

ДЛЯ ФІЗИЧНИХ ФАКТОРІВ НА БІОЛОГІЧНІ ОБ'ЄКТИ

УДК 57.043: 581. 144. 084. 1

ПРИРОДА И ДИНАМИКА ФАЗОВЫХ ПРЕВРАЩЕНИЙ ПРИ ОХЛАЖДЕНИИ – ОТОГРЕВЕ КЛЕТОЧНОГО СОКА ЧЕСНОКА**А.Т. Ходько, Ю.С. Лысак***Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, 61015*

Поступила в редакцию 6 октября 2014 года

Принята 21 октября 2014 года

Путем криомикроскопии при охлаждении – отогреве клеточного сока чеснока зарегистрировано явление критической опалесценции. Критическое состояние может иметь место только в случае равновесия изотропных фаз, что дало основание отнести фазовый переход в исследуемой системе к типу жидкость – жидкость, протекающего как по спиновальному механизму, так и механизму нуклеации – роста зародышей. При охлаждении путем прямого погружения в жидкий азот наблюдалось растрескивание образцов, вероятно, из-за возникающих высоких внутренних напряжений. В результате фазового перехода образуется аморфная грубодисперсная система – высококонцентрированная эмульсия – гель. Признаков кристаллизации системы в исследованных условиях не выявлено.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: чеснок, криомикроскопия, криоконсервирование, система полимер – растворитель, критическое состояние, фазовые переходы, стеклование.

THE NATURE AND DYNAMIC OF PHASE TRANSITIONS DURING COOLING - WARMING OF GARLIC CELL SAP**A.T.Khodko, Yu.S.Lysak***Institute for problems of cryobiology and cryomedicine, 23, Pereyaslavskaya str., 61015 Kharkiv, Ukraine*

To identify the type of phase transition during cooling-warming in the garlic cell sap by cryomicroscopy of samples in transmitted light phenomenon of critical opalescence was recorded. Critical state is peculiar only for phase transitions between the isotropic mediums. This fact gives grounds to include phase transition in the investigated system to liquid-liquid type, which proceeds according to spinodal mechanism and nucleus growth mechanism. During rapid cooling cracking of the samples due to high internal stresses (in contrast to the slow cooling) was observed. After the phase transition during cooling roughly dispersed system – highly concentrated emulsion-gel was formed. Signs of crystallization in the system under the studied conditions were not found.

KEY WORDS: garlic, cryomicroscopy, cryopreservation, polymer-solvent system, critical state, phase transitions, vitrification.

ПРИРОДА ТА ДИНАМІКА ФАЗОВИХ ПЕРЕТВОРЕНЬ ПРИ ОХОЛОДЖЕННІ – ВІДГРІВІ КЛІТИННОГО СОКУ ЧАСНИКУ**О.Т.Ходько, Ю.С.Лысак***Институт проблем криобиологии і криомедицини НАН України, вул.Переяславська,23, г. Харків, 61015*

Шляхом криомікроскопії в процесі охолодження-відігріву клітинного соку часнику зареєстровано явище критичної опалесценції. Критичний стан може мати місце тільки в випадку рівноваги ізотропних фаз, що дало змогу віднести віднести фазовий перехід у системі, яка досліджується до типу рідина-рідина, який відбувається як за спиновальним механізмом, так і за механізмом нуклеації – рісту зародків. При охолодженні шляхом прямого занурення у рідкий азот, спостерігалось розтріскування зразків, вірогідно, внаслідок виникнення високих внутрішніх напружень. Результатом фазового переходу є утворення грубодисперсної системи – висококонцентрованої емульсії – геля. Ознак кристалізації системи в умовах, що досліджувались, не виявлено.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: часник, криомікроскопія, криоконсервування, система полімер-розчинник, критичний стан, фазові переходи, склування.

Биотехнологии в современном мире играют все возрастающую роль. Технологии криоконсервирования могут быть самостоятельной их целью или входить составным элементом в многостадийный биотехнологический процесс. Криоконсервирование растительных тканей и органов с целью сохранения генетических ресурсов растений является одной из приоритетных задач криобиологии.

В процессе охлаждения – отогрева биологических жидкостей может изменяться их фазовое состояние, что должно сказываться на функциональном состоянии всего биообъекта. Наиболее распространенной точкой зрения на природу фазовых переходов при таких воздействиях на систему являются представления о кристаллизации [1,2].

Вместе с тем известно, что цитоплазма клетки достаточно адекватно отображается системой полимер – растворитель, в которой может иметь место фазовый переход типа жидкость – жидкость (ФПТЖ - Ж) [3]. В этих системах возможны как ФПТЖ – Ж, так и кристаллизация, но первым актом фазовых превращений всегда будет ФПТЖ – Ж и только после этого, причем не всегда в конечные сроки экспериментального наблюдения (длительный индукционный период), становится возможна кристаллизация [3]. Фазовое поведение таких систем обусловлено тем, что при ФПТЖ - Ж для появления зародыша новой аморфной фазы требуется только соответствующая флуктуация по концентрации без достижения трехмерной упорядоченности, необходимой для появления кристаллического зародыша. В случае если ФПТЖ – Ж протекает по спинодальному механизму, то образование новой аморфной фазы происходит вовсе без зародышеобразования [3, 4]. Согласно представлениям С.Я. Френкеля, В.А. Каргина процесс кристаллизации при образовании новой фазы является вторичным [5].

Как результат ФПТЖ – Ж в бинарной системе в равновесии она представляет два несмешивающихся между собой раствора. Один из них является насыщенным при данных параметрах состоянием раствором компонента А в компоненте В, а второй, соответственно, компонента В в компоненте А. Однако, на практике любые реальные процессы протекают в условиях далеких от равновесных [6] и, следовательно, составы сосуществующих фаз могут отклоняться от равновесных значений, что особенно проявляется в системах полимер – растворитель вследствие малой кинетической подвижности макромолекул. Достижение состояния близкого к равновесному в таких системах является трудновыполнимым, т.к. время проведения таких исследований может превышать срок разумного эксперимента.

Растворы полимеров имеют пониженную суммарную энтропию, они менее стабильны и более склонны к фазовому разделению, чем смеси низкомолекулярных жидкостей [7].

Из вышеизложенного следует, что ФПТЖ – Ж имеет высокую степень вероятности в процессе криоконсервирования биообъектов, а также может иметь место в полевых условиях при понижении температуры и во время хранения сельхозпродукции. В связи с этим необходимо проанализировать достоинства и недостатки существующих методик, для разработки подходящей для регистрации и изучения этих превращений.

Методы термического анализа, как дифференциальный термический анализ (ДТА) и дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК), являются непрямыми и непосредственных сведений о природе частиц, образующихся при фазовом переходе, не дают [3]. Используя только эти методы, получить ответ на вопрос происходит ли в системе кристаллизация или ФПТЖ – Ж, невозможно. Метод ДСК, получивший широкое распространение в химии и биологии, несмотря на высокую чувствительность абсолютно не способен фиксировать критические явления, свойственные ФПТЖ – Ж [8].

Для определения типа фазового превращения необходимо привлечь другие методы исследования. Наиболее подходящим для этих целей, представляется оптический метод, позволяющий регистрировать критическое состояние, характерное только для равновесия изотропных фаз и, в частности, для ФПТЖ – Ж [9]. Системы прозрачные выше и ниже критических параметров состояния становятся мутными вблизи него. На фиксации этого явления основан метод построения фазовых диаграмм по точкам помутнения (метод Алексева) [3]. Наиболее заметным и легко регистрируемым свидетельством того, что система находится вблизи критического состояния есть критическая опалесценция, проявляющаяся в виде временного потемнения в проходящем свете объекта, в котором происходит ФПТЖ – Ж. Наиболее надежные результаты по определению критических параметров при фазовых переходах получаются именно путем регистрации этого явления, и при этом на систему практически не оказывается никакого внешнего воздействия [10].

В работах Г.А. Самыгина по замораживанию тканей растений показано, что при охлаждении протопластов лука наблюдается их резкое кратковременное потемнение [2]. Однако приводимое в данной работе объяснение природы этого эффекта с позиций образования мельчайших кристалликов льда, нельзя признать достаточно обоснованным, поскольку оно не согласуется с законом Рэлея, согласно которому $I \sim I_0 \times CV^2 / \lambda^4$, где I - интенсивность рассеянного света; I_0 – интенсивность исходного светового потока; C – концентрация частиц; V - объем частиц; λ – длина волны света. Отсюда видно, что увеличение размера частиц второй фазы, что должно иметь место при росте кристаллов льда, приведет только к увеличению светорассеяния, пропорционально шестой степени линейных размеров растущих частиц. Единственным непротиворечивым объяснением этого явления, по нашему мнению, является критическая

опалесценция, сопровождающая ФПТЖ – Ж, в результате которого при охлаждении цитоплазмы происходит ее распад на две или более аморфные фазы.

Реальные биологические жидкости - это многокомпонентные системы, состоящие из низко - и высокомолекулярных неэлектролитов и электролитов. Современные физические теории не могут дать исчерпывающее объяснение их разнообразному фазовому поведению и в этом случае главными становятся эмпирические методы исследования.

Цель работы — определить тип фазового перехода в соке чеснока при охлаждении — отогреве и оценить температурно — временные параметры фазовых превращений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводились в конце января – начале февраля на луковицах чеснока сорта “Мерефянский белый”, хранившегося в сухом прохладном месте.

С целью выяснения типа фазовых превращений в исследуемом биообъекте нами была проведена микроскопия процессов охлаждения - отогрева сока чеснока, полученного из зубков и профильтрованного через два слоя марлевой ткани. Фазовое поведение этого объекта моделирует отклик цитоплазмы живой клетки на подобные условия с максимальной степенью визуализации процессов.

Для оценки процесса испарения за время проведения экспериментов предварительно весовым методом было определено, что потеря массы клеточного сока из образца массой 2,6 г за 20 мин. с поверхности чашки Петри при комнатной температуре составила около 2 %. Поскольку реальный эксперимент проводится за время порядка 3 – 5 мин. при температурах гораздо ниже комнатной, то влиянием фактора испарения на фазовое поведение системы в ходе него можно пренебречь.

Каплю сока объемом 25 мкл помещали на поверхность чашки Петри, при этом диаметр растекшихся капель составлял 10-12 мм. Охлаждение проводили тремя способами, приведенными в таблице. Отогрев во всех случаях проводился на предметном столике в поле зрения микроскопа при комнатной температуре. Количество параллельных опытов – 5. Промежутки времени определялись по видеограмме.

Зависимость температура – время (термический анализ по Курнакову) снимали в образцах сока чеснока объемом 1 мл, помещенном в криопробирку “Nunc” (США) на программном замораживателе ЗП – 10 разработки и производства СКТЬ с ОП ИПК и К НАН Украины.

Таблица.

Используемые режимы охлаждения

Номер режима	Режимы охлаждения
Режим №1	В парах жидкого азота на высоте 35-50 мм от зеркала
Режим №2	Прямое погружение в жидкий азот
Режим №3	Обдув парами жидкого азота из сосуда Дьюара

Микроскопию в проходящем и отраженном свете проводили на микроскопе PZO Warshawa (Польша). Результаты фиксировали в видео режиме цифровой микроскопической камерой “LEVENHUK C 130” (Китай) в проходящем и отраженном свете. Увеличение в проходящем свете составляло $\times 80$, в отраженном – $\times 40$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Фазовый переход по данным термического анализа в пробе клеточного сока объемом 1 мл происходил в диапазоне $-2\text{ }^{\circ}\text{C} - -5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Морфология капли свежеполученного сока чеснока представлена на (Рис.3). По всему полю зрения наблюдаются мелкие округлые образования, которые способны перемещаться друг относительно друга при токе жидкости, но не совершают броуновского движения. Такое строение и поведение характерно для грубодисперсных систем – эмульсий.

Опыт №1. В качестве объекта сравнения для биологической жидкости была выбрана бидистиллированная вода, проба имела тот же объем. При охлаждении по режиму № 3 наблюдалось образование новой фазы исходно игольчатой морфологии в виде “мечей” (Рис. 1). На отогреве были видны четко выраженные границы кристаллитов (без признаков дендритного строения) и, располагающиеся преимущественно вдоль них, темные округлые подвижные образования – газовые пузыри (Рис. 2). Время замораживания – оттаивания пробы здесь составило около 90 с.

Опыт №2. При охлаждении по режиму № 3 пленки из сока чеснока, разлитого по поверхности стеклянной чашки Петри и хранившегося в холодильнике при $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение суток, в исследуемом образце формируется дендритная биконтинуальная структура (Рис. 4). Время ее формирования в поле зрения микроскопа составляло 3 с. После завершения формирования указанной структуры охлаждение прекращалось и велось наблюдение процесса отогрева системы на столике микроскопа до восстановления первоначального оптически однородного состояния. В настоящем наблюдении время структурной

релаксации составило 75 с. В течение всего времени наблюдения поле зрения оставалось прозрачным для проходящего света.

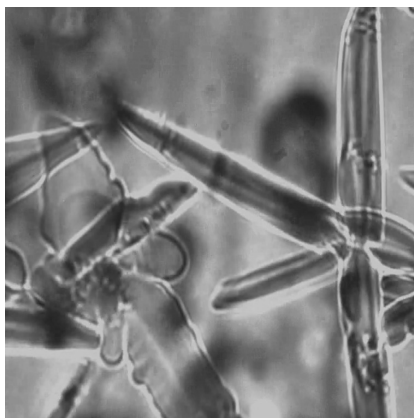


Рис. 1. Микроскопическая картина роста кристаллов льда при охлаждении образца бидистиллированной воды, $\times 80$.

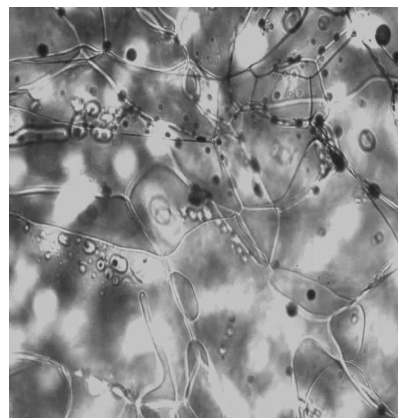


Рис. 2. Микроскопическая картина процесса отогрева бидистиллированной воды. Темные округлые образования - газовые пузыри, $\times 80$.

Опыт №3. При охлаждении капли свежесвыделенного сока чеснока по режиму №3 наблюдалось формирование дендритной структуры (Рис. 5), занявшее в поле зрения 2 с, после чего через 4 с на фоне дендритной структуры стало наблюдаться появление темных, быстрорастущих в размерах с нитевидными краями участков, приблизительно округлой формы, границы которых искажены (Рис. 6). За 9 с после их появления поле зрения полностью затемнялось и охлаждение прекращалось. Время затемнения поля зрения составило в данном наблюдении 75 с, после чего оно постепенно просветлялось, наблюдались процессы, вероятно, конвекционного характера, исчезновения дендритной структуры и через 40 с система имела вид близкий к первоначальному (Рис. 7). При покадровом просмотре до появления дендритных структур в поле зрения наблюдались единичные мелкие черные пятна, время жизни которых не превышало длительности одного кадра (1/30 с).

В параллельных экспериментах наблюдалась схожая картина, но было также зарегистрировано образование темных структур не только округлой, но и правильной геометрической формы (Рис. 8).

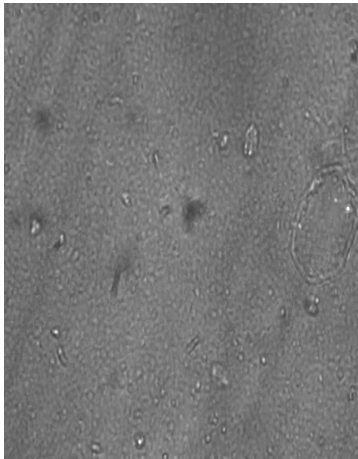


Рис. 3. Исходная микроскопическая картина свежевыделенного сока чеснока, $\times 80$.

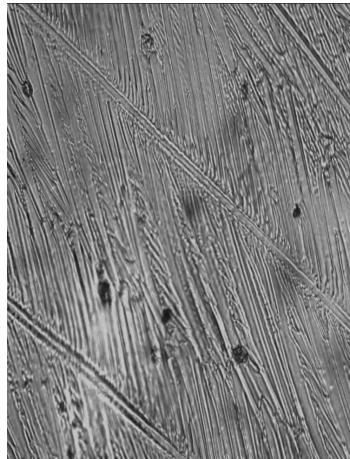


Рис. 4. Дендритная структура в пленке сока чеснока после фазового распада по спиновальному механизму, $\times 80$.

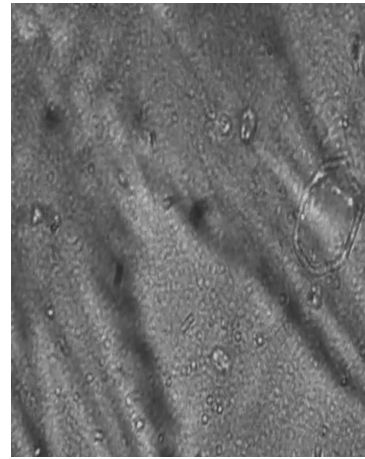


Рис. 5. Дендритная структура начальной стадии фазового распада в соке чеснока по спиновальному механизму, $\times 80$.

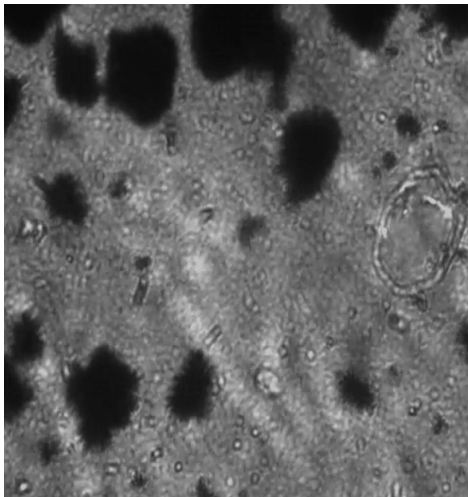


Рис. 6. Появление участков фазового распада по механизму нуклеации - роста зародышей на фоне сформированной дендритной структуры. Состояние через 6 с от состояния на рис. 5, $\times 80$.

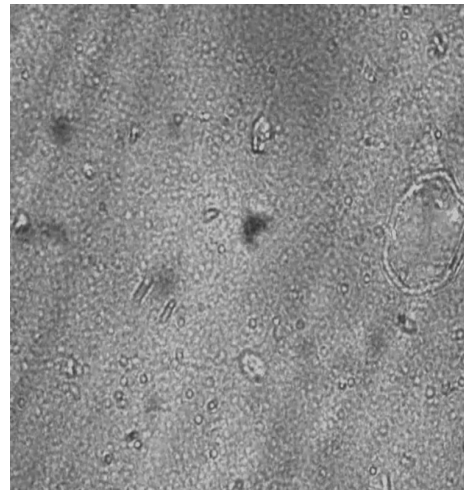


Рис. 7. Микроскопическая картина клеточного сока чеснока после отогрева. Состояние через 130 с от состояния на рис. 5, $\times 80$.

Опыт №4. При замораживании свежевыделенной капли чеснока по режиму №2 наблюдалась прозрачная структура с выраженной сетью протяженных слабоветвящихся трещин (Рис. 9). На отогреве через 8 с после помещения образца на предметный столик микроскопа и наведения на резкость началось прогрессирующее потемнение препарата продолжительностью в данном наблюдении 58 с, при котором визуально сохранялись его слаборазличимые контуры и даже наблюдалось некоторое просветление. Сеть трещин на этом этапе сохранялась. Затем наступала вторая волна потемнения, при котором поле

зрения полностью затемнялось на 15 с, после чего система просветлялась, в ней наблюдались интенсивные конвективные потоки – релаксационный процесс смешения фаз. Оптически однородное состояние здесь установилось за 35 с.

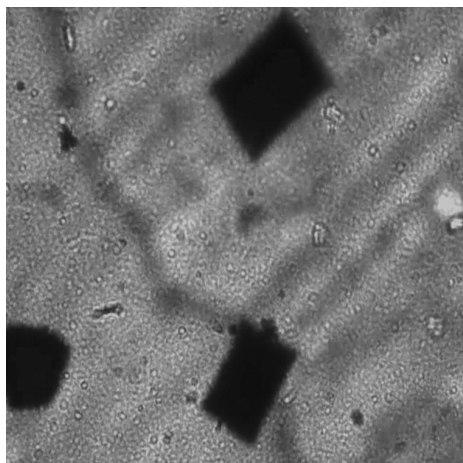


Рис. 8. Участки фазового распада по механизму нуклеации – роста, имеющие правильную геометрическую форму, $\times 80$.

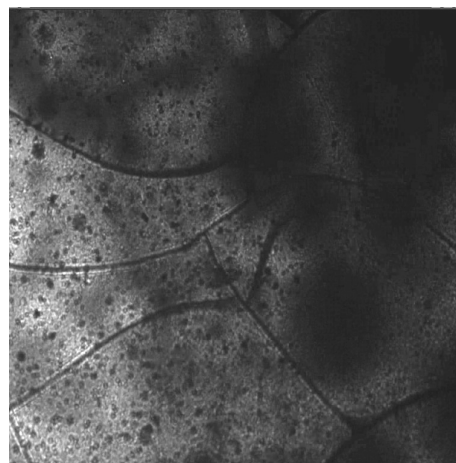


Рис. 9. Микроскопическая картина клеточного сока чеснока, замороженного путем прямого погружения в жидкий азот, на поверхности предметного стекла, $\times 80$.

Опыт №5. При замораживании исследуемой пробы по режиму №1 и последующем переносе под микроскоп наблюдалась оптически плотная, без заметных трещин, структура с различимыми по краям мелкими каплями второй фазы. Строение центральных областей не поддавалось детальному визуальному изучению из-за высокой оптической плотности и сильного светорассеяния. На отогреве было замечено слабое потемнение края. Процесс релаксации структуры в этом случае составил 150 с.

Опыт №6. Поскольку наблюдение за фазовым поведением изучаемого объекта затруднено его потемнением при наблюдении в проходящем свете, было проведено наблюдение в отраженном свете процесса отогрева сока чеснока, замороженного по режиму №2. Фрагменты наблюдения представлены на (Рис. 10, 11).

Опыт №7. Для сопоставительного анализа рассмотрели замороженный в морозильной камере электрохолодильника ($-12\text{ }^{\circ}\text{C}$) сок чеснока. Он имеет пластичную консистенцию без признаков процесса тиксотропии. Это характерно для процессов макрофазного разделения в системе полимер – растворитель и образования в результате него грубодисперсных систем – высококонцентрированных эмульсий [7]. При дальнейшем охлаждении такой системы до температуры стеклования образуется многофазное стекло. В этом аспекте поведение изучаемой биологической жидкости аналогично водно – глицериновым криозащитным растворам [11,12]. В работе Г.П. Вишневской с соавт. [11] замороженный 10 – 30 об.% – ный водно – глицериновый раствор

служит аморфным по всему объему образца эталоном сравнения при проведении исследований фазового состояния замороженных водных растворов солей тяжелых металлов, методом электронного парамагнитного резонанса.



Рис. 10. Фрагмент микроскопической картины процесса отогрева клеточного сока чеснока в отраженном свете, $\times 40$.

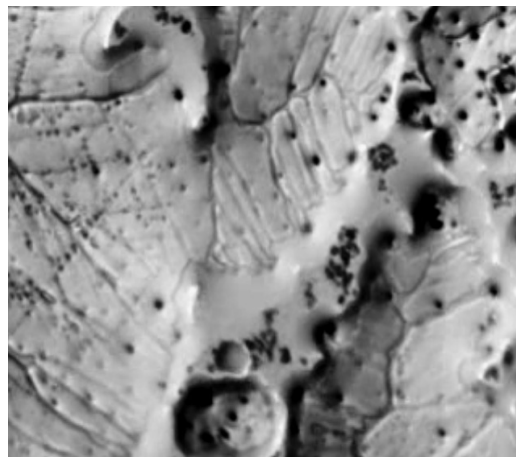


Рис. 11. Фрагмент микроскопической картины процесса отогрева клеточного сока чеснока в отраженном свете. Состояние через 5 с от состояния на рис. 10, $\times 40$.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученная в опыте №2 биконтинуальная, дендритная, структура с выраженной геометрической связанностью фаз и высокой скоростью фазового превращения, характерна для спинодального механизма фазового разделения [3, 13].

Появление в опыте №3 при охлаждении свежесвыделенного клеточного сока в поле зрения темных участков с нитевидными краями и их рост, ведущий к полному временному затемнению поля зрения, указывает на критическую опалесценцию. Соответственно, здесь система находится в критическом состоянии, когда в результате фазового превращения сложное по составу вещество распадается на несколько частей, отличающихся по составу и свойствам, вследствие достижения в ней предела растворимости компонентов в исходной фазе [3]. Критическое состояние является предельным случаем структурного сосуществования комбинации фаз, находящихся в стационарном состоянии. Критические явления происходят независимо от направления фазового перехода. Эти явления могут иметь место только с участием в динамическом равновесии изотропных фаз, т.е. не могут сопровождать фазовый переход типа жидкость – кристалл. Следовательно, в анализируемом случае имеет место ФПТЖ – Ж, проходящий по механизму нуклеации - роста зародышей. Сильное светорассеяние свойственно именно этому механизму фазового перехода и объясняется флуктуациями параметра порядка (в растворах

это концентрация) вблизи критического состояния в частицах образующейся фазы и появлением капиллярных волн на фазовой границе, приводящих к практически полному отражению света в сторону его источника [14].

Дендритная структура, появляющаяся в препарате до возникновения опалесценции, указывает на спинодальный механизм ранних этапов фазового распада. Этому механизму не свойственно явление критической опалесценции вследствие высокой скорости процесса роста фазовых частиц и малым исходно отличием их по химическому составу. Сочетание обоих механизмов фазовых превращений типично для системы полимер – растворитель в области концентраций выше критической [3, 15]. Вероятно, спинодальный механизм имеет место в пленках и поверхностных слоях системы и в начальных стадиях фазового распада. На более поздних действует механизм нуклеации - роста зародышей [15]. Выявленные при покадровом просмотре участки точечного кратковременного потемнения – это возникающие при тепловых флуктуациях зародыши новообразующихся фаз, не достигающие критического размера и самопроизвольно исчезающие в результате растворения в исходной матричной фазе.

Правильной геометрической формы образования структуры встречаются в полимерных системах, что указывает на наличие определенной дальней упорядоченности, но только в рамках аморфного состояния [16]. Необходимо отметить, что точное число компонентов изучаемой здесь системы неизвестно, но явно значительно больше двух, так что число фаз согласно правилу фаз Гиббса максимально может быть на два больше, чем число компонентов, но по внешним проявлениям система ведет себя как двухфазная.

Быстрое охлаждение сока чеснока в опыте №4 (Рис. 7) приводит к его стеклованию, сопровождающемуся растрескиванием из-за сильных температурных градиентов в образце. Растрескивание стекла чаще происходит при охлаждении, чем при отогреве [17]. На отогреве возобновляется трансляционная молекулярная подвижность, следствием чего становится продолжение начавшихся при охлаждении, процессов жидкостного фазового разделения путем увеличения частиц второй фазы по механизмам коагуляции и коалесценции. Это приводит к прогрессирующему, но не полному затемнению поля зрения. По мере дальнейшего нагрева и приближения к критическому состоянию возобновляется критическая опалесценция, что приводит уже к полному его затемнению. По ее окончании свет снова проходит сквозь образец.

Медленное охлаждение в парах азота (опыт № 5) дает оптически плотный образец, поскольку ФПТЖ – Ж успевает полностью реализоваться при охлаждении и частицы второй фазы имеют больший размер, чем в предыдущем опыте №4. При таком режиме охлаждения не возникает сильных температурных градиентов и это не нарушает сплошность образца путем растрескивания, что

очень важно учитывать для обеспечения выживаемости биообъектов в процессе криоконсервирования. При нагреве пробы критическая опалесценция мало заметна из-за исходной малой прозрачности, но процессы фазового смешения аналогичны предыдущему опыту.

Представленная на (Рис. 10) поверхность пробы, фиксированная в отраженном свете (опыт № 6) указывает на близость к критическому состоянию. Многочисленные темные, округлой формы объекты – участки вогнутой поверхности дисперсной фазы, массово появляющиеся в результате процесса адаптации поверхности к изменяющемуся объему. При фазовом смешении объем фазовой частицы уменьшается пропорционально кубу линейных размеров, а поверхность квадрату, что приводит к появлению избытка поверхности. Устранение избытка поверхностной энергии происходит путем самопроизвольного переноса вещества под действием сил межмолекулярного взаимодействия с поверхности фазы в ее объем. Данный процесс получил название – залечивание [18]. На (Рис. 11) представлено состояние системы через 4 с от состояния на (Рис. 10). Здесь наблюдается процесс фазового смешения по мере повышения температуры и приближения ее значения к критической, когда окончательно произойдет процесс фазового смешения и гомогенизация системы.

Визуальное наблюдение фазовых превращений по механизмам спиноподобного распада и последующей стадии нуклеации – роста зародышей, позволяет установить природу фазовых превращений в исследованных образцах как ФПТЖ – Ж. Термический анализ дает представление о температурном диапазоне процессов в изучаемых образцах.

Замораживание - отогрев контрольной системы – дистиллированной воды (опыт № 1) показывает иную морфологическую картину новообразованной фазы – кристаллов льда по сравнению с вышеописанными системами. Отсутствие при кристаллизации критических явлений (в частности критической опалесценции), обеспечивает постоянную прозрачность системы для видимого света. Выделение газовых пузырей происходит здесь из-за гораздо меньшей растворимости газов в кристаллической фазе по сравнению с жидкой [19]. Этот процесс не свойственен ФПТЖ – Ж, при котором по обе стороны фазового перехода система сохраняет жидкое фазовое состояние. Массового появления пузырей, растворенного газа, в изученных пробах сока чеснока при охлаждении – отогреве не наблюдалось.

ВЫВОДЫ

- Установлена природа фазовых превращений при охлаждении – отогреве сока чеснока в изученных условиях как фазовый переход типа жидкость – жидкость, протекающий на ранних стадиях по спиноподобному

механизму, сменяющемуся в дальнейшем на механизм нуклеации – роста зародышей.

- Определен температурный диапазон фазового перехода в клеточном соке чеснока – $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ – $5\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Обнаружена связь режима охлаждения с нарушением морфоструктурной целостности образца, проявляющейся в образовании протяженных маловетвящихся трещин в пределах всего его контура.
- Зафиксировано явление возобновления фазового перехода типа жидкость – жидкость при отогреве предварительно застеклованных путем быстрого охлаждения образцов, проявляющегося в прогрессирующем потемнении в результате возобновляющихся процессов коагуляции и коалесценции.
- Признаков кристаллизации в исследованных пробах сока чеснока в описанных экспериментальных условиях не обнаружено ни морфологически, ни термически (второй пик тепловыделения).

Авторы благодарят В.А. Киреева и В.В. Чижевского за техническое содействие в проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Низкотемпературная кристаллизация в биологических системах / Пушкарь Н.С. [и др.]. – К.: Наукова думка, 1972. – 242с. /Nizkotemperaturnaya kristallizatsiya v biologicheskikh sistemah / Pushkar' N.S. [i dr.]. – K.: Naukova dumka, 1972. – 242s./
2. Самыгин Г. А. Причины вымерзания растений / Г. А. Самыгин. – М.: Наука, 1974. – 191 с. /Samy'gin G. A. Prichiny' vy'merzaniya rasteniy / G. A. Samy'gin. – M.: Nauka, 1974. – 191 s./
3. Папков С. П. Равновесие фаз в системе полимер-растворитель / С. П. Папков. – М.: Химия, 1981. – 272с. /Papkov S. P. Ravnovesie faz v sisteme polimer-rastvoritel' / S. P. Papkov. – M.: Himiya, 1981. – 272s./
4. Вест А. Химия твердого тела. Теория и приложения: В 2 – х ч. / А. Вест. – М.: Мир, 1988. – Ч. 1: – 558с.: ил. – Ч. 2: – 336с.: ил. / Vest A. Himiya tverdogo tela. Teoriya i prilozheniya: V 2 - h ch. / A. Vest. – M.: Mir, 1988. – CH. 1: – 558s.: il. – CH. 2: – 336s.: il./
5. Бартнев Г. М. Физика полимеров / Г. М. Бартнев, С. Я. Френкель. – Л.: Химия, 1990. – 432с. /Bartnev G. M. Fizika polimerov / G. M. Bartnev, S. YA. Frenkel'. – L.: Himiya, 1990. – 432s./
6. Кобеко П. П. Аморфные вещества / П. П. Кобеко. – М.– Л.: Изд–во АН СССР, 1952. – 432с. /Kobeko P. P. Amorfny'e veshch'estva / P. P. Kobeko. – M. – L.: Izd – vo AN SSSR, 1952. – 432s./
7. Поверхностно – активные вещества и полимеры в водных растворах. Пер. с англ. / К. Холмберг, Б. Йёнссон, Б. Кронберг, Б. Линдман. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. – 528с. /Poverhnostno – aktivny'e veshch'estva i polimery' v vodny'h rastvorah. Per. s angl. / K. Holmberg, B. Ye'nsson, B. Kronberg, B. Lindman. – M.: BINOM. Laboratoriya znaniy, 2007. – 528s./
8. Анисимов М. А. Критические явления в жидкостях и жидких кристаллах / М. А. Анисимов. – М.: Наука. Гл. ред. физ. мат. лит., 1987. – 272 с. /Anisimov M.A. Kriticheskie yavleniya v jidkostyah i jidkih kristallah / M.A. Anisimov. – M.: Nauka. Gl. red. fiz. mat. lit., 1987. – 272 s./
9. Химическая энциклопедия: в 5 т. Т.2 – М.: Сов. Энцикл., 1990. – 671 с.: ил. /Himicheskaya e'nciklopediya: v 5 t. T.2 – M.: Sov. E'ncikl., 1990. – 671 s.: il./
10. Зубков Л. А. Критическая опалесценция / Л. А. Зубков, В. П. Романов // УФН. – 1988. - Т. 14:4. – С. 615 – 659. /Zubkov L. A. Kriticheskaya opalescenciya / L. A. Zubkov, V. P. Romanov // UFN. – 1988. - T. 14:4. – S. 615 – 659./
11. Структурные изменения и фазовые переходы в водных растворах нитрата гадолиния в процессе их замораживания / Г. П. Вишневецкая [и др.] // Физика твердого тела. – 2003., Т. 45, В. 7. С. 1263–1266. /Strukturnye izmeneniya i fazovy'e perehody' v vodny'h rastvorah nitrata gadoliniya v processe ih zamorajivaniya / G. P. Vishnevskaya [i dr.] // Fizika tverdogo tela. – 2003. – T 45, V. 7. – S. 1263–1266./

12. Ходько А. Т. Критические явления, фазовые переходы и физические состояния в водно – глицериновых растворах при охлаждении – отогреве / А. Т. Ходько // Вісник Харківського національного ун - ту. – 2012. – № 1026. – Хімія. Вип. 21 (44). – С. 177 – 184. /Khodko A. T. Kriticheskie yavleniya, fazovy'e perehody' i fizicheskie sostoyaniya v vodno – glicerinovy'h rastvorah pri ohlajdenii – otogreve / A. T. Khodko // Vi'snik Harkiv's'kogo naci'onaln'ogo un - tu. – 2012. – № 1026. – Hi'mi'ya. Vip. 21 (44). – S. 177 – 184./
13. Скрипов В. П. Спинодальный распад (Фазовый переход с участием неустойчивых состояний) / В. П. Скрипов, А. В. Скрипов // УФН. – 1979. – Т. 128:2. – С. 193–231. /Skripov V. P. Spinodal'ny'u raspad (Fazovy'u perehod s uchastiem neustoychivy'h sostoyaniy) / V. P. Skripov, A. V. Skripov // UFN. – 1979. – 128:2. – S. 193–231./
14. Фабелинский И. Л. Молекулярное рассеяние света / И. Л. Фабелинский. – М.: Наука, 1965. – 512с. /Fabelinskiy I. L. Molekulyarnoe rasseyanie sveta / I. L. Fabelinskiy. – M.: Nauka, 1965. – 512s./
15. Липатов Ю. С. Спинодальный распад в полимерных системах / Ю. С. Липатов, В. В. Шилов // Успехи химии. – 1984. – Т. 53 (7). – С. 1197–1221. /Lipatov Yu. S. Spinodal'ny'u raspad v polimerny'h sistemah / Yu. S. Lipatov, V. V. SHilov // Uspehi himii. – 1984. – T. 53 (7). – S. 1197–1221./
16. Тагер А. А. Физико-химия полимеров / А. А. Тагер. – М.: Химия, 1968. – 536с. /Tager A. A. Fiziko-himiya polimerov / A. A. Tager. – M.: Himiya, 1968. – 536s./
17. Гулоян Ю. А. Технология стеклотары и сортовой посуды / Ю. А. Гулоян. – М.: Легпромбытиздат, 1986. – 432с. /Guloyan Yu. A. Tehnologiya steklotary' i sortovoy posudy' / Yu. A. Guloyan. – M.: Legpromby'tizdat, 1986. – 432s./
18. Волынский А. Л. Залечивание межфазной поверхности в полимерных системах / А. Л. Волынский, Н. Ф. Бакеев // Высокомолекулярные соединения., Серия А. – 2009. – Т. 51, №10. – С. 1783–1816. /Voly'nskiy A. L. Zalechivanie mejfaznoy poverhnosti v polimerny'h sistemah / A. L. Voly'nskiy, N. F. Bakeev // Vy'sokomolekulyarny'e soedineniya., Seriya A. – 2009. – T. 51, №10. – S. 1783–1816./
19. Гегузин Я. Е. Пузыри / Я. Е. Гегузин. – М.: Наука. Гл. ред. физ. мат. лит., 1985. – 176 с. /Geguzin YA. E. Puzyri / YA. E. Geguzin. – M.: Nauka. Gl. red. fiz. mat. lit., 1985. – 176 s./