10.1063/1.4953067
5. Jones S., Thornton J.M. Principles of protein-protein interactions. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A*. 1996. Vol. 93. no. 1. Pp. 13–20. https://doi.org/10.1073/pnas.93.1.13
6. Curtis R.A., Ulrich J., Montaser A. et al. Protein-protein interactions in concentrated electrolyte solutions: Hofmeister-series effects. *Biotechnol. Bioeng*. 2002. Vol. 79. no. 4. Pp. 367–380. https://doi.org/10.1002/bit.10342
7. Bye J.W., Curtis R.A. Controlling phase separation of lysozyme with polyvalent anions. *J. Phys. Chem. B.* 2019. Vol. 123. no. 3. Pp. 593–605. https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.8b10868
8. Yano Y.F., Kobayashi Y., Ina T. et al. Hofmeister anion effects on protein adsorption at an air–water interface. *Langmuir.* 2016. Vol. 32. no. 38. Pp. 9892–9898. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b02352
9. Parmar A.S., Muschol M. Hydration and hydrodynamic interactions of lysozyme: Effects of chaotropic versus kosmotropic ions. *Biophys. J.* 2009. Vol. 97. no. 2. Pp. 590–598. https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.04.045
10. Quigley A., Williams D.R. The second virial coefficient as a predictor of protein aggregation propensity: A self-interaction chromatography study. *Eur. J. Pharm. Biopharm*. 2015. Vol. 96. Pp. 282–290. https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.07.025
11. Tessier P.M., Lenhoff A.M., Sandler S.I. Rapid measurement of protein osmotic second virial coefficients by self-interaction chromatography. *Biophys. J.* 2002. Vol. 82. no. 3. P. 1620–1631. https://doi.org/10.1016/S0006-3495(02)75513-6
12. Kastelic M., Kalyuzhnyi Y. V., Hribar-Lee B. et al. Protein aggregation in salt solutions. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A*. 2015. Vol. 112. no. 21. Pp. 6766–6770. https://doi.org/10.1073/pnas.1507303112
13. Salis A., Cugia F., Parsons D.F. et al. Hofmeister series reversal for lysozyme by change in pH and salt concentration: insights from electrophoretic mobility measurements. *Phys. Chem. Chem. Phys*. 2012. Vol. 14. no. 13. Pp. 4343–4346. https://doi.org/10.1039/c2cp40150a

14. Pusara S., Wenzel W., Kozlowska M. Accurate calculation of second osmotic virial coefficients of proteins using mixed Poisson–Boltzmann and extended DLVO theory. *Mol. Syst. Des. Eng*. 2023. Vol. 8. no. 9. Pp. 1203–1219. https://doi.org/10.1039/D3ME00086A
15. Yanjie Zhang, Cremer P.S. The inverse and direct Hofmeister series for lysozyme. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A*. 2009. Vol. 106. no. 36. Pp. 15249–15253. https://doi.org/10.1073/pnas.0907616106
16. Boström M., Parsons D.F., Salis A. et al. Possible origin of the inverse and direct hofmeister series for lysozyme at low and high salt concentrations. *Langmuir.* 2011. Vol. 27. no. 15. P. 9504–9511. https://doi.org/10.1021/la202023r
17. Lund M., Jungwirth P., Woodward C.E. Ion Specific protein assembly and hydrophobic surface forces. *Phys. Rev. Lett.* 2008. Vol. 100. no. 25. P. 258105. https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.100.258105
18. Pegram L.M., Record M.T. Hofmeister salt effects on surface tension arise from partitioning of anions and cations between bulk water and the air–water interface. *J. Phys. Chem. B.* 2007. Vol. 111. no. 19. Pp. 5411–5417. https://doi.org/10.1021/jp070245z
19. Myers R.L., Taira A., Yan C. et al. Hydronium ions are less excluded from hydrophobic polymer–water interfaces than hydroxide ions. *J. Phys. Chem. B.* 2025. Vol. 129. no. 2. Pp. 726–735. https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.4c05748
20. Leilei Lian, Lvdan Liu, Yanwei Ding et al. Specific anion effects on charged-neutral random copolymers: Interplay between different anion-polymer interactions. *Langmuir.* 2021. Vol. 37. no. 5. Pp. 1697–1706. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c02907
21. Dexter A.F. Comment on "Hofmeister series: The hydrolytic activity of *Aspergillus niger* lipase depends on specific anion effects". *J. Phys. Chem. B.* 2005. Vol. 109. no. 30. Pp. 14750–14754. https://doi.org/10.1021/jp0519060
22. Pinna M.C., Bauduin P., Touraud D. et al. Hofmeister effects in biology: Effect of choline addition on the salt-induced super activity of horseradish peroxidase and its implication for salt resistance of plants. *J. Phys. Chem. B.* 2005. Vol. 109. no. 34. Pp. 16511–16514. https://doi.org/10.1021/jp051897v
23. Xuanyu Chen, Xiaomin Deng, Xingxing Han et al. Inhibition of lysozyme amyloid fibrillation by silybin diastereoisomers: The effects of stereochemistry. *ACS Omega*. 2021. Vol. 6. no. 4. Pp. 3307–3318. https://doi.org/10.1021/acsomega.0c05788
24. Collu M., Carucci C., Salis A. Specific anion effects on lipase adsorption and enzymatic synthesis of biodiesel in nonaqueous media. *Langmuir.* 2020. Vol. 36. no. 32. Pp. 9465–9471. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c01330
25. Wang Q.M., Johnson R.B. Activation of human rhinovirus-14 3C protease. *Virology.* 2001. Vol. 280. no. 1. Pp. 80–86. https://doi.org/10.1006/viro.2000.0760
26. Zhen Yang, Xiu-Ju Liu, Chao Chen et al. Hofmeister effects on activity and stability of alkaline phosphatase. *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteom*. 2010. Vol. 1804. no. 4. Pp. 821–828. https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2009.12.005
27. Nishimura J.S., Narayanasami R., Miller R.T. et al. The stimulatory effects of Hofmeister ions on the activities of neuronal nitric-oxide synthase. Apparent substrate inhibition by L-arginine is overcome in the presence of protein-destabilizing agents. *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274. no. 9. Pp. 5399–5406. https://doi.org/10.1074/jbc.274.9.5399
28. Qingqing Zhang, Yan Zhao, Yao Yao et al. Characteristics of hen egg white lysozyme, strategies to break through antibacterial limitation, and its application in food preservation: A review. *Food Res. Int*. 2024. Vol. 181. P. 114114. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114114
29. Lijuan Hou, Xiaozheng Liu, Zhenyu Wang et al. Hen egg white lysozyme as a functional building block: structural features, assembly behavior, and emerging food applications. *Trends Food Sci.* Technol. 2026. V. 169. P. 105521. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2025.105521
30. Chernysheva M.G., Badun G.A., Kulikova N.A. et al. Behavior of humic substances in the liquid-liquid system directly measured using tritium label. *Chemosphere*. 2020. Vol. 238. P. 124646. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124646
31. Badun G.A., Chernysheva M.G., Ksenofontov A.L. Increase in the specific radioactivity of tritium-labeled compounds obtained by tritium thermal activation method. *Radiochim. Acta*. 2012. Vol. 100. no. 6. Pp. 401–408. https://doi.org/10.1524/ract.2012.1926

32. Chernysheva M.G., Shnitko A. V., Soboleva O.A. et al. Competitive adsorption of lysozyme and non-ionic surfactants (Brij-35 and pluronic P123) from a mixed solution at water–air and water–xylene interfaces. *Colloid Polym. Sci.* 2018. Vol. 296. no. 1. Pp. 223–232. https://doi.org/10.1007/s00396-017-4240-4
33. Chernysheva M.G., Badun G.A. Ionic surfactant adsorption at aqueous/organics interfaces determined by a scintillation phase method. *Mendeleev Commun*. 2011. Vol. 21. no. 2. Pp. 99–100. https://doi.org/10.1016/j.mencom.2011.03.014
34. Chernysheva M.G., Badun G.A. Liquid scintillation spectrometry of tritium in studying lysozyme behavior in aqueous/organic liquid systems. The influence of the organic phase. *Langmuir*. 2011. Vol. 27. no. 6. Pp. 2188–2194. https://doi.org/10.1021/la1037712
35. Levashov P.A., Sedov S.A., Shlpovskov S. et al. Quantitative turbidimetric assay of enzymatic gram-negative bacteria lysis. *Anal. Chem*. 2010. Vol. 82. no. 5. Pp. 2161–2163. https://doi.org/10.1021/ac902978u
36. Sedov S.A., Belogurova N.G., Shipovskov S. et al. Lysis of Escherichia coli cells by lysozyme: Discrimination between adsorption and enzyme action. *Colloids Surf. B: Biointerfaces*. 2011. Vol. 88. no. 1. Pp. 131–133. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.06.021
37. Mohammadzadehmarandi A., Zydney A.L. Buffer effects on protein sieving losses in ultrafiltration and their relationship to biophysical properties. *Biotechnol. Prog.* 2024. Vol. 40. no. 6. P. e3481. https://doi.org/10.1002/btpr.3481
38. Pavani P., Kumar K., Rani A. et al. The influence of sodium phosphate buffer on the stability of various proteins: Insights into protein-buffer interactions. *J. Mol. Liq*. 2021. Vol. 331. P. 115753. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.115753
39. Rabiller-Baudry M., Chaufer B. Small molecular ion adsorption on proteins and DNAs revealed by separation techniques. *J. Chromatogr. B*. 2003. Vol. 797. nos. 1–2. Pp. 331–345. https://doi.org/10.1016/S1570-0232(03)00488-4
40. Truesdale V.W., Luther G.W., Greenwood J.E. The kinetics of iodine disproportionation: a system of parallel second-order reactions sustained by a multi-species pre-equilibrium. *Phys. Chem. Chem. Phys*. 2003. Vol. 5. no. 16. P. 3428. https://doi.org/10.1039/b303351a
41. Erichsen A., Larsen D., Beeren S.R. Chaotropic and kosmotropic anions regulate the outcome of enzyme-mediated dynamic combinatorial libraries of cyclodextrins in two different ways. *Front. Chem*. 2021. Vol. 9. P. 721942. https://doi.org/10.3389/fchem.2021.721942
42. Beibei Kang, Huicheng Tang, Zengdian Zhao et al. Hofmeister series: Insights of ion specificity from amphiphilic assembly and interface property. *ACS Omega*. 2020. Vol. 5. no. 12. Pp. 6229–6239. https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00237
43. Alahverdjieva V.S., Grigoriev D.O., Fainerman V.B. et al. Competitive adsorption from mixed hen egg-white lysozyme/surfactant solutions at the air–water interface studied by tensiometry, ellipsometry, and surface dilational rheology. *J. Phys. Chem. B*. 2008. Vol. 112. no. 7. Pp. 2136–2143. https://doi.org/10.1021/jp074753k
44. Alahverdjieva V.S., Fainerman V.B., Aksenenko E.V. et al. Adsorption of hen egg-white lysozyme at the air–water interface in presence of sodium dodecyl sulphate. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp*. 2008. Vol. 317. nos. 1–3. Pp. 610–617. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.11.062
45. Alahverdjieva V.S., Grigoriev D.O., Ferri J.K. et al. Adsorption behaviour of hen egg-white lysozyme at the air/water interface. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp*. 2008. Vol. 323. nos. 1–3. Pp. 167–174. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.12.031
46. Francisco O.A., Clark C.J., Glor H.M. et al. Do soft anions promote protein denaturation through binding interactions? A case study using ribonuclease A. *RSC Adv.* 2019. Vol. 9. no. 6. Pp. 3416–3428. https://doi.org/10.1039/c8ra10303h
47. Lu J.R., Su T.J., Thomas R.K. et al. Structural conformation of lysozyme layers at the air/water interface studied by neutron reflection. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 1998. Vol. 94. no. 21. Pp. 3279–3287. https://doi.org/10.1039/a805731a
48. Collins K.D. Ion hydration: Implications for cellular function, polyelectrolytes, and protein crystallization. *Biophys. Chem*. 2006. Vol. 119. no. 3. Pp. 271–281. https://doi.org/10.1016/j.bpc.2005.08.010

49. Skitchenko R.K., Usoltsev D., Uspenskaya M. et al. Census of halide-binding sites in protein structures. *Bioinformatics*. 2020. Vol. 36. no. 10. Pp. 3064–3071. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa079
50. Park C., Raines R.T. Quantitative analysis of the effect of salt concentration on enzymatic catalysis. *J. Amer. Chem. Soc.* 2001. Vol. 123. no. 46. Pp. 11472–11479. https://doi.org/10.1021/ja0164834
51. Salis A., Ninham B.W. Models and mechanisms of Hofmeister effects in electrolyte solutions, and colloid and protein systems revisited. *Chem. Soc. Rev.* 2014. Vol. 43. no. 21. Pp. 7358–7377. https://doi.org/10.1039/c4cs00144c

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Чернышева Мария Григорьевна — д-р хим. наук; проф., Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация
E-mail: chernyshevamg@my.msu.ru
https://orcid.org/0000-0001-5040-9937

Криулина Валерия Дмитриевна – студент химического факультета, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация
E-mail: valeriakriulina26@gmail.com

Бадун Геннадий Александрович – канд. хим. наук; доц., Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация
E-mail: badunga@my.msu.ru
https://orcid.org/0000-0002-9792-8432

ABOUT THE AUTHORS

Chernysheva, Maria G. – Ph.D. (Chemistry); Full Professor, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation
E-mail: chernyshevamg@my.msu.ru
https://orcid.org/0000-0001-5040-9937

Kriulina, Valeria D. – student of M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation
E-mail: valeriakriulina26@gmail.com

Badun, Gennadii A. – Cand. Sc. (Chemistry); Associate Professor, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation
E-mail: badunga@my.msu.ru
https://orcid.org/0000-0002-9792-8432

Поступила в редакцию 28.02.2026
После доработки 23.04.2026
Принята к публикации 03.05.2026

Received February 28, 2026
Revised April 23, 2026
Accepted May 03, 2026