DOI: 10.31857/S0023291226050076
УДК 544.773.33

Оригинальная статья

Обратные микроэмульсии вода/АОТ/изопропилмиристат как среды для биокаталитических реакций

Н.В. Саутина[1,*], Д.О. Сагдеев[1], О.И. Гнездилов[2], Ю.Г. Галяметдинов[1,3]

[1]Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Российская Федерация
[2]Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Российская Федерация
[3]Казанский физико-технический институт им. Е.К. Завойского, Казань, Российская Федерация
**E-mail: n.sautina@mail.ru*

Аннотация. В настоящей работе рассмотрена возможность управления биокаталитическими реакциями в самоорганизующихся системах с использованием в качестве катализатора белка – цитохрома С. Известно, что он может ускорять биологические процессы, являясь катализатором клеточного дыхания. Микроэмульсии на основе бис(2-этилгексил) сульфосукцината натрия (АОТ) представляют значительный интерес как наноразмерные транспортные и реакционные системы в биокатализе, поскольку они способны стабилизировать ферменты, сохраняя их функциональную активность. В данной работе получены трехкомпонентные системы вода/АОТ/изопропилмиристат различного состава и степени гидратации, которые имеют структуру обратных микроэмульсий с размером капель от 4.2 до 8.7 нм, а также жидких кристаллов. Исследованы структурно-фазовые трансформации в изучаемых системах при увеличении концентрации АОТ от микроэмульсий до жидкокристаллической мезофазы. Установлено, что при введении цитохрома С в микроэмульсии он хорошо солюбилизируется, при этом происходит некоторое уменьшение их размера и более узкое распределение капель в системе. Результаты УФ-спектроскопии и люминесценции показали наличие адсорбционного взаимодействия между белком и полярными группами АОТ. Применимость полученных систем для биокатализа исследована на примере реакции окисления гваякола перекисью водорода в присутствии цитохрома С. Для контролируемого увеличения выхода продукта в каталитической реакции в микроэмульсии были добавлены гидрофильные квантовые точки $Cd_{0.9}Mn_{0.1}S/ZnS$, стабилизированные меркаптопропионовой кислотой. Установлено, что выход тетрагваякола, который получается в результате реакции, увеличивается прямо пропорционально концентрации введенных квантовых точек. Таким образом, применяя микроэмульсии как среды для проведения реакций, мы можем ускорять либо замедлять каталитические процессы.

Ключевые слова: микроэмульсии, жидкие кристаллы, биокатализ, цитохром С, квантовые точки

Финансирование. Работа выполнена за счет гранта, предоставленного Академией наук Республики Татарстан образовательным организациям высшего образования, научным и иным организациям на поддержку планов развития кадрового потенциала в части стимулирования их научных и научно-педагогических работников к защите докторских диссертаций и выполнению научно-исследовательских работ (Соглашение №10/2025-ПД-КНИТУ от 22.12.2025).

Конфликт интересов. Авторы данной статьи заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Вклад авторов в публикацию. Концепция исследования – ГЮГ, СНВ; анализ данных литературы и экспериментальных данных – СНВ, СДО, ГОИ; написание (подготовка оригинального текста) – СНВ, ГЮГ; написание (редактирование и рецензирование) – СНВ, ГЮГ.

Ссылка для цитирования: Саутина Н.В., Сагдеев Д.О., Гнездилов О.И., Галяметдинов Ю.Г. Обратные микроэмульсии вода/АОТ/изопропилмиристат как среды для биокаталитических реакций. *Коллоидный журнал / Colloid Journal*. 2026. Т. 88. № 5. С. 673–690.
https://doi.org/10.31857/S0023291226050076

© Саутина Н.В., Сагдеев Д.О., Гнездилов О.И., Галяметдинов Ю.Г., 2026

КОЛЛОИДНЫЙ ЖУРНАЛ / COLLOID JOURNAL, 2026, vol. 88, no. 5, pp. 673–690

DOI: 10.31857/S0023291226050076 Original Article

Water/AOT/Isopropyl Myristate Reverse Microemulsions as Media for Biocatalytic Reactions

N.V. Sautina[1,*], D.O. Sagdeev[1], O.I. Gnezdilov[2], Yu.G. Galyametdinov[1,3]

[1]Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation
[2]Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russian Federation
[3]Kazan Institute of Physics and Technology named after E.K. Zavoisky, Kazan, Russian Federation
**E-mail: n.sautina@mail.ru*

Abstract. This article examines the possibility of controlling biocatalytic reactions in self-organizing systems using cytochrome C as a catalyst. It is known that it can speed up biological processes, acting as a catalyst for cellular respiration. Microemulsions based on sodium bis(2-ethylhexyl)sulfosuccinate (AOT) are of considerable interest as nanoscale transport and reaction systems in biocatalysis, as they are capable of stabilizing enzymes while maintaining their functional activity. In this study, three-component water/AOT/isopropyl myristate systems of varying composition and degree of hydration were obtained. Structural and phase transformations in the studied systems were studied with an increase in the surfactant concentration from microemulsions to a liquid crystalline mesophase. It was found that the incorporation of cytochrome C into microemulsions results in its good solubilization, which leads to a slight decrease in their size and a narrower distribution of droplets in the system. The results of UV–Vis spectroscopy and luminescence showed the presence of adsorption interaction between the protein and the polar groups of AOT. The applicability of the resulting systems to biocatalysis was investigated using the example of guaiacol oxidation with hydrogen peroxide in the presence of cytochrome C. To controllably increase the yield of the catalytic reaction product, hydrophilic $Cd_{0.9}Mn_{0.1}S/ZnS$ quantum dots stabilized with mercaptopropionic acid were added to the microemulsion. It was found that the yield of tetraguaiacol obtained in the reaction increases directly proportionally to the concentration of the introduced quantum dots. Thus, by using microemulsions as reaction media, we can accelerate or slow down catalytic processes.

Keywords: microemulsions, liquid crystals, biocatalysis, cytochrome C, quantum dots

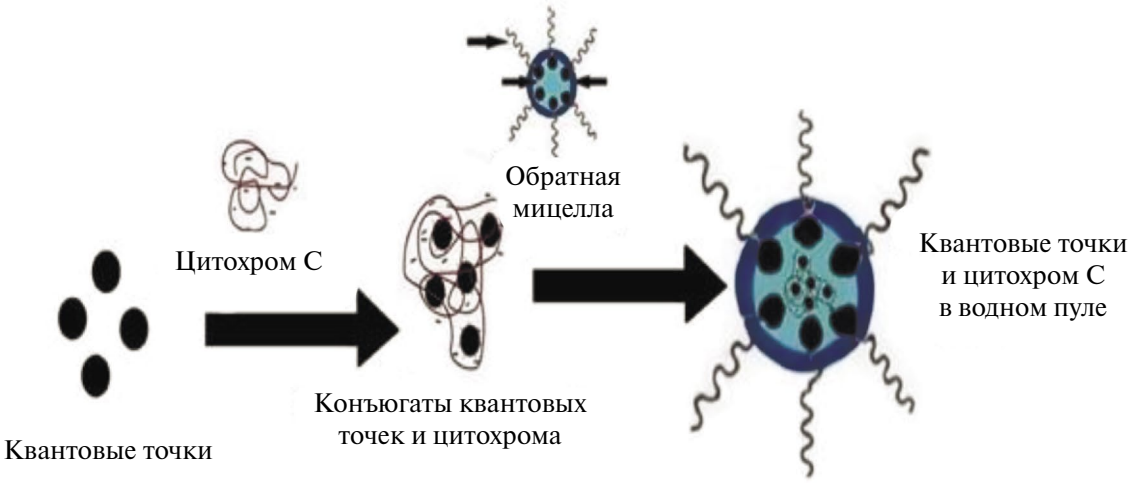
Funding. This work was supported by a grant from the Academy of Sciences of the Republic of Tatarstan to higher education institutions, scientific and other organizations to support plans for the development of human resources in terms of stimulating their scientific and teaching staff to defend doctoral dissertations and carry out research work (Agreement No. 10/2025-PD-KNITU dated December 22, 2025).

Conflict of interest. The authors of this article declare that they have no conflict of interest.

Authors' contributions. Research concept – GYuG, SNV; analysis of literature and experimental data – SNV, SDO, GOI; writing (preparation of the original text) – SNV, GYuG; writing (editing and reviewing) – SNV, GYuG.

For Citation: Sautina N.V., Sagdeev D.O., Gnezdilov O.I., Galyametdinov Yu.G. Water/AOT/Isopropyl Myristate Reverse Microemulsions as Media for Biocatalytic Reactions. *Kolloidnyi zhurnal / Colloid Journal*. 2026;88(5):673–690. (In Russ.) https://doi.org/10.31857/S0023291226050076

© Sautina N.V., Sagdeev D.O., Gnezdilov O.I., Galyametdinov Yu.G., 2026



ВВЕДЕНИЕ

Самоорганизующиеся среды, такие как микроэмульсии (МЭ) и жидкие кристаллы (ЖК), служат эффективными нанореакторами в биокатализе, обеспечивая специально подобранную микросреду, которая повышает активность ферментов [1–3]. Обратные МЭ, состоящие из нанокапель воды, диспергированных в неполярной фазе, имеют в этом случае ряд преимуществ, так как граница раздела жидкость–жидкость используется для облегчения массопереноса и достижения управляемого биокатализа [4]. Они способны преодолевать ограничения растворимости гидрофобных и гидрофильных субстратов, повышать ферментативную активность и стабильность. Их используют для изучения биотрансформаций, катализируемых окислительными ферментами, такими как гемопероксидазы, фенолоксидазы, холестеролоксидазы и дегидрогеназы [5]. Ряд проведенных исследований показал, что вторичная структура белков в МЭ сохраняется, и их можно использовать как простую модель для изучения влияния ограниченной микросреды на структуру и динамику заключенных в микрокапли пептидов и белков [6].

Известно, что ферментативный катализ имеет ряд преимуществ перед химическим катализом. Белки активны в мягких условиях реакции (низкие температуры, давление и значения pH), более эффективны (требуется меньшая концентрация фермента) и обладают высокой специфичностью, что указывает на минимальное или полное отсутствие образования побочных продуктов [7–10]. Однако они часто подвергаются деградации при неблагоприятных условиях. В связи с этим проведение каталитических реакций в среде МЭ, защищающих их от разрушений, является актуальным. Эти системы позволяют осуществлять экологически чистый биокатализ как в водных, так и неводных средах, что имеет решающее значение для таких отраслей, как фармацевтика, используя ферменты, такие как пероксидазы или липазы, в эмульсиях Пикеринга или гелеобразных системах [11, 12].

В свою очередь лиотропные ЖК, представляющие собой упорядоченные мезоморфные фазы, обеспечивают высокоструктурированную среду для биокаталитических реакций. Они могут стабилизировать ферменты в определенных ориентациях, что полезно для создания биосенсоров [13]. В последнее время ЖК все чаще используются в качестве шаблонов для синтеза наноматериалов или в качестве стабильных матриц для иммобилизации ферментов [14]. Вариативность систем на основе лиотропных ЖК (гели, системы с наночастицами) позволяет включать широкий спектр веществ [15, 16]. Исследования состава и структурных свойств системы важны для лучшего понимания взаимодействия микрореактора с биокатализатором, что позволит управлять выходом продукта.

Цитохром С является гемсодержащим металлопротеином, состоящим из 104 аминокислот. Этот небольшой белок играет важную роль в реализации клеточного дыхания, является ключевым ферментом дыхательной цепи, способствует полному восстановлению сократительной и ритмической функций сердца и активно используется в кардиологической практике [17–20]. Кроме того, в ряде источников он применяется как модельная система для изучения механизма сворачивания белков, хорошо охарактеризован и может быть использован для исследования взаимодействия белков с поверхностью мембраны [21, 22]. Примером может служить активация пероксидазной активности цитохрома С с кардиолипином и перекисью водорода.

Авторами [23] показано, что кардиолипин усиливает каталитическое действие цитохрома С.

В связи с этим этот небольшой белок может служить для моделирования исследования взаимодействий с компонентами разработанных нами систем, а также на примере цитохрома С мы можем показать, как можно управлять скоростью биокаталитической реакции.

Исследования конъюгатов белок–наночастица, в качестве которых часто используют квантовые точки, приобретают в последнее время значительную важность благодаря их применению в различных областях биологии и медицины [24]. Внутренние свойства наночастиц, такие как размер и характер поверхностного заряда, используются для связывания биомолекул, таких как белки, ферменты и нуклеиновые кислоты, на поверхности наночастиц. Квантовые точки малого размера с присущими им флуоресцентными свойствами приобретают важное значение в биосенсорике, прижизненной визуализации и других областях исследований. Однако использование квантовых точек в биокатализе до сих пор остается малоизученным. В этом отношении известно, что ферменты/белки проявляют свою биокаталитическую эффективность, локализуясь в различных анизотропных микродоменах клеточной среды.

В связи с этим целью работы являлось получение самоорганизованных систем вода/АОТ/изопропилмиристат и демонстрация их применения в качестве модельной среды для проведения реакции управляемого биокатализа с участием катализатора – белка цитохрома С.

ЭСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для получения исследуемых систем были использованы анионный ПАВ, бис(2-этилгексил) сульфосукцинат натрия (АОТ) (97%, Aldrich), изопропилмиристат (ИПМ) (98%, Alfa Aesar) и деионизованная вода с удельной электропроводностью менее 0.1 мкСм/см. В качестве модельного белка был введен цитохром С, полученный из сердец лошади (95%, Merk) в виде водного раствора. Квантовые точки $Cd_{0.9}Mn_{0.1}S/ZnS$, стабилизированные меркаптопропионовой кислотой (МПК), были получены по методике, описанной в работе [25].

В качестве флуоресцентных маркеров применяли лаурдан (97%, Merk) и флуоресцеин (98%, Merk). Для проведения реакции биокатализа использовали гваякол (ООО «Химкрафт», ⩾99%, ч.).

Образцы исследуемых систем получали согласно [26]. Расчетные навески АОТ и ИПМ перемешивали на магнитной мешалке при температуре 50°С до полного растворения ПАВ. В полученную мицеллярную смесь добавляли расчетное количество воды либо водного раствора цитохрома С при комнатной температуре до полной солюбилизации. Далее системы термостатировали в течении 24 ч при 25°С. Оптическую изотропность образцов, отсутствие кристаллизации, а также жидкокристаллические свойства фиксировали методом поляризационной оптической микроскопии (Olympus BX51).

Гидродинамический диаметр капель МЭ оценивали по данным динамического рассеяния света (ДРС) на анализаторе Malvern Zetasizer (Nano ZS, Malvern, UK) с длиной волны 633 нм и углом рассеяния 90°.

Электрокинетический потенциал (дзета-потенциал) капель МЭ определяли методом лазерного допплеровского электрофореза в сочетании с фазовым анализом рассеяния света (PALS) на приборе Malvern Zetasizer (Nano ZS, Malvern, UK). В основу расчета берется уравнение Генри [27]. Прибор определяет электрофоретическую подвижность, на основании значений которой определяется дзета-потенциал. При измерении выбиралась модель Хюккеля, справедливая для систем с низкой ионной силой, малой диэлектрической проницаемостью дисперсионной среды и малым размером частиц. В систему вносились для расчета справочные значения вязкости ИПМ (дисперсионная среда) $\eta = 5.5$ МПа·с и диэлектрической проницаемости масляной фазы $\varepsilon = 3.2$. Все измерения выполнялись в трехкратном повторении. Вся процедура измерения автоматизирована. Ошибка измерения при высоких значениях дзета потенциала (более ±30 мВ) не более 10%.

УФ спектры МЭ и МЭ с цитохромом С получали на спектрофотометре Lambda 35 Perkin-Elmer (точность измерения длины волны ±0.1 нм и воспроизводимость ±0.05 нм).

Спектры люминесценции регистрировали на сканирующем спектрофлуориметре Cary Eclipse фирмы Varian. Точность измерения длины волны ±1.0 нм (200–900 нм) и воспроизводимость (±0.2 нм) при высокой скорости сканирования (до 24000 нм/мин).

Спектры ^{1}H ЯМР снимали на спектрометре “Avance 400” фирмы “Bruker” с резонансной частотой протонов 400.15 МГц, оснащенным приставкой импульсного градиента магнитного поля, создающего градиенты до 0.53 Тл·м$^{-1}$. Все измерения проведены при температуре 295 K. В качестве растворителя применяли D_2O. Перед началом серии измерений регистрировался спектр чистого растворителя, и положение шкалы фиксировалось по резонансному сигналу остаточных протонов воды ($\delta = 4.67$ м.д.). Сформированная таким образом матрица калибровочных параметров (опорная частота прибора) использовалась в качестве базовой конфигурации для генерации последующих рабочих файлов импульсной последовательности стимулированного эха с градиентом магнитного поля (diffste). Это позволило автоматически и с высокой точностью перенести калибровку на все диффузионные спектры. Погрешность определения химических сдвигов составляла ±0.01 м.д.

Спектры поляризационной флуоресценции лаурдана и флуоресцеина регистрировали на сканирующем спектрофлуориметре Cary Eclipse фирмы Varian с использованием комплекта поляризаторов (Manual Polarizer Accessory 00-100761-00, Varian), помещенного между исследуемым образом, эмиссионным монохроматором и детектором. Длина волны возбуждения лаурдана составляла 340 нм, флуоресцеина 440 нм, параметры щели возбуждения и эмиссии 5 нм.

Анизотропия флуоресценции зондов (r) и параметр порядка (S) определяли по уравнениям (1)–(3):

$$r = \frac{I_{VV} - GI_{VH}}{I_{VV} + 2GI_{VH}}, \quad (1)$$

где I_{VV} – интенсивность люминесценции при вертикальном положении поляризаторов излучения и поглощения; I_{VH} – интенсивность люминесценции при вертикальном и горизонтальном положении поляризаторов излучения и поглощения соответственно; G – фактор – отношение чувствительностей детектирующей системы для вертикально и горизонтально поляризованного света.

$$\frac{r}{r_0} = \frac{S}{1 + S - S^2}, \quad (2)$$

где r – анизотропия; r_0 – предельная анизотропия. Согласно литературным данным для лаурдана экспериментально полученное значение $r_0 = 0.26$ [28], для флуоресцеина $r_0 = 0.38$ [29]. Критический угол отклонения зонда рассчитывали по формуле (3):

$$S = 0.5\cos\theta_c(1 + \cos\theta_c). \quad (3)$$

Исследование каталитической активности цитохрома С проводили по методике [30]. Для этого готовили 3.2 г МЭ, смешивая расчетные количества ИПМ (70%) и АОТ (20%). Затем к смеси приливали раствор цитохрома С в фосфатном буфере (0.0125%) в количестве 10 масс. %, либо смешанный буферный раствор цитохрома С и квантовых точек. В готовую МЭ, содержащую цитохром С, добавляли по 100 мг 20 мМ раствора гваякола (в качестве субстрата) и 50 мМ раствора перекиси водорода (в качестве донора кислорода). При добавлении перекиси водорода начинается быстрое протекание реакции. Контрольный эксперимент проводили в буфере в аналогичных условиях. Ход реакции контролировался путем измерения поглощения при 470 нм, обусловленного образованием тетрагваякола, молярный коэффициент экстинкции принимали равным 26.6 $мМ^{-1}\cdot см^{-1}$. Изменение поглощения отслеживалось сразу после добавления перекиси для контроля катализируемого процесса.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Особенностью самоорганизованных систем ПАВ является способность образовывать различные структуры при изменении концентрационных соотношений компонентов, такие как макроэмульсии, МЭ, жидкокристаллические структуры, органогели, везикулы [31–34]. Характер самоорганизации и размер капель может существенно влиять на скорость проведения реакции. Внутри водного пула МЭ фермент попадает в условия ограниченного пространства, эффект «наностеснения». Если радиус капли близок к радиусу молекулы фермента, гидрофобная матрица ПАВ «сжимает» белок. Это жестко фиксирует его конформацию, предотвращая денатурацию. Если капля слишком мала, фермент деформируется и теряет подвижность активного центра. Если слишком велика – эффект наностеснения исчезает, и система ведет себя как обычный объемный раствор [35, 36].

Другой причиной влияния размера капель МЭ на скорость реакции является состояние воды. Вода внутри водного пула МЭ делится на два типа: связанная (полярными головами ПАВ) и свободная (в центре капли). Ферментам для сохранения каталитической активности необходима свободная вода. Увеличивая размер капли, мы повышаем долю «жидкой» свободной воды, необходимую для проведения реакции [37, 38].

Также на скорость реакции с участием ферментов может существенно влиять самоорганизация. Так сферические мицеллы характеризуются быстрой диффузией, высокой подвижностью. В отличии от них, ЖК, обладая определенной пространственной структурой жестко иммобилизуют фермент в плоских слоях, снижая скорость реакции [39, 40].

Характеристика полученных систем

В рамках поиска оптимальной композиции для создания эффективных микрореакторов нами были получены и охарактеризованы системы вода/АОТ/ИПМ, отличающиеся структурой, но содержащие одинаковые компоненты. Состав систем, гидродинамический диаметр капель (D) (распределение частиц по размерам представлено по числу рассеивающих частиц), степень гидратации ($W = C_{H2O}/C_{AOT}$), индекс полидисперсности (PDI) представлены в табл. 1.

Таблица 1. Состав, степень гидратации и гидродинамический диаметр образцов
Table 1. Composition, degree of hydration and hydrodynamic diameter of samples

№ образца	Состав			W	D, нм	PDI
	АОТ, масс. %	ИПМ, масс. %	H_2O, масс. %			
1	20	70	10	12.35	8.7 ± 0.4	0.17
2	30	60	10	8.23	6.5 ± 0.3	0.18
3	40	50	10	6.17	4.9 ± 0.2	0.17
4	50	40	10	4.94	4.2 ± 0.2	0.18
5	60	30	10	4.11	43.8 ± 1.7	0.35
6	70	20	10	3.53	220 ± 8.8	0.52
7	80	10	10	3.1	–	–

В данной работе был измерен гидродинамический диаметр капель МЭ, который включает ядро капли (дисперсную фазу), адсорбционный слой молекул ПАВ на границе раздела, а также сольватный (гидратный слой растворителя). Системы 1–4 имеют структуру обратных МЭ с гидродинамическим диаметром капель от 4.2 до 8.7 нм. Образцы 5 и 6 имеют бимодальное распределение капель, в поляризованном свете можно видеть небольшие островки с гексагональной мезофазой. Эти системы относятся к переходным. Методом поляризационно-оптической микроскопии установлено, что образец 7 представляет собой ЖК с обратной гексагональной структурой мезофазы (рис. 1).

Ранее в работе [34] методом рентгеновской дифракции мы определили размер водного пула микроэмульсионных систем. Для системы 1 он составляет 2.7 нм. В данной работе нам был более интересен гидродинамический диаметр, так как при солюбилизации цитохрома С он может находиться не только в водном пуле МЭ но и на границе раздела. В связи с этим мы выбрали образец 1 (табл. 1) с максимальным из полученных систем гидродинамическим диаметром капель 8.7 нм.

Влияние цитохрома С на структуру самоорганизованных систем

Для апробации полученных систем в качестве реакционных сред для проведения каталитических реакций и для исследования взаимодействия молекулы-гостя с компонентами был введен модельный белок цитохром С. Белки в водной фазе могут быть экстрагированы в фазу АОТ при значениях pH ниже их изоэлектрической точки (pH 10), так как при значениях выше – отталкивающие электростатические взаимодействия препятствуют экстракции белка. В диапазоне pH от изоэлектрической точки до 8 протонирование некоторых основных остатков на поверхности белка позволяет частично экстрагировать белок. А при значениях ниже – цитохром С хорошо растворяется в МЭ. Известно, что цитохром С в МЭ АОТ стабилен при pH 7–8.4, поскольку более низкие значения pH (например, pH 2.5) вызывают разворачивание белка [41, 42]. В нативной форме (при pH 7.4) цитохром С практически не проявляет пероксидазных свойств, так как гем изолирован. При падении pH до 7.0 микроокружение гема становится чуть более подвижным, облегчая доступ малых молекул (например, H_2O_2) к активному центру. Это вызывает начальный прирост пероксидазной активности, приводящей к окислению липидов и запуску апоптоза [43]. Поэтому в наших исследованиях pH водного раствора цитохрома С поддерживался равным 7.

Установлено, что при введении цитохрома С в МЭ, он хорошо солюбилизируется, причем максимальная концентрация цитохрома С 0.0125 масс. % (10.42 мкМ), которую можно добавить в наши системы при сохранении стабильности превышает значения, известные в литературе для МЭ [44, 45]. При исследовании полученных образцов методом УФ спектроскопии определено, что на спектрах водного раствора цитохрома С наблюдается 2 максимума: 409 и 530 нм. Это свидетельствует о том, что он находится в воде в окисленной форме (Fe^{2+}) [46]. При введении белка в МЭ интенсивность поглощения уменьшается, максимум при 530 нм не наблюдается (рис. 2а).

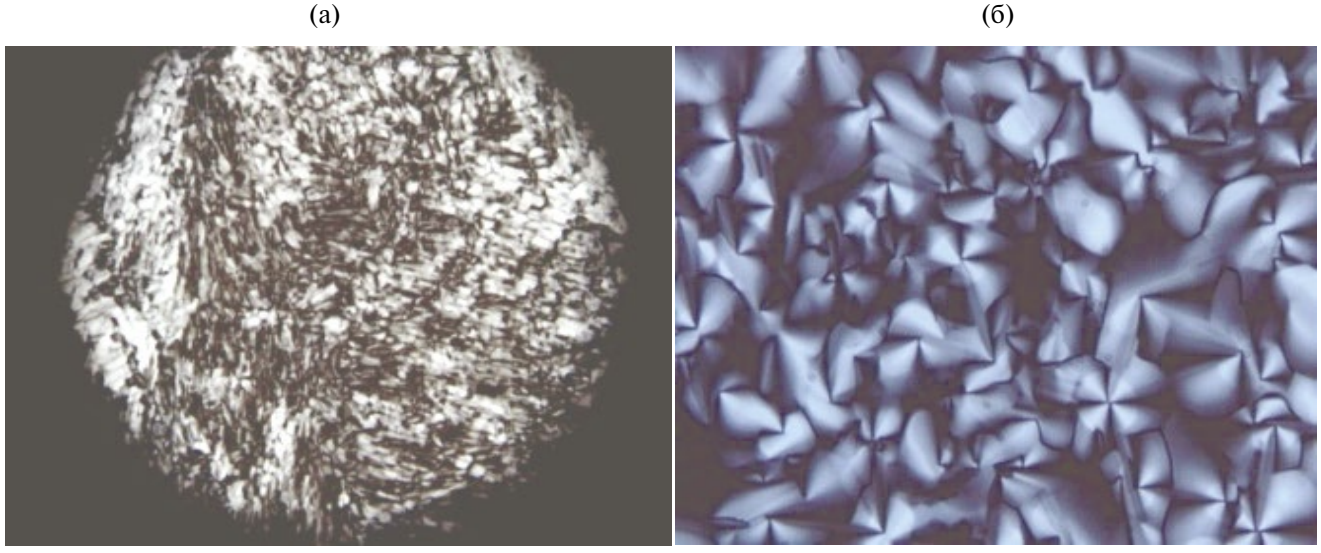


Рис. 1. Текстура гексагональной мезофазы образца вода/АОТ/ИПМ (10/20/70 масс. %), (а) увеличение x50 и (б) увеличение x100

Fig. 1. Texture of the hexagonal mesophase of the water/AOT/IPM sample (10/20/70 wt %), (a) magnification x50 and (б) magnification x100

Исчезновение полосы поглощения при 530 нм и падение интенсивности спектра цитохрома С при его инкапсулировании в обратные мицеллы АОТ обусловлено не классической необратимой денатурацией, а конформационной перестройкой молекулы (переходом в состояние расплавленной глобулы) под действием сил наностеснения и электростатического взаимодействия с сульфонатными группами ПАВ. Данный процесс сопровождается разрывом координационной связи железа с метионином (Fe–Met80) и изменением координационного и спинового состояния центрального иона железа в геме с шестикоординационного низкоспинового на высокоспиновое [47–49].

Также наблюдается смещение максимума люминесценции вправо в область более длинных волн (рис. 2б). Совокупность этих данных позволяет нам предположить солюбилизацию цитохрома С в водном пуле МЭ и наличие взаимодействия между белком и ее компонентами.

В зависимости от структуры введенный компонент может находиться в водном пуле МЭ, на границе раздела, либо в хвостовой части молекулы АОТ [50]. При этом локализация цитохрома С влияет на каталитическое действие белка. В связи с тем, что АОТ имеет в своей структуре заряженную SO_3^- группу, мы предполагаем наличие электростатического взаимодействия между головными группами ПАВ и цитохромом С.

Методом ДРС установлено, что при введении цитохрома С происходит некоторое уменьшение размера капель МЭ и более узкое распределение по размерам (рис. 3), что также показывает взаимодействие ПАВ и цитохрома С.

При этом дзета-потенциал МЭ с цитохромом С принимает более отрицательные значения от -33.9 ± 1.4 до -55.1 ± 2.1 мВ, что свидетельствует о стабильности системы. Этот результат согласуется с полученные ранее данными для системы изооктан/АОТ/вода [51], а также гептан/АОТ/вода [42]. В МЭ на основе АОТ поверхностный заряд формируется за счет диссоциации сульфогрупп молекул ПАВ. В неполярном растворителе (ИПМ) гидрофильные «головки» молекул АОТ с полярными сульфогруппами ($-SO_3^-$) направлены внутрь водного ядра мицеллы, а гидрофобные углеводородные «хвосты» – наружу в масло. Отрицательный заряд сосредоточен на внешней границе водного пула, так как именно туда ориентированы сульфогруппы.

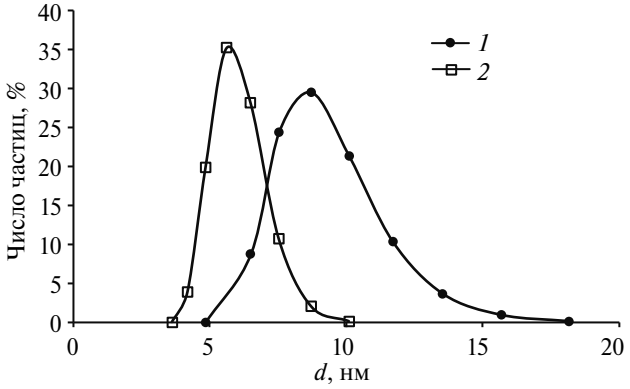


Рис. 3. Распределение капель МЭ по размерам без цитохрома С (*1*) и в его присутствии (*2*)

Fig. 3. Distribution of ME droplets by size without cytochrome C (*1*) and in its presence (*2*)

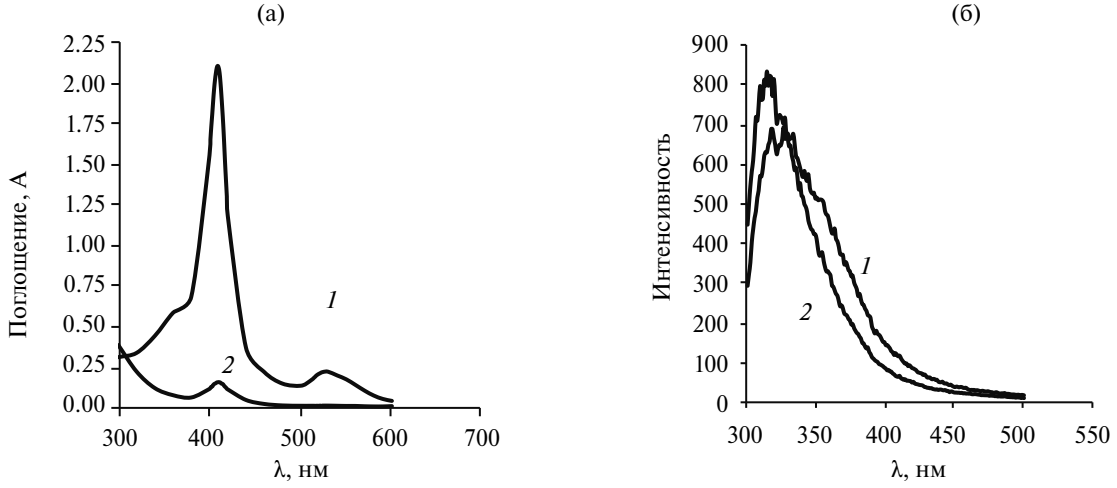


Рис. 2. Спектры (а) поглощения (*1* – водный раствор цитохрома С, *2* – цитохром С в МЭ) и (б) люминесценции (*1* – МЭ, *2* – МЭ с цитохромом С), ex. 280 нм

Fig. 2. Absorption spectra (а) (*1* – aqueous solution of cytochrome C, *2* – cytochrome C in ME) and luminescence (б) (*1* – ME, *2* – ME with cytochrome C), ex. 280 nm

Противоионы (катионы натрия), нейтрализующие поверхностный заряд, располагаются внутри водного пула мицеллы и экранируют отталкивание отрицательно заряженных головок АОТ. При добавлении положительно заряженного цитохрома происходит адсорбция белка на молекулах АОТ. При этом, вероятно, плоскость скольжения сдвигается ближе к центру водного ядра, тогда противоионы Na^+ оказываются внутри плоскости скольжения, и теперь они сильнее экранируют положительный заряд самого белка, оставляя не скомпенсированным избыточный отрицательный заряд сульфогрупп АОТ на границе. В результате этого измеряемый дзета-потенциал падает в отрицательную область. Возможно, это вызвано конформационными изменениями белка в результате электростатического взаимодействия с полярными сульфогруппами и переходом в состояние «расплавленной глобулы». Данный вывод согласуется с работой Ларсона К.М. [52], который показал, что электростатическое взаимодействие нативного цитохрома С приводит к конформационным изменениям.

Таким образом, при солюбилизации цитохрома С система остается стабильной, что позволяет использовать ее как реакционную среду для проведения реакции.

При введении цитохрома С в жидкокристаллическую систему (образец 7) увеличивается температура фазового перехода ЖК с 45 до 67°С, что указывает на изменение структуры системы в результате взаимодействия АОТ и цитохрома С. Такой эффект наблюдался нами ранее для ЖК вода/АОТ/ИПМ при добавлении аминокислот [53], а также описан в работе [54], где на примере смеси додецилсульфат натрия–олигопептид–вода показан сдвиг формирования гексагональной мезофазы в область более низких концентраций ПАВ в системах с насыщенными водными растворами дипептидов глицилглицина и аланилаланина, а также трипептида–глицилглицилглицина по сравнению с бинарной системой «додецилсульфат натрия–вода». В связи с тем, что цитохром С состоит из последовательности аминокислот, мы можем отнести этот эффект и к нашим системам.

Для исследования взаимодействия АОТ и цитохрома С были записаны ЯМР спектры раствора АОТ, цитохрома С, а также раствора АОТ + цитохром С (рис. 4). Для приготовления растворов использовалась дейтерированная вода. Области ЯМР соответствуют протонам водорода, указанным на рис. 4 и в табл. 2.

Установлено, что на спектре раствора АОТ в дейтерированной воде с добавленным цитохромом С наблюдается сдвиг по сравнению со спектром раствора АОТ без цитохрома С. В табл. 2 представлены количественные величины химических сдвигов.

Сигнал при 4.70 м.д. принадлежит остаточным протонам дейтерированной воды. Остальные сигналы ЯМР при 3.95, 2.92, 1.43, 1.14 и 0.75 м.д. относятся к протонам химических групп АОТ, представленных на рис. 4.

Результаты (табл. 2) показывают изменение химических сдвигов в спектральной области 2 и 3, что соответствует сигналам протонов вокруг сульфогрупп и протонов, связанных с остаточными частями карбоксильных групп. В других спектральных областях изменения химических сдвигов были незначительными. При сравнении спектров раствора цитохрома С и системы АОТ/дейтерированная вода/цитохром С

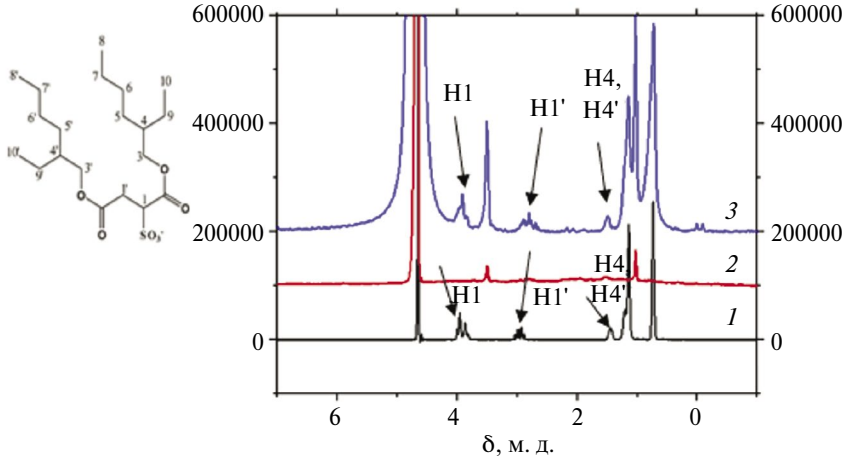


Рис. 4. ^{1}H ЯМР спектры: *1* – раствора АОТ (*C* = 1 масс. %), *2* – цитохрома С (*C* = 1 масс. %), *3* – раствора АОТ + цитохром С (1:1) в дейтерированной воде, а также молекулярная структура и нумерация протонов в молекуле АОТ

Fig. 4. ^{1}H NMR spectra: *1* – AOT solution (*C* = 1 wt %), *2* – cytochrome C (*C* = 1 wt %), *3* – AOT + cytochrome C (1:1) solution in deuterated water, as well as the molecular structure and proton numbering in the AOT molecule

наблюдаются смещения сигналов и изменение их ширины, что свидетельствует об изменении локального окружения протонов белка и снижении их подвижности. Это указывает на влияние АОТ на структуру и динамику цитохрома С.

При проведении реакции биокатализа важно, чтобы система сохраняла свою мицеллярную структуру. Поэтому мы сравнили ЯМР спектр МЭ и МЭ с добавленным цитохромом (рис. 5).

Показано, что основные сигналы ПАВ сохраняют свои химические сдвиги при добавлении цитохрома С. Следовательно, несмотря на наличие взаимодействия между белком и ПАВ, оно не является настолько сильным, чтобы оказывать влияние на характеристичные химические сдвиги ядер ^{1}H в молекулах АОТ.

Применение МЭ вода/АОТ/ИПМ в качестве реакционной среды для проведения биокаталитической реакции

Учитывая термодинамическую стабильность и применимость обратных МЭ для стабилизации белка, мы использовали микродомены воды в этих системах для проведения модельной реакции, катализируемой цитохромом С. Предполагается, что такая МЭ будет действовать как эффективный каталитический реактор для солюбилизации и повышения каталитической активности ферментов. В качестве подтверждения этого утверждения, нами была проведена реакция окисления гваякола (2-метоксифенол) перекисью водорода в выбранной нами МЭ (рис. 6).

Таблица 2. ^{1}H ЯМР параметры молекулы АОТ в растворе и с добавлением цитохрома С
Table 2. ^{1}H NMR parameters of the AOT molecule in solution and with the addition of cytochrome C

Область спектра	δ, ppm		$\Delta\delta$, ppm $\delta^{AOT}-\delta^{AOT+цитохром\ C}$	Функциональная группа
	АОТ	АОТ + цитохром С		
1	4.70	4.70	0	D_2O
2	3.95	3.91	0.01	H1
3	2.92	2.80	0.12	H1′
4	1.43	1.48	0.05	H4, H4′
5	1.14	1.14	0	H5, H6, H7, H5′, H6′, H7′
6	0.75	0.75	0	H8, H8′

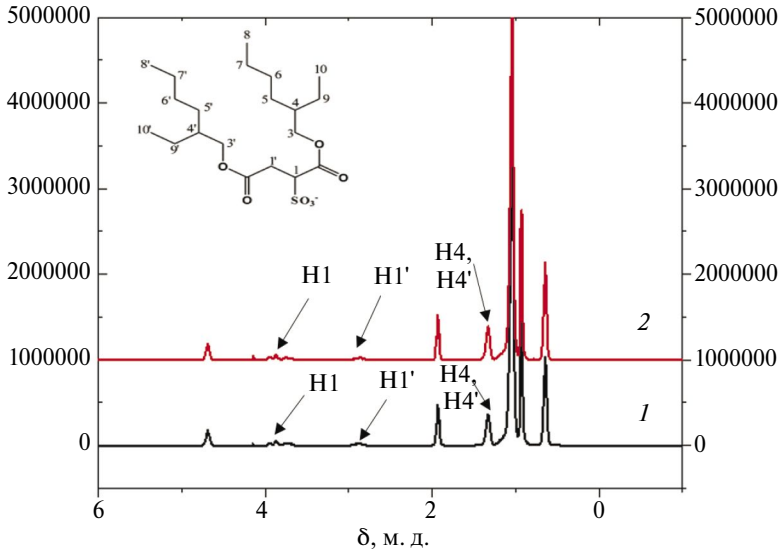


Рис. 5. ^{1}H ЯМР спектр МЭ АОТ/дейтерированная вода/ИПМ (образец 1, табл. 1), МЭ АОТ/дейтерированная вода/ИПМ/цитохром С, а также молекулярная структура и нумерация протонов в молекуле АОТ

Fig. 5. ^{1}H NMR spectrum of AOT/deuterated water/IPM ME (sample 1, Table 1), AOT/deuterated water/IPM/cytochrome C ME, as well as the molecular structure and proton numbering in the AOT molecule

В результате проведения реакции при участии катализатора – цитохрома С, должен получаться тетрагваякол. Его концентрацию рассчитывали спектрофотометрически, учитывая коэффициент экстинкции равным 26.6 $мМ^{-1}{\cdot}см^{-1}$, согласно литературным данным [30]. Несмотря на результаты, полученные М. Кауром с соавторами [30] для системы вода/АОТ/ионная жидкость, в нашем случае установлено, что в МЭ эта реакция протекает медленнее, чем в фосфатном буферном растворе (pH 7) (рис. 7, кривая *2*).

Совокупность полученных нами экспериментальных результатов показала, что существует взаимодействие между головными группами АОТ и цитохромом С. Мы предполагаем, что в результате некоторого связывания цитохрома С с АОТ снижается его каталитическая активность. Эти результаты показали, что взаимодействие между белком и мицеллярной поверхностью является доминирующим фактором, влияющим на структуру белка в обратных мицеллах. Оно определяется расположением растворенных белков и состоянием мицеллярной поверхности. Таким образом, поместив гваякол и перекись водорода в МЭ вода/АОТ/ИПМ/цитохром С, мы можем замедлить ее протекание.

Для объяснения полученного результата мы воспользовались методом флуоресцентной спектроскопии с применением зондов лаурдана и флуоресцеина. Этот метод часто применяется для исследования локализации введенных веществ в обратных МЭ, так как интенсивность различных вибронных пиков очень сильно зависит от полярности микроокружения зонда [55]. Так, лаурдан является распространенным зондом для исследования структур бислоев и мембран. Он находится на границе вода/масло, при этом хвост лауриновой кислоты прикреплен к области гидрофобного радикала [56, 57]. Другим зондом для исследования взаимодействий является флуоресцеин. Он хорошо растворяется в воде и будет предположительно находиться в водном пуле МЭ [58]. Путем совместного применения данных зондов можно оценить полярность микроокружения введенного цитохрома С и предположить его локализацию в МЭ. Были рассчитаны значения анизотропии флуоресценции зондов (*r*), параметр порядка (*S*) и критический угол отклонения зонда (θ) по формулам (1)–(3) для ИПМ, МЭ и МЭ с введенным цитохромом С (табл. 3).

Полученные результаты показывают, что введение цитохрома С приводит к увеличению анизотропии полярного флуоресцеина, находящегося в водном пуле МЭ и уменьшению анизотропии неполярного лаурдана, находящегося в хвостах АОТ.

При этом происходит адсорбция ПАВ на белке и формирование ансамблей молекул, что влияет на его свойства. Также в случае применения флуоресцеина

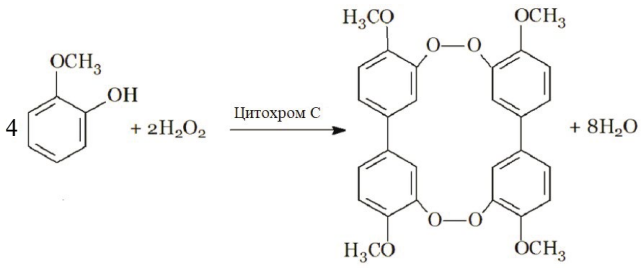


Рис. 6. Реакция окисления гваякола перекисью водорода

Fig. 6. Oxidation reaction of guaiacol with hydrogen peroxide

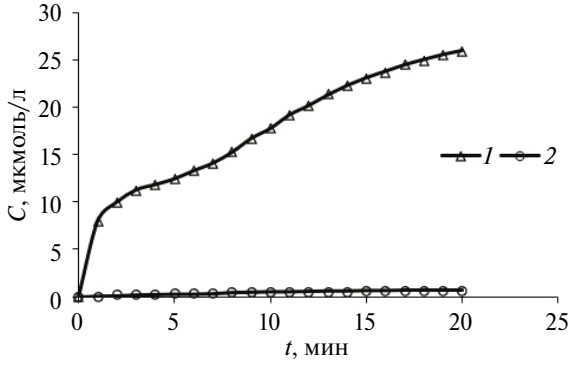


Рис. 7. Зависимость концентрации образовавшегося тетрагваякола от времени реакции в фосфатном буфере (*1*) и в МЭ (*2*)

Fig. 7. Dependence of the concentration of the formed tetraguaiacol on the reaction time in phosphate buffer (*1*) and in ME (*2*)

Таблица 3. Значения параметров анизотропии лаурдана и флуоресцеина в исследуемых системах

Table 3. Values of anisotropy parameters of laurdan and fluorescein in the studied systems

Компоненты	Лаурдан			Флуоресцеин		
	r	*S*	θ_c	*r*	*S*	θ_c
ИПМ	0.064	0.30	64.9	0.015	0.04	85.6
МЭ	0.104	0.50	51.7	0.140	0.46	54.5
МЭ + цитохром С	0.085	0.39	58.6	0.189	0.61	44.2

уменьшается критический угол отклонения зонда и возрастает параметр порядка. Это указывает на то, что равновесное распределение молекул зонда в присутствии цитохрома С в системе становится более ограниченным, что свидетельствует о повышении микровязкости гидрофильного слоя мицеллы. Следовательно, цитохром С находится в водном пуле МЭ вблизи полярных головных групп АОТ (рис. 8).

Для контролируемого увеличения скорости каталитической реакции окисления гваякола в присутствии цитохрома С, мы ввели в МЭ гидрофильные квантовые точки $Cd_{0.9}Mn_{0.1}S/ZnS$, стабилизированные МПК. На рис. 9 изображена кинетическая кривая, иллюстрирующая протекание реакции в присутствии квантовых точек.

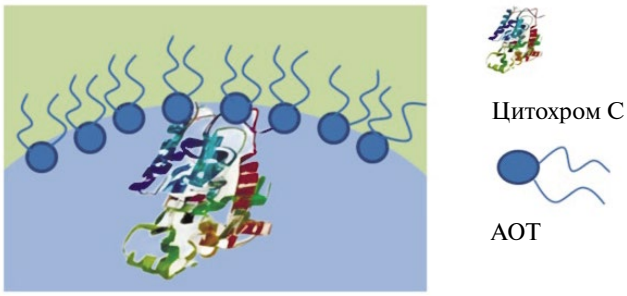


Рис. 8. Схематическое расположение цитохрома С в МЭ

Fig. 8. Schematic diagram of the location of cytochrome C in a ME

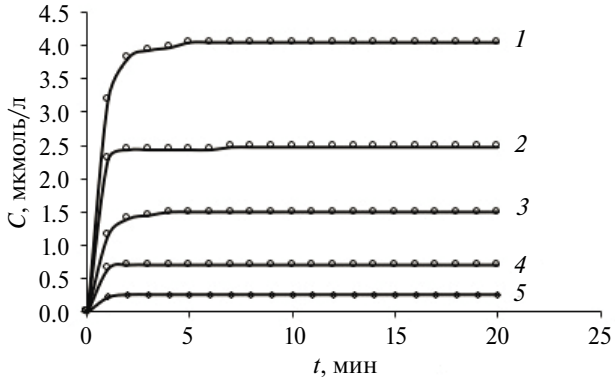


Рис. 9. Зависимость концентрации образовавшегося тетрагваякола в МЭ вода/АОТ/ИПМ с добавлением квантовых точек различной концентрации от времени реакции: *1* – $C = 0.4$; *2* – $C = 0.3$; *3* – $C = 0.2$; *4* – $C = 0.1$; *5* – $C = 0.05$

Fig. 9. Dependence of the concentration of the formed tetraguaiacol in water/AOT/IPM microemulsions with the addition of quantum dots of different concentrations on the reaction time: *1* – $C = 0.4$; *2* – $C = 0.3$; *3* – $C = 0.2$; *4* – $C = 0.1$; *5* – $C = 0.05$

Было установлено, что реакция протекает значительно интенсивнее, чем в буфере, и выход тетрагваякола увеличивается практически прямо пропорционально концентрации введенных квантовых точек (рис. 10).

Проведена количественная оценка каталитической активности цитохрома при введении квантовых точек. В табл. 4 представлена концентрация образовавшегося тетрагваякола через 5 мин проведения реакции в МЭ с цитохромом С, в буфере с добавлением цитохрома С, а также в МЭ с цитохромом С и квантовыми точками с различной концентрацией.

Также выявлено, что реакция получения тетрагваякола является реакцией 2 порядка. Рассчитана константа скорости по уравнению (4):

$$K = \frac{1}{\tau}\left(\frac{1}{C} - \frac{1}{C_0}\right). \quad (4)$$

Из данных табл. 4 следует, что с увеличением концентрации квантовых точек увеличивается выход тетрагваякола и константа скорости реакции.

В связи с тем, что используемые нами квантовые точки стабилизированы МПК, мы предполагаем сильное взаимодействие между цитохромом С и МПК, гораздо более сильное, чем между цитохромом С и АОТ, приводящее к оттягиванию цитохрома С с поверхности раздела фаз в водный пул. Это позволяет цитохрому С более выраженно проявлять каталитическое действие. В подтверждение этого предположения существует ряд работ, исследующих взаимодействие цитохрома С с МПК.

В работе [59] было изучено двумерное распределение цитохрома С, адсорбированного на фазово-разделенных бинарных самоорганизующихся монослоях, образованных в результате соадсорбции 3-МПК и 1-гексадекантиола (ГДТ) на поверхности Au (111).

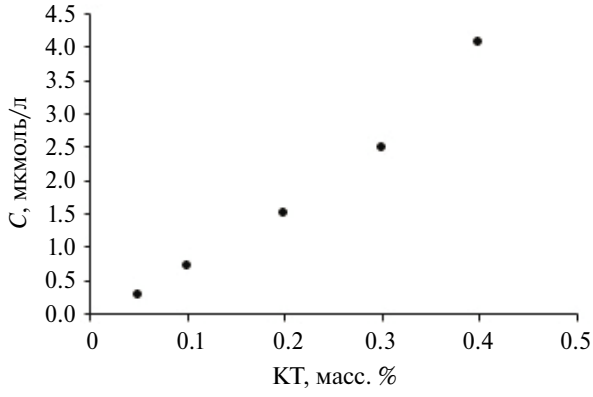


Рис. 10. Зависимость концентрации полученного тетрагваякола от концентрации введенных квантовых точек

Fig. 10. Dependence of the concentration of the obtained tetraguaiacol on the concentration of introduced quantum dots

Таблица 4. Концентрация выделившегося тетрагваякола и константа скорости реакции при добавлении квантовых точек и без них

Table 4. Concentration of released tetraguaiacol and reaction rate constant with and without the addition of quantum dots

Среда / Параметр	МЭ	буфер	МЭ+КТ $C_{кт} = 0.05\%$	МЭ+КТ $C_{кт} = 0.1\%$	МЭ+КТ $C_{кт} = 0.2\%$	МЭ+КТ $C_{кт} = 0.3\%$	МЭ+КТ $C_{кт} = 0.4\%$
C, мкмоль/л	0.3	12.4	0.3	0.7	1.5	2.4	4.1
K, л/(моль·мин)	0.02	20.7	0.56	1.60	2.56	5.90	8.20

Методом сканирующей микроскопии было установлено, что молекулы цитохрома С преимущественно расположены на доменах, состоящих в основном из МПК с (−COOH) концевой группой, и отсутствуют на доменах ГДТ. Циклические вольтамперограммы для адсорбированного цитохрома С с Au (111), модифицированного бинарными самоорганизующимися монослоями МПК и ГДТ, показали анодные и катодные пики при 50 мВ, которые обусловлены окислительно-восстановительной реакцией цитохрома С, адсорбированного на алкантиоловых монослоях с (−COOH) концевыми группами.

Авторами [60] было показали, что периферический мембранный белок цитохром С прочно взаимодействует с наночастицами золота (AuNPs), покрытых 3-МПК, в отличие от других покрытий. Было установлено, что взаимодействие носит электростатический, Ван-дер-Ваальсовский характер и характерно для всех видов цитохрома С.

Однако несмотря на значительное влияние МПК, присутствие именно наночастиц (квантовых точек) является критическим фактором, и простая замена их на свободную МПК не даст аналогичного эффекта. Свободная МПК представляет собой гибкую малую молекулу. При введении в систему обратных МЭ АОТ свободная МПК будет хаотично распределяться между водным пулом и поверхностью АОТ, не создавая стабильного пространственного барьера. Напротив, квантовая точка выступает в роли жесткого наноразмерного ядра. Молекулы МПК плотно координируются на поверхности квантовых точек своими тиольными группами (−SH), формируя упорядоченную гидрофильную «корону» из карбоксильных групп (−COOH). Именно эта фиксированная трехмерная наноструктура эффективно разделяет белок и молекулы ПАВ. Исключение квантовых точек из системы приведет к потере защитного нанокаркаса.

Таким образом, путем добавления квантовых точек, стабилизированных МПК, можно увеличить скорость реакции, катализируемой цитохромом С. Кроме того, варьируя концентрацию квантовых точек мы можем влиять на количество полученного продукта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, показано, что системы вода/АОТ/ИПМ способны эффективно солюбилизировать цитохром С без разрушения мицеллярной структуры. Данные ЯМР и люминесцентной спектроскопии указывают на связывание белка с полярными группами АОТ и его локализацию в водном пуле МЭ. Каталитические свойства цитохрома С зависят от его микроокружения и расположения в МЭ. На границе раздела он менее активен за счет адсорбционного взаимодействия с SO_3^- и $COOH^-$ группами АОТ. При добавлении квантовых точек, стабилизированных МПК, он перемещается в глубь водного пула МЭ, благодаря электростатическому взаимодействию с $COOH^-$ группами МПК. Таким образом, полученную нами систему можно использовать в качестве микрореактора для проведения биокатализа с управляемой скоростью реакции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jieyao Zhang, Shan Wang, Changzhu Wu. Responsive emulsions enabled by supramolecular polymers for recyclable biocatalysis. *Small*. 2025. Vol. 22. no. 9. P. e11147. https://doi.org/10.1002/smll.202511147
2. Sarkar S., Das K., Das P.K. Hydrophobically tailored carbon dots toward modulating microstructure of reverse micelle and amplification of lipase catalytic response. *Langmuir*. 2016. Vol. 32. no. 16. Pp. 3890–3900. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b04750
3. Orlich B., Schomäcker R. Enzyme catalysis in reverse micelles. In: Dutta N.N., Hammar F., Haralampidis K. et al. (eds.). *History and Trends in Bioprocessing and Biotransformation. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Vol. 75. Berlin, Heidelberg: Springer, 2002. Pp. 185–208. https://doi.org/10.1007/3-540-44604-4_6
4. Xinru Yu, Yuhong Jin, Jialu Sun et al. The role of microemulsions in enhancing the stability of biopharmaceuticals. *Drug Des. Devel. Ther*. 2026. Vol. 20. P. 551864. https://doi.org/10.2147/DDDT.S551864

5. Mitsou E., Xenakis A., Zoumpanioti M. Oxidation catalysis by enzymes in microemulsions. *Catalysts*. 2017. Vol. 7. no. 2. Pp. 52–73. https://doi.org/10.3390/catal7020052
6. Abel S., Waks M., Marchi M. Molecular dynamics simulations of cytochrome C unfolding in AOT reverse micelles: The first steps. *Eur. Phys. J. E*. 2010. Vol. 32. Pp. 399–409. https://doi.org/10.1140/epje/i2010-10635-x
7. Nair V.K., More M.K., Sawant J.J. et al. Proteins as biocatalysts and biomaterials. *Int. J. Chem. Res.* 2009. Vol. 1. no. 2. Pp. 1–7. http://doi.org/10.9735/0975-3699.1.2.1-7
8. Holyavka M.G., Goncharova S.S., Redko Y.A. et al. Novel biocatalysts based on enzymes in complexes with nano- and micromaterials. *Biophys. Rev.* 2023. Vol. 15. no. 5. Pp. 1127–1158. https://doi.org/10.1007/s12551-023-01146-6
9. Truppo M.D. Biocatalysis in the pharmaceutical industry: The need for speed. *ACS Med. Chem. Lett*. 2017. Vol. 8. no. 5. Pp. 476–480. https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.7b00114
10. Jiandong Cui, Gao-Wei Zheng, Black G. et al. Editorial: Enzyme biocatalysts: Design and application. *Front. Chem.* 2022. Vol. 10. Pp. 851857. https://doi.org/10.3389/fchem.2022.851857
11. Zhiyong Sun, Changzhu Wu. Pickering emulsions biocatalysis: Recent developments and emerging trends. *Small*. 2024. Vol. 20. no. 37. P. 2402208. https://doi.org/10.1002/smll.202402208
12. Pavlidis I.V., Tzafestas K., Stamatis H. Water-in-ionic liquid microemulsion-based organogels as novel matrices for enzyme immobilization. *Biotech. J*. 2010. Vol. 5. no. 8. Pp. 805–812. https://doi.org/10.1002/biot.201000052
13. Bezrukov A.N., Galeeva A.I., Krupin A.S. et al. Molecular orientation behavior of lyotropic liquid crystal–carbon dot hybrids in microfluidic confinement. *Int. J. Mol. Sci.* 2024. Vol. 25. no. 10. P. 5520. https://doi.org/10.3390/ijms25105520
14. Shiralipour F., Akhtar Y.N., Gilmor A. et al. The role of liquid crystal elastomers in pioneering biological applications. *Crystals*. 2024. Vol. 14. no. 10. P. 859. https://doi.org/10.3390/cryst14100859
15. Галеева А.И., Хуснутдинова Р.И., Крупин А.С. и др. Структурно-фазовые изменения и реологические свойства лиотропных жидких кристаллов с «синими» углеродными точками. *Жидкие кристаллы и их практическое использование*. 2025. Т. 25. № 2. С. 20–29. https://doi.org/10.18083/LCAppl.2025.2.20
16. de Almeida Silveira D.K., do Nascimento P.E.S., Lisboa M.C. et al. *Moringa oleifera* fixed oil–composed lyotropic liquid crystals for the delivery of resveratrol. *J. Mol. Liq.* 2025. Vol. 438. Part 2. P. 128630. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2025.128630
17. Hannibal L., Tomasina F., Capdevila D.A. et al. Alternative conformations of cytochrome *c*: Structure, function, and detection. *Biochemistry*. 2016. Vol. 55. no. 3. Pp. 407–428. https://doi.org/10.1021/acs.biochem.5b01385
18. Santucci R., Sinibaldi F., Cozza P. et al. Cytochrome *c*: An extreme multifunctional protein with a key role in cell fate. *Int. J. Biol. Macromol.* 2019. Vol. 136. Pp. 1237–1246. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.180
19. Chalmpes N., Patila M., Kouolumpis A. et al. Graphene oxide–Cytochrome c multilayered structures for biocatalytic applications: Decrypting the role of surfactant in Langmuir–Schaefer layer deposition. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2022. Vol. 14. no. 22. Pp. 26204–26215. https://doi.org/10.1021/acsami.2c03944
20. Shukla A.K., Abidi S.M.S., Sharma C. et al. Single-walled carbon nanotube conjugated cytochrome *c* as exogenous nano catalytic medicine to combat intracellular oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 2022. Vol. 193. Part 1. Pp. 238–252. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.10.276
21. Jiayu Li, Hongbin Li. New insights into the folding–unfolding mechanism and conformations of cytochrome C. *Chem. Sci.* 2022. Vol. 13. no. 25. Pp. 7498–7508. https://doi.org/10.1039/d2sc01126c
22. Gažová Z., Antaľík M., Bágel'ová J. Effect of ionic strength on the interfacial properties of cytochrome *c*. *Biochim. Biophys. Acta - Protein Struct. Mol. Enzymol*. 1999. Vol. 1432. no. 1. Pp. 82–91. https://doi.org/10.1016/S0167-4838(99)00091-6
23. Belikova N.A. Vladimirov Yu.A., Osipov A.N. et al. Peroxidase activity and structural transitions of Cytochrome *c* bound to cardiolipin-containing membranes. *Biochemistry*. 2006. Vol. 45. no. 15. Pp. 4998–5009. https://doi.org/10.1021/bi0525573
24. Das K., Maiti S., Das P.K. Probing enzyme location in water-in-oil microemulsion using enzyme–carbon dot conjugates. *Langmuir*. 2014. Vol. 30. no. 9. Pp. 2448–2459. https://doi.org/10.1021/la403835h
25. Shilova S.V., Sagdeev D.O., Mirgaleev G.M. et al. Novel nanosensors represented by CdS/ZnS quantum dots doped with manganese (II) ions for detection of vancomycin. *Phys. Scr*. 2025. Vol. 100. no. 3. P. 035906. https://doi.org/10.1088/1402-4896/adadaa
26. Dogrul A., Arslan S.A., Tirnaksiz F. Water/oil type microemulsion systems containing lidocaine hydrochloride: *in vitro* and *in vivo* evaluation. *J. Microencapsul.* 2014. Vol. 31. no. 5. Pp. 448–460. https://doi.org/10.3109/02652048.2013.879926

27. Swan J.W., Furst E.M. A simpler expression for Henry's function describing the electrophoretic mobility of spherical colloids. *J. Colloid Interface Sci*. 2012. Vol. 388, no. 1. Pp. 92–94. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.08.026
28. Harris F.M., Best K.B., Bell J.D. Use of laurdan fluorescence intensity and polarization to distinguish between changes in membrane fluidity and phospholipid order. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* 2002. Vol. 1565. no. 1. Pp. 123–128. https://doi.org/10.1016/s0005-2736(02)00514-x
29. Dutt G.B. Fluorescence anisotropy of ionic probes in AOT reverse micelles: Influence of water droplet size and electrostatic interactions on probe dynamics. *J. Phys. Chem. B.* 2008. Vol. 112. no. 24. Pp. 7220–7226. https://doi.org/10.1021/jp711633u
30. Kaur M., Kaur H., Singh M. et al. Biamphiphilic ionic liquid based aqueous microemulsions as an efficient catalytic medium for cytochrome *c*. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2021. Vol. 23. no. 1. Pp. 320–328. https://doi.org/10.1039/D0CP04513F
31. Мурашова Н.М., Юртов Е.В. Лецитиновые органогели как перспективные функциональные наноматериалы. *Российские нанотехнологии*. 2015. Т. 10. № 7–8. С. 5–14.
32. Задымова Н.М., Малашихина А.А. Наноэмульсии полиоксиэтилен (4) лаурилового эфира с солюбилизированным основанием хлоргексидина. *Коллоидный журнал*. 2023. Т. 85. № 3. С. 296–306. https://doi.org/10.31857/S0023291223600074
33. Саутина Н.В., Рыбакова А.И., Губайдуллин А.Т. и др. Жидкокристаллическая мезофаза системы вода/АОТ/изопропилмиристат в процессах трансдермальной доставки аминокислот. *Жидкие кристаллы и их практическое использование*. 2020. Т. 20. № 2. С. 91–99. https://doi.org/10.18083/LCAppl.2020.2.91
34. Саутина Н.В., Губайдуллин А.Т., Галяметдинов Ю.Г. Особенности структурных фазовых переходов в самоорганизующейся системе АОТ/вода/изопропилмиристат при введении L-лизина. *Коллоидный журнал*. 2023. Т. 85. № 2. С. 233–243. https://doi.org/10.31857/S0023291223600013
35. Huan-Xiang Zhou, Rivas G., Minton A.P. Macromolecular crowding and confinement: Biochemical, biophysical, and potential physiological consequences. *Annu. Rev. Biophys.* 2008. Vol. 37. Pp. 375–397. https://doi.org/10.1146/annurev.biophys.37.032807.125817
36. Karpe P., Ruckenstein E. The enzymatic superactivity in reverse micelles: Role of the dielectric constant. *J. Colloid Interface Sci.* 1991. Vol. 141. no. 2. Pp. 534–552. https://doi.org/10.1016/0021-9797(91)90350-H
37. Luisi P.L., Magid L.J., Fendler J.H. Solubilization of enzymes and nucleic acids in hydrocarbon micellar solutions. *Crit. Rev. Biochem*. 1986. Vol. 20. no. 4. Pp. 409–474. https://doi.org/10.3109/10409238609081999
38. Levinger N.E. Water in confinement. *Science*. 2002. Vol. 298. no. 5599. Pp. 1722–1723. https://doi.org/10.1126/science.1079322
39. Mitsou E., Kalogianni E.P., Georgiou D. et al. Formulation and structural study of a biocompatible water-in-oil microemulsion as an appropriate enzyme carrier: The model case of horseradish peroxidase. *Langmuir*. 2019. Vol. 35. no. 1. Pp. 150–160. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b03124
40. Levashov A.V., Klyachko N.L. Micellar enzymology: methodology and technique. *Russ. Chem. Bull*. 2001. Vol. 50. no. 10. Pp. 1718–1732. https://doi.org/10.1023/A:1014361508512
41. Jolivalt C., Minier M., Renon H. Extraction of cytochrome *c* in sodium dodecylbenzenesulfonate microemulsions. *Biotechnol. Progr*. 1993. Vol. 9. no. 5. Pp. 456–461 https://doi.org/10.1021/bp00023a003
42. Adachi M., Harada M. Time dependence of the solubilization state of cytochrome c in AOT water-in-oil microemulsion. *J. Colloid Interface Sci*. 1994. Vol. 165. no. 1. Pp. 229–235. https://doi.org/10.1006/jcis.1994.1223
43. Kawai C., Pessoto F.S., Rodrigues T. et al. pH-sensitive binding of cytochrome *c* to the inner mitochondrial membrane. Implications for the participation of the protein in cell respiration and apoptosis. *Biochemistry*. 2009. Vol. 48. no. 35. Pp. 8335–8342. https://doi.org/10.1021/bi9006463
44. Adachi M., Harada M. Solubilization mechanism of cytochrome c in sodium bis(2-ethylhexyl) sulfosuccinate water/oil microemulsion. *J. Phys. Chem*. 1993. Vol. 97. no. 14. Pp. 3631–3640. https://doi.org/10.1021/j100116a031
45. Cassin G., Duda Y., Holovko M. et al. Cytochrome-*c* in reverse micelles: Small angle x-ray scattering measurements, percolation process, and critical behavior: An interpretation with an association model. *J. Chem. Phys.* 1997. Vol. 107. Pp. 2683–2693. https://doi.org/10.1063/1.474578
46. Paul M., Govind C., Karunakaran V. Significance of the double bond in the acyl chain of cardiolipin revealed by the partial unfolding dynamics of cytochrome c using femtosecond transient absorption spectroscopy. *J. Phys. Chem. B.* 2024. Vol. 128. no. 48. Pp. 11885–11892. https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.4c06067
47. Hellwig P., Grzybek S., Behr J. et al. Electrochemical and ultraviolet/visible/infrared spectroscopic analysis of heme *a* and a_3 redox reactions in the cytochrome *c* oxidase from *Paracoccus denitrificans*: Separation of heme *a* and a_3 contributions and assignment of vibrational modes. *Biochemistry*. 1999. Vol. 38. no. 6. Pp. 1685–1694. https://doi.org/10.1021/bi982282+

48. Bermejo R., Talavera E.M., del Valle C. et al. C-phycocyanin incorporated into reverse micelles: a fluorescence study. *Colloids Surf. B: Biointerfaces*. 2000. Vol. 18. no. 1. Pp. 51–59. https://doi.org/10.1016/S0927-7765(99)00129-0

49. Wu L.L., Huang H.G., Li J.X. et al. Time-resolved UV-vis spectroelectrochemical studies of the electron transfer process of cytochrome *c*. *Electrochim. Acta*. 2000. Vol. 45. no. 18. Pp. 2877–2881. https://doi.org/10.1016/S0013-4686(00)00362-5

50. Tartaro G., Mateos H., Schirone D. et al. Microemulsion microstructure(s): A tutorial review. *Nanomaterials*. 2020. Vol. 10. no. 9. P. 1657. https://doi.org/10.3390/nano10091657

51. Farivar F., Moosavi-Movahedi A.A., Sefidbakht Y. et al. Cytochrome c in sodium dodecyl sulfate reverse micelle nanocage: From a classic electron carrier protein to an artificial peroxidase enzyme. *Biochem. Eng. J*. 2010. Vol. 49. no. 1. Pp. 89–94. https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.11.016

52. Larsson K.M., Pileni M.P. Interactions of native and modified cytochrome C with a negatively charged reverse micellar liquid interface. *Eur. Biophys J*. 1993. Vol. 21. no. 6. Pp. 409–416. https://doi.org/10.1007/BF00185868

53. Саутина Н.В., Галяметдинов Ю.Г. Влияние L-лизина на температуру фазовых переходов в трехкомпонентной системе вода/бис-2-этилгексилсульфосукцинат натрия/изопропилмиристат. *Журнал физической химии*. 2019. Т. 93. № 5. С. 649–699. https://doi.org/10.1134/S00444537190502 5X

54. Жарникова Н.В., Смирнова А.И., Гиричева Н.И. и др. Влияние добавок аминокислот и олигопептидов на формирование лиотропной гексагональной фазы в водных растворах додецилсульфата натрия. *Жидкие кристаллы и их практическое использование*. 2019. Т. 19. № 1. С. 14–25. https://doi.org/10.18083/LCAppl.2019.1.14

55. Piñeiro L., Novo M., Al-Soufi W. Fluorescence emission of pyrene in surfactant solutions. *Adv. Colloid Interface Sci*. 2015. Vol. 215. Pp. 1–12. https://doi.org/10.1016/j.cis.2014.10.010

56. Amaro M., Reina F., Hof M. et al. Laurdan and di-4-ANEPPDHQ probe different properties of the membrane. *J. Phys. D: Appl. Phys*. 2017. Vol. 50. no. 13. P. 134004. https://doi.org/10.1088/1361-6463/aa5dbc

57. Lissi E.A., Abuin E.B., Rubio M.A. et al. Fluorescence of prodan and laurdan in AOT/heptane/water microemulsions: Partitioning of the probes and characterization of microenvironments. *Langmuir*. 2000. Vol. 16. no. 1. Pp. 178–181. https://doi.org/10.1021/la990720n

58. Vodolazkaya N.A., Kleshchevnikova Y.A., Mchedlov-Petrossyan N.O. Differentiating impact of the AOT-stabilized droplets of water-in-octane microemulsions as examined using halogenated fluoresceins as molecular probes. *J. Mol. Liq*. 2013. Vol. 187. Pp. 381–388. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2013.08.018

59. Hobara D., Imabayashi S.-I., Kakiuchi T. Preferential adsorption of horse heart cytochrome *c* on nanometer-scale domains of a phase-separated binary self-assembled monolayer of 3-mercaptopropionic acid and 1-hexadecanethiol on Au(111). *Nano Lett*. 2002. Vol. 2. no. 9. Pp. 1021–1025. https://doi.org/10.1021/nl0256863

60. Daly Jr. C.A., Allen C., Rozanov N. et al. Surface coating structure and its interaction with cytochrome *c* in EG_6-coated nanoparticles varies with surface curvature. *Langmuir*. 2020. Vol. 36. no. 18. Pp. 5030–5039. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c00681

REFERENCES

1. Jieyao Zhang, Shan Wang, Changzhu Wu. Responsive emulsions enabled by supramolecular polymers for recyclable biocatalysis. *Small*. 2025;**22**(9):e11147. https://doi.org/10.1002/smll.202511147

2. Sarkar S., Das K., Das P.K. Hydrophobically tailored carbon dots toward modulating microstructure of reverse micelle and amplification of lipase catalytic response. *Langmuir*. 2016;**32**(16):3890–3900. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b04750

3. Orlich B., Schomäcker R. Enzyme catalysis in reverse micelles. In: Dutta N.N., Hammar F., Haralampidis K. et al. (eds.). *History and Trends in Bioprocessing and Biotransformation. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Vol. 75. Berlin, Heidelberg: Springer, 2002:185–208. https://doi.org/10.1007/3-540-44604-4_6

4. Xinru Yu, Yuhong Jin, Jialu Sun et al. The role of microemulsions in enhancing the stability of biopharmaceuticals. *Drug Des. Devel. Ther.* 2026;**20**:551864. https://doi.org/10.2147/DDDT.S551864

5. Mitsou E., Xenakis A., Zoumpanioti M. Oxidation catalysis by enzymes in microemulsions. *Catalysts*. 2017;**7**(2):52–73. https://doi.org/10.3390/catal7020052

6. Abel S., Waks M., Marchi M. Molecular dynamics simulations of cytochrome C unfolding in AOT reverse micelles: The first steps. *Eur. Phys. J. E*. 2010;**32**:399–409. https://doi.org/10.1140/epje/i2010-10635-x

7. Nair V.K., More M.K., Sawant J.J. et al. Proteins as biocatalysts and biomaterials. *Int. J. Chem. Res*. 2009;**1**(2):1–7. http://doi.org/10.9735/0975-3699.1.2.1-7

8. Holyavka M.G., Goncharova S.S., Redko Y.A. et al. Novel biocatalysts based on enzymes in complexes with nano- and micromaterials. *Biophys. Rev.* 2023;**15**(5):1127–1158. https://doi.org/10.1007/s12551-023-01146-6
9. Truppo M.D. Biocatalysis in the pharmaceutical industry: The need for speed. *ACS Med. Chem. Lett.* 2017;**8**(5):476–480. https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.7b00114
10. Jiandong Cui, Gao-Wei Zheng, Black G. et al. Editorial: Enzyme biocatalysts: Design and application. *Front. Chem.* 2022;**10**:851857. https://doi.org/10.3389/fchem.2022.851857
11. Zhiyong Sun, Changzhu Wu. Pickering emulsions biocatalysis: Recent developments and emerging trends. *Small*. 2024;**20**(37):2402208. https://doi.org/10.1002/smll.202402208
12. Pavlidis I.V., Tzafestas K., Stamatis H. Water-in-ionic liquid microemulsion-based organogels as novel matrices for enzyme immobilization. *Biotechnol. J.* 2010;**5**(8):805–812. https://doi.org/10.1002/biot.201000052
13. Bezrukov A.N., Galeeva A.I., Krupin A.S. et al. Molecular orientation behavior of lyotropic liquid crystal–carbon dot hybrids in microfluidic confinement. *Int. J. Mol. Sci.* 2024;**25**(10):5520. https://doi.org/10.3390/ijms25105520
14. Shiralipour F., Akhtar Y.N., Gilmor A. et al. The role of liquid crystal elastomers in pioneering biological applications. *Crystals*. 2024;**14**(10):859. https://doi.org/10.3390/cryst14100859
15. Galeeva A.I., Khusnutdinova R.I., Krupin A.S. et al. Structural phase changes and rheological properties of lyotropic liquid crystals with "blue" carbon dots. *Liq. Cryst. and their Appl.* 2025;**25**(2):20–29. https://doi.org/10.18083/LCAppl.2025.2.20
16. de Almeida Silveira D.K., do Nascimento P.E.S., Lisboa M.C. et al. *Moringa oleifera* fixed oil–composed lyotropic liquid crystals for the delivery of resveratrol. *J. Mol. Liq.* 2025;**438**(part 2):128630. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2025.128630
17. Hannibal L., Tomasina F., Capdevila D.A. et al. Alternative conformations of cytochrome *c*: Structure, function, and detection. *Biochemistry*. 2016;**55**(3):407–428. https://doi.org/10.1021/acs.biochem.5b01385
18. Santucci R., Sinibaldi F., Cozza P. et al. Cytochrome *c*: An extreme multifunctional protein with a key role in cell fate. *Int. J. Biol. Macromol*. 2019;**136**:1237–1246. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.180
19. Chalmpes N., Patila M., Kouolumpis A. et al. Graphene oxide–Cytochrome c multilayered structures for biocatalytic applications: decrypting the role of surfactant in Langmuir–Schaefer layer deposition. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2022;**4**(22):26204–26215. https://doi.org/10.1021/acsami.2c03944
20. Shukla A.K., Abidi S.M.S., Sharma C. et al. Single-walled carbon nanotube conjugated cytochrome *c* as exogenous nano catalytic medicine to combat intracellular oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med*. 2022;**193**(part 2):238–252. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.10.276
21. Jiayu Li, Hongbin Li. New insights into the folding–unfolding mechanism and conformations of cytochrome *c*. *Chem. Sci.* 2022;**13**(25):7498–7508. https://doi.org/10.1039/d2sc01126c
22. Gažová Z., Antalík M., Bágel'ová J. Effect of ionic strength on the interfacial properties of Cytochrome c. *Biochim. Biophys. Acta - Protein Struct. Mol. Enzymol*. 1999;**1432**(1):82–91. https://doi.org/10.1016/S0167-4838(99)00091-6
23. Belikova N.A. Vladimirov Yu.A., Osipov A.N. et al. Peroxidase activity and structural transitions of Cytochrome *c* bound to cardiolipin-containing membranes. *Biochemistry*. 2006;**45**(15):4998-5009. https://doi.org/10.1021/bi0525573
24. Das K., Maiti S., Das P.K. Probing enzyme location in water-in-oil microemulsion using enzyme–carbon dot conjugates. *Langmuir*. 2014;**30**(9):2448–2459. https://doi.org/10.1021/la403835h
25. Shilova S.V., Sagdeev D.O., Mirgaleev G.M. et al. Novel nanosensors represented by CdS/ZnS quantum dots doped with manganese (II) ions for detection of vancomycin. *Phys. Scr*. 2025;**100**(3):035906. https://doi.org/10.1088/1402-4896/adadaa
26. Dogrul A., Arslan S.A., Tirnaksiz F. Water/oil type microemulsion systems containing lidocaine hydrochloride: *in vitro* and *in vivo* evaluation. *J. Microencapsul*. 2014;**31**(5):448–460. https://doi.org/10.3109/02652048.2013.879926
27. Swan J.W., Furst E.M. A simpler expression for Henry's function describing the electrophoretic mobility of spherical colloids. *J. Colloid Interface Sci*. 2012;**388**(1):92–94. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.08.026
28. Harris F.M., Best K.B., Bell J.D. Use of laurdan fluorescence intensity and polarization to distinguish between changes in membrane fluidity and phospholipid order. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr*. 2002;**1565**(1):123–128. https://doi.org/10.1016/s0005-2736(02)00514-x
29. Dutt G.B. Fluorescence anisotropy of ionic probes in AOT reverse micelles: Influence of water droplet size and electrostatic interactions on probe dynamics. *J. Phys. Chem. B*. 2008;**112**(24):7220–7226. https://doi.org/10.1021/jp711633u
30. Kaur M., Kaur H., Singh M. et al. Biamphiphilic ionic liquid based aqueous microemulsions as an efficient catalytic medium for cytochrome *c*. *Phys. Chem. Chem. Phys*. 2021;**23**(1):320–328. https://doi.org/10.1039/D0CP04513F

31. Murashova N.M., Yurtov E.V. Lecithin organogels as prospective functional nanomaterial. *Nanotechnol. Russia*. 2015;**10**(7–8):511–522. https://doi.org/10.1134/S199507801504014X
32. Zadymova N.M., Malashikhina A.A. Nanoemulsions of polyoxyethylene(4) lauryl ether with solubilized chlorhexidine base. *Colloid J.* 2023;**85**(3):366–376. https://doi.org/10.1134/s1061933x23600173
33. Sautina N.V., Rybakova A.I., Gubaidullin A.T. et al. Liquid crystal mesophase of the water/AOT/isopropylmiristat system in the processes of transdermal delivery of amino acids. *Liq. Cryst. and their Appl.* 2020;**20**(2):91–99. https://doi.org/10.18083/LCAppl.2020.2.91
34. Sautina N.V., Gubaidullin A.T., Galyametdinov Yu.G. Peculiarities of structural phase transitions in a self-organizing AOT/water/isopropyl myristate system upon introduction of L-Lysine. *Colloid J.* 2023;**85**(2):265–275. https://doi.org/10.1134/S1061933X2360015X
35. Huan-Xiang Zhou, Rivas G., Minton A.P. Macromolecular crowding and confinement: Biochemical, biophysical, and potential physiological consequences. *Annu. Rev. Biophys.* 2008;**37**(3): 375–397. https://doi.org/10.1146/annurev.biophys.37.032807.125817
36. Karpe P., Ruckenstein E. The enzymatic superactivity in reverse micelles: Role of the dielectric constant. *J. Colloid Interface Sci.* 1991;**141**(2):534–552. https://doi.org/10.1016/0021-9797(91)90350-H
37. Luisi P.L., Magid L.J., Fendler J.H. Solubilization of enzymes and nucleic acids in hydrocarbon micellar solutions. *Crit. Rev. Biochem*. 1986;**20**(4):409–474. https://doi.org/10.3109/10409238609081999
38. Levinger N.E. Water in confinement. *Science*. 2002;**298**(5599):1722–1723. https://doi.org/10.1126/science.1079322
39. Mitsou E., Kalogianni E.P., Georgiou D. et al. Formulation and structural study of a biocompatible water-in-oil microemulsion as an appropriate enzyme carrier: The model case of horseradish peroxidase. *Langmuir*. 2019;**35**(1):150–160. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b03124
40. Levashov A.V., Klyachko N.L. Micellar enzymology: methodology and technique. *Russ. Chem. Bull*. 2001;**50**(10):1718–1732. https://doi.org/10.1023/A:1014361508512
41. Jolivalt C., Minier M., Renon H. Extraction of cytochrome *c* in sodium dodecylbenzenesulfonate microemulsions. *Biotechnol. Progr*. 1993;**9**(5):456–461 https://doi.org/10.1021/bp00023a003
42. Adachi M., Harada M. Time dependence of the solubilization state of cytochrome c in AOT water-in-oil microemulsion. *J. Colloid Interface Sci.* 1994;**165**(1):229–235. https://doi.org/10.1006/jcis.1994.1223
43. Kawai C., Pessoto F.S., Rodrigues T. et al. pH-sensitive binding of cytochrome c to the inner mitochondrial membrane. Implications for the participation of the protein in cell respiration and apoptosis. *Biochemistry*. 2009;**48**(35):8335–8342. https://doi.org/10.1021/bi9006463
44. Adachi M., Harada M. Solubilization mechanism of Cytochrome c in sodium bis(2-ethylhexyl) sulfosuccinate water/oil microemulsion. *J. Phys. Chem*. 1993;**97**(14):3631–3640. https://doi.org/10.1021/j100116a031
45. Cassin G., Duda Y., Holovko M. et al. Cytochrome-*c* in reverse micelles: Small angle x-ray scattering measurements, percolation process, and critical behavior: An interpretation with an association model. *J. Chem. Phys.* 1997;**107**:2683–2693. https://doi.org/10.1063/1.474578
46. Paul M., Govind C., Karunakaran V. Significance of the double bond in the acyl chain of cardiolipin revealed by the partial unfolding dynamics of cytochrome c using femtosecond transient absorption spectroscopy. *J. Phys. Chem. B*. 2024;**128**(48):11885–11892. https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.4c06067
47. Hellwig P., Grzybek S., Behr J. et al. Electrochemical and ultraviolet/visible/infrared spectroscopic analysis of heme *a* and a_3 redox reactions in the cytochrome *c* oxidase from *Paracoccus denitrificans*: Separation of heme *a* and a_3 contributions and assignment of vibrational modes. *Biochemistry*. 1999;**38**(6):1685–1694. https://doi.org/10.1021/bi982282+
48. Bermejo R., Talavera E.M., del Valle C. et al. C-phycocyanin incorporated into reverse micelles: a fluorescence study. *Colloids Surf. B: Biointerfaces*. 2000;**18**(1):51–59. https://doi.org/10.1016/S0927-7765(99)00129-0
49. Wu L.L., Huang H.G., Li J.X. et al. Time-resolved UV-vis spectroelectrochemical studies of the electron transfer process of cytochrome *c*. *Electrochim. Acta*. 2000;**45**(18):2877–2881. https://doi.org/10.1016/S0013-4686(00)00362-5
50. Tartaro G., Mateos H., Schirone D. et al. Microemulsion microstructure(s): A tutorial review. *Nanomaterials*. 2020;**10**(9):1657. https://doi.org/10.3390/nano10091657.
51. Farivar F., Moosavi-Movahedi A.A., Sefidbakht Y. et al. Cytochrome c in sodium dodecyl sulfate reverse micelle nanocage: From a classic electron carrier protein to an artificial peroxidase enzyme. *Biochem. Eng. J.* 2010;**49**(1):89–94. https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.11.016
52. Larsson K.M., Pileni M.P. Interactions of native and modified cytochrome C with a negatively charged reverse micellar liquid interface. *Eur. Biophys. J.* 1993;**21**(6):409–416. https://doi.org/10.1007/BF00185868

53. Sautina N.V., Galyametdinov Y.G. Effect of L-lysine on the phase transition temperature in a three-component water/sodium bis(2-ethylhexyl)sulfosuccinate/isopropyl myristate system. *Russ. J. Phys. Chem. A.* 2019;**93**(5):860–864. https://doi.org/10.1134/S003602441905025X
54. Zharnikova N.V., Smirnova A.I., Giricheva N.I. et al. Effect of amino acid and oligopeptide additives on formation of lyotropic hexagonal phase in aqueous solutions of sodium dodecyl sulphate. *Liq. Cryst. and their Appl.* 2019;**19**(1):14–25. https://doi.org/10.18083/LCAppl.2019.1.14
55. Piñeiro L., Novo M., Al-Soufi W. Fluorescence emission of pyrene in surfactant solutions. *Adv. Colloid Interface Sci.* 2015;**215**:1–12. https://doi.org/10.1016/j.cis.2014.10.010
56. Amaro M., Reina F., Hof M. et al. Laurdan and di-4-ANEPPDHQ probe different properties of the membrane. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2017;**50**(13):134004. https://doi.org/10.1088/1361-6463/aa5dbc
57. Lissi E.A., Abuin E.B., Rubio M.A. et al. Fluorescence of prodan and laurdan in AOT/heptane/water microemulsions: Partitioning of the probes and characterization of microenvironments. *Langmuir.* 2000;**16**(1):178–181. https://doi.org/10.1021/la990720n
58. Vodolazkaya N.A., Kleshchevnikova Y.A., Mchedlov-Petrossyan N.O. Differentiating impact of the AOT-stabilized droplets of water-in-octane microemulsions as examined using halogenated fluoresceins as molecular probes. *J. Mol. Liq.* 2013;**187**:381–388. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2013.08.018
59. Hobara D., Imabayashi S.-I., Kakiuchi T. Preferential adsorption of horse heart cytochrome *c* on nanometer-scale domains of a phase-separated binary self-assembled monolayer of 3-mercaptopropionic acid and 1-hexadecanethiol on Au(111). *Nano Lett.* 2002;**2**(9):1021–1025. https://doi.org/10.1021/nl0256863
60. Daly Jr. C.A., Allen C., Rozanov N. et al. Surface coating structure and its interaction with cytochrome *c* in EG_6-coated nanoparticles varies with surface curvature. *Langmuir.* 2020;**36**(18):5030–5039. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c00681

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Саутина Наталья Викторовна – канд. хим. наук; доц., Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Российская Федерация
E-mail: n.sautina@mail.ru
https://orcid.org/0000-0001-5444-9207

Сагдеев Дмитрий Олегович – канд. хим. наук; доц., Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Российская Федерация
E-mail: demsagdi@yandex.ru
https://orcid.org/0000-0003-4859-412X

Гнездилов Олег Иванович – канд. физ.-мат. наук; ст. науч. сотр., Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Российская Федерация
E-mail: goi@yandex.ru
https://orcid.org/0000-0003-4306-6272

Галяметдинов Юрий Генадьевич – д-р хим. наук; проф., Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Российская Федерация
E-mail: yugal2002@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-9128-0700

ABOUT THE AUTHORS

Sautina, Natalya V. – Cand. Sc. (Chemistry); Associate Professor, Kazan National University of Science and Technology, Kazan, Russian Federation
E-mail: n.sautina@mail.ru
https://orcid.org/0000-0001-5444-9207

Sagdeev, Dmitry O. – Cand. Sc. (Chemistry); Associate Professor, Kazan National University of Science and Technology, Kazan, Russian Federation
E-mail: demsagdi@yandex.ru
https://orcid.org/0000-0003-4859-412X

Gnezdilov, Oleg I. – Cand. Sc. (Physics and Mathematics); Senior Researcher Officer, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russian Federation
E-mail: goi@yandex.ru
https://orcid.org/0000-0003-4306-6272

Galyametdinov, Yuri G. – Dr. Sci. (Chemistry); Full Professor, Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation
E-mail: yugal2002@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-9128-0700

Поступила в редакцию 20.04.2026
После доработки 08.06.2026
Принята к публикации 25.06.2026