

Термофизические свойства криопротекторов.**I. Температура и теплота плавления**

UDC 536.6:547.422

A.F. TODRIN*, L.I. POPIVNIENKO, S.YE. KOVALENKO

Thermophysical Properties of Cryoprotectants.**I. Temperature and Heat of Melting**

Систематизированы данные разных литературных источников по температуре и теплоте плавления водных растворов ряда криопротекторов. Получены эмпирические формулы для расчета температур плавления водных растворов 38 криопротекторов в зависимости от их массовой концентрации, а также формулы для расчета скрытой теплоты плавления водных растворов 11 криопротекторов в зависимости от их массовой концентрации и для 3 криопротекторов и воды в зависимости от переохлаждения.

Ключевые слова: криопротектор, температура плавления, скрытая теплота плавления, эмпирические зависимости.

Систематизовано дані різних літературних джерел щодо температури і теплоти плавлення водних розчинів ряду криопротекторів. Отримано емпіричні формули для розрахунку температур плавлення водних розчинів 38 криопротекторів в залежності від їх масової концентрації, а також формули для розрахунку прихованої теплоти плавлення водних розчинів 11 криопротекторів в залежності від їх масової концентрації та для 3 криопротекторів і води в залежності від переохолодження.

Ключові слова: криопротектор, температура плавлення, прихована теплота плавлення, емпіричні залежності.

The data from different literature sources about temperature and heat of melting for aqueous solutions of some cryoprotectants were systematised. There were obtained the empirical formulae to calculate melting temperatures for aqueous solution of 38 cryoprotectants depending on their mass concentration, as well as the ones to calculate the latent heat of melting for aqueous solutions of 11 cryoprotectants versus their mass concentration and for 3 cryoprotectants and water depending on overcooling.

Key-words: cryoprotectants, temperature of melting, latent heat of melting, empirical dependencies.

В настоящее время в доступной литературе отсутствуют систематизированные данные о физико-химических и термофизических свойствах криопротекторов. Имеющиеся данные разбросаны по различным источникам, неполны и малочисленны. К тому же даже для одного вида объекта данные не всегда совпадают, и эти отличия бывают весьма существенными. Очевидно, это связано с методами исследований и с использованием веществ от разных производителей.

Одними из наиболее востребованных в криобиологии данных являются значения температуры и теплоты плавления водных растворов криопротекторов. Однако даже для таких, казалось бы, изученных растворов, как водные растворы глицерина, разброс данных достигает существенной величины, что затрудняет их использование, особенно в теоретических исследованиях.

Цель работы – обобщение и систематизация данных литературы на основе построения эмпирических формул для расчета значений температуры и теплоты плавления водных растворов криопротекторов в зависимости от их концентрации.

Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, г. Харьков

* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:
ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 373-38-71, факс: +38 (057) 373-30-84, электронная почта:
cryo@online.kharkov.ua

In literature there are no systematised data about physical, chemical and thermophysical properties of cryoprotectants. The available data are spread over various sources, they are not complete and not numerous. However even for one type of object the data are not always consistent, the differences occur to be quite significant. This is evidently associated to research methods and usage of substances from different producers.

The values of temperature and heat of melting for cryoprotective aqueous solutions are the most actual in cryobiology. However, even for such seemingly well studied solutions as glycerol aqueous ones, the data spread achieves significant value, complicating their usage, especially in theoretic studies.

The research was aimed to summarise and systematise the literature data, based on building empirical formulae to calculate values of temperature and heat of melting for cryoprotective aqueous solutions depending on their concentration.

To systematise the available literature data for each type of cryoprotectant we built graphs of values of temperature and heat of melting for cryoprotective

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +380 57 373 3871, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

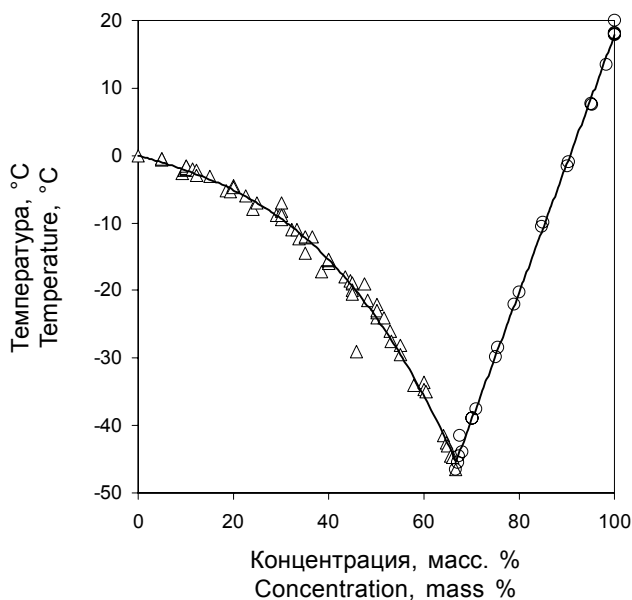


Рис. 1. Зависимость температуры плавления водных растворов глицерина от его массовой концентрации: Δ – данные для построения левой ветви диаграммы; \circ – данные для построения правой ветви диаграммы; — – аппроксимирующая кривая.

Fig. 1. Dependency of melting temperature of glycerol aqueous solutions on its mass concentration: Δ – data for plotting the right arm of diagram; — – approximation curve.

Для систематизации имеющихся литературных данных по каждому криопротектору построены графики значений температуры и теплоты плавления водных растворов криопротекторов в зависимости от их массовой концентрации. С помощью регрессионного анализа получены аппроксимирующие кривые, описываемые полиномами.

В данной работе приводятся коэффициенты эмпирических зависимостей температур и теплот плавления от концентрации тех водных растворов криопротекторов, для которых имеется достаточное количество данных.

Температура плавления играет важную роль как в теоретических исследованиях (как граничное условие на границе раздела фаз при решении задач теплообмена в процессе замораживания-плавления объектов), так и в практической криобиологии.

В качестве примера приведем ряд графиков зависимостей температуры плавления от массовой концентрации некоторых криопротекторов.

Фазовая диаграмма водных растворов глицерина, представленная на рис. 1, построена на основании данных, полученных из [4, 8, 11, 13, 16–18, 20, 25, 29, 33, 36, 37, 40, 42, 43, 45, 50, 57, 58, 63, 67, 69, 72, 76]. На левой ветви диаграммы разброс данных по температуре плавления для одних и тех же концентраций криопротектора доходит до 9, на правой – до 4,5 °C.

aqueous solutions depending on their mass concentration. Using regressive analysis there were obtained the approximating curves, described by polynomials.

This paper shows the coefficients of empirical dependencies of temperature and heat of melting on the concentration of the aqueous solutions of cryoprotectants, for those the number of data is sufficient.

Melting temperature plays an important role in both theoretical research (as a boundary condition at interface when solving the tasks of heat exchange during freeze-melting of objects) and in practical cryobiology.

The series of graphs of melting temperature dependencies on mass concentration of some cryoprotectants, are exemplified.

Phase diagram of glycerol aqueous solutions, shown in Fig. 1, is built, basing on the data, obtained from the papers [4, 8, 11, 13, 16–18, 20, 25, 29, 33, 36, 37, 40, 42, 43, 45, 50, 57, 58, 63, 67, 69, 72, 76]. In left and right diagram branches the data spread on melting temperature for the same concentrations of cryoprotectant reaches 9 and 4.5 °C, correspondingly.

Difference in melting temperature for similar concentrations of ethylene glycol (Fig. 2) is more significant both for left and right branches of phase diagram [9, 10, 12, 15, 18, 27, 37, 44, 46, 57, 58, 63, 69, 73, 75, 76]. For left and right branches this difference reaches 15÷18.5 and 6 °C, correspondingly. Of note is also the fact, that in various sources the difference in melting temperature of pure ethylene glycol gets 4 °C.

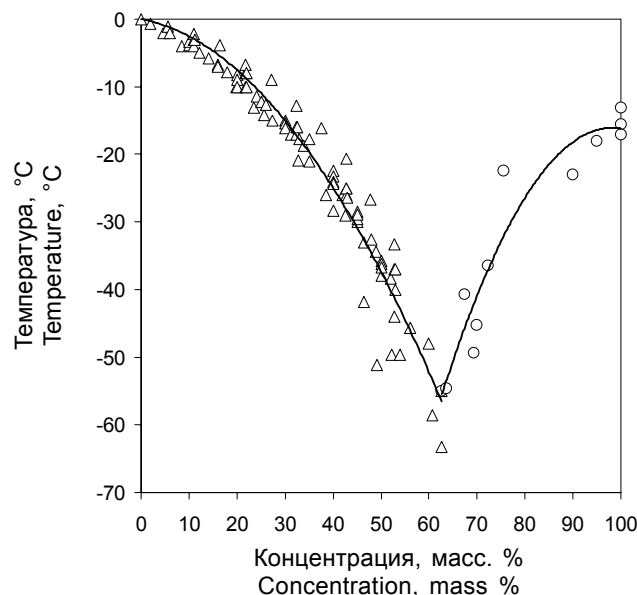


Рис. 2. Зависимость температуры плавления водных растворов этиленгликоля от его массовой концентрации. Обозначения те же, что на рис. 1.

Fig. 2. Dependency of melting temperature of ethylene glycol aqueous solutions on its mass concentration. Legends are the same as in Fig. 1.

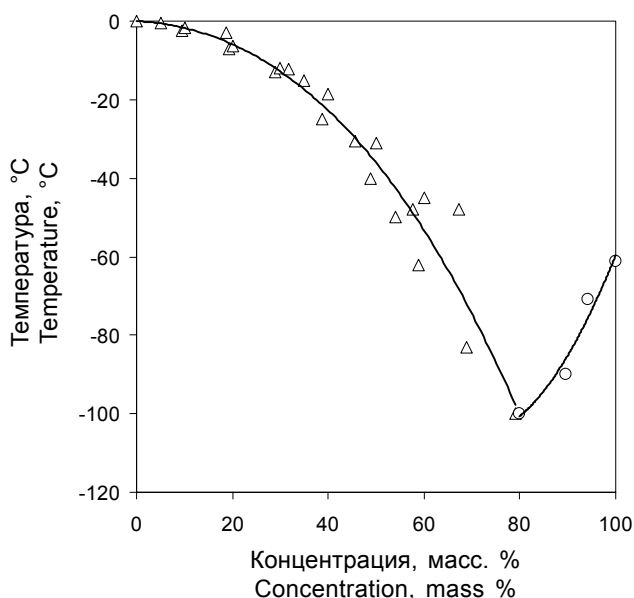


Рис. 3. Зависимость температуры плавления водных растворов ДМФА от его массовой концентрации. Обозначения те же, что на рис. 1.

Fig. 3. Dependency of melting temperature of DMFA aqueous solutions on its mass concentration. Legends are the same as in Fig. 1.

Разница в температуре плавления для одинаковых концентраций этиленгликоля (рис. 2) является более существенной как для левой, так и для правой ветвей фазовой диаграммы [9, 10, 12, 15, 18, 27, 37, 44, 46, 57, 58, 63, 69, 73, 75, 76]. Для левой ветви эта разница доходит до $15\div 18,5^\circ\text{C}$, а для правой – до 6°C . Необходимо также отметить, что в разных источниках разница в температуре плавления чистого этиленгликоля достигает 4°C .

На рис. 3 и 4 представлены данные по температуре плавления водных растворов диметилформамида (ДМФА) и диметилсульфоксида (ДМСО) соответственно. Для ДМФА данные получены из [1, 14, 15, 18, 43, 63]; для ДМСО – из [16, 17, 20, 25, 33, 37, 43, 50, 58, 63, 69]. Разброс данных по температуре плавления для ДМФА доходит до $14\div 35$ и 10°C для левой и правой ветви соответственно, а для ДМСО – до 10°C для обеих ветвей.

На рис. 5 и 6 приведены левые ветви диаграмм плавления водных растворов 1,2-пропандиола (1,2-ПД) и трегалозы. Правые ветви этих диаграмм не построены из-за отсутствия соответствующих данных в доступной литературе (имеются только точки плавления чистых веществ: 1,2-ПД – $t_m = 50\div 60^\circ\text{C}$ [10, 57, 68, 73]; дигидрат трегалозы – $t_m = 91\div 103^\circ\text{C}$; дегидратированная трегалоза – $t_m = 203\div 218^\circ\text{C}$ [70]). Разброс данных по температуре плавления для 1,2-ПД меньше, чем для предыдущих веществ (до 5°C) [6, 10, 16, 17, 26, 29, 35, 37,

Fig. 3 and 4 show the data on melting temperature of aqueous solutions of dimethyl formamide (DMFA) and dimethyl sulfoxide (DMSO), correspondingly. For DMFA and DMSO the data were obtained from the papers [1, 14, 15, 18, 43, 63] and [16, 17, 20, 25, 33, 37, 43, 50, 58, 63, 69], correspondingly. Data spread on melting temperature for DMFA reaches $14\div 35$ and 10°C for left and right branches, correspondingly, and for DMSO it does 10°C for both ones.

Fig. 5 and 6 demonstrate the left branches of melting diagrams of 1,2-propanediol (1,2-PD) and trehalose aqueous solutions. Right branches of these diagrams are not built due to the absence of corresponding data in available literature (there are only melting points of pure substances: $t_m = 50\div 60^\circ\text{C}$ for 1,2-PD [10, 57, 68, 73]; $t_m = 91\div 103^\circ\text{C}$ for trehalose dihydrate; $t_m = 203\div 218^\circ\text{C}$ for dehydrated trehalose [70]). Data spread on melting temperature for 1,2-PD is less, than for previous substances (to 5°C) [6, 10, 16, 17, 26, 29, 35, 37, 46, 54, 57, 64, 65, 68, 73, 74]. For trehalose [16, 62, 69] the spread achieves 5°C as well.

As demonstrated, under such differences in melting temperature for the same concentrations of cryoprotectants it is complicated to tell which of the values may be used as the information ones.

In addition to the mentioned above cryoprotectants, we considered the following: hydroxyethyl

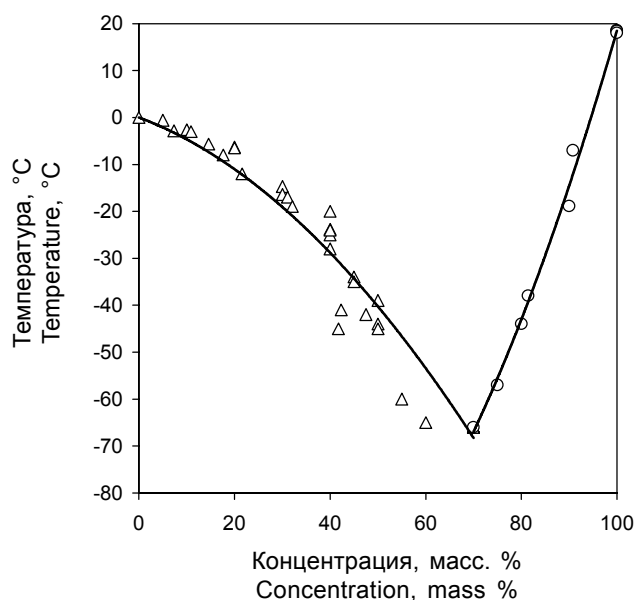


Рис. 4. Зависимость температуры плавления водных растворов ДМСО от его массовой концентрации. Обозначения те же, что на рис. 1.

Fig. 4. Dependency of melting temperature of DMSO aqueous solutions on its mass concentration. Legends are the same as in Fig. 1.

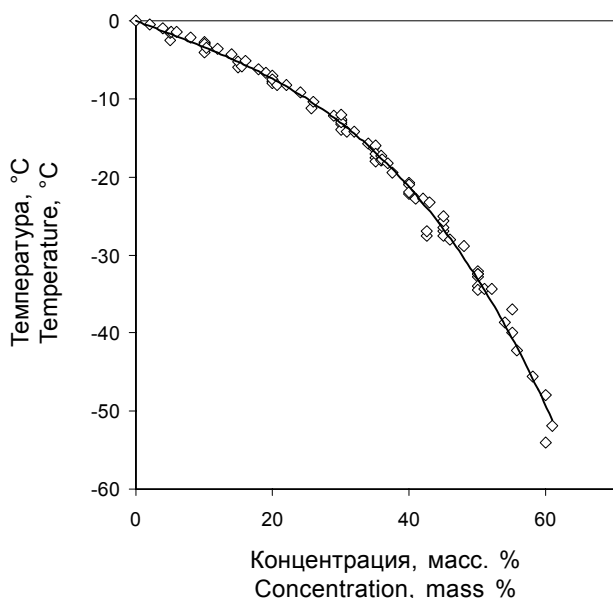


Рис. 5. Зависимость температуры плавления водных растворов 1,2-пропандиола от его массовой концентрации.

Fig. 5. Dependency of melting temperature of 1,2-PD aqueous solutions on its mass concentration.

46, 54, 57, 64, 65, 68, 73, 74]. Для трегалозы [16, 62, 69] разброс также доходит до 5 °C.

Как видно, при таких различиях в температуре плавления для одних и тех же концентраций криопротекторов сложно сказать, какие величины могут быть использованы как справочные.

Кроме вышеперечисленных, нами были рассмотрены следующие криопротекторы: гидроксипропилкрахмал (ГОЭК) [44, 51]; глюкоза [22, 66, 69]; диметилацетамид (ДМАц) [1, 5, 14, 15, 63]; диэтилсульфоксид (ДЭСО) [16, 17, 56]; мальтоза [16, 69]; метиловый спирт [13, 18, 43, 47, 63, 69, 73]; монометиловый эфир глицерина (ММЭГ) [6, 76]; монометиловый эфир пропиленгликоля (ММЭПГ) [76]; монометиловый эфир этиленгликоля (ММЭЭГ) [76]; моноэтиловый эфир глицерина (МЭЭГ) [6]; оксиэтилированные глицерины (ОЭГ) со степенями замещения $n = 3, 5, 7, 12$ [19], поливинилпирролидон (ПВП) [2, 3, 18, 44, 55, 69]; полиэтиленоксиды (ПЭО) с молекулярной массой 100, 200, 300, 400, 900, 2000 [16–20]; рибоза [16, 69]; сахароза [22, 49, 69]; сорбит [41]; этиловый спирт [13, 36, 47, 63, 69, 73], 1,3-БД [15, 31, 37, 38, 58]; 1,4-БД [15, 38, 39]; 2,3-БД [15, 38, 71]; *Levo*-2,3-бутандиол (БД) [31, 37, 58]; 1,3-метокси-2-пропанол (1,3-м-2-П) [76]; 1,3-ПД [2, 10, 15], а также NaCl [18, 19, 22, 48, 51, 66, 69].

Для других криопротекторов соответствующие данные в доступной литературе отсутствуют.

Зависимости температуры плавления (t_m , °C) водных растворов криопротекторов от их массовой

концентрации: крахмал (HES) [44, 51]; глюкоза [22, 66, 69]; диметилацетамид (DMAc) [1, 5, 14, 15, 63]; диэтилсульфоксид (DESO) [16, 17, 56]; мальтоза [16, 69]; метиловый спирт [13, 18, 43, 47, 63, 69, 73]; монометиловый эфир глицерина (MMEG) [6, 76]; монометиловый эфир пропиленгликоля (MMEPG) [76]; монометиловый эфир этиленгликоля (MMEEG) [76]; моноэтиловый эфир глицерина (MEEG) [6]; оксиэтилированные глицерины (OEG) со степенями замещения $n = 3, 5, 7, 12$ [19], поливинилпирролидон (PVP) [2, 3, 18, 44, 55, 69]; полиэтиленоксиды (PEO) с молекулярной массой 100, 200, 300, 400, 900, 2000 [16–20]; рибоза [16, 69]; сахароза [22, 49, 69]; сорбит [41]; этиловый спирт [13, 36, 47, 63, 69, 73], 1,3-БД [15, 31, 37, 38, 58]; 1,4-БД [15, 38, 39]; 2,3-БД [15, 38, 71]; *Levo*-2,3-бутандиол (BD) [31, 37, 58]; 1,3-метокси-2-пропанол (1,3-m-2-P) [76]; 1,3-ПД [2, 10, 15]; а также NaCl [18, 19, 22, 48, 51, 66, 69].

There are no relevant data for other cryoprotectants in available literature.

Dependencies of melting temperature (t_m , °C) of cryoprotective aqueous solutions on their mass concentration may be described by polynomials of 3rd degree, taking the following form:

$$t_m = a_3 C^3 + a_2 C^2 + a_1 C + a_0 \quad (1)$$

where $a_0 \div a_3$ are polynomial coefficients with °C dimension; C is mass concentration of solution. Values of polynomial coefficients and dispersion of approximation σ^2 are shown in Table 1.

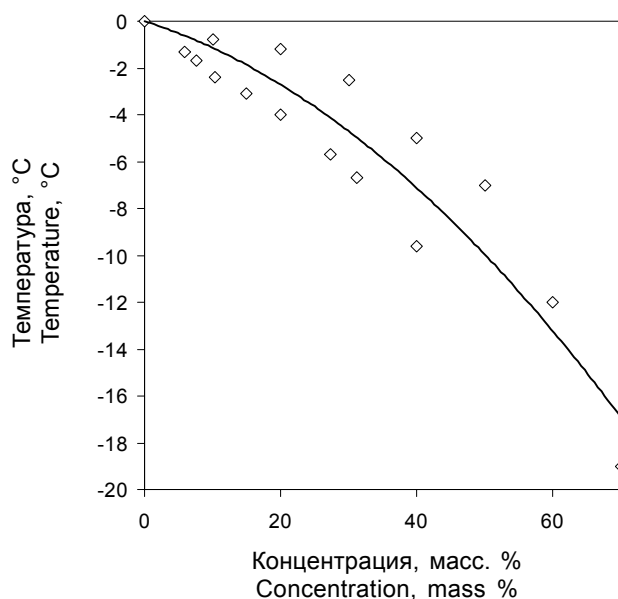


Рис. 6. Зависимость температуры плавления водных растворов трегалозы от ее массовой концентрации.

Fig. 6. Dependency of melting temperature of trehalose aqueous solutions on its mass concentration.

концентрации могут быть описаны полиномами 3-й степени, имеющими вид:

$$t_m = a_3 C^3 + a_2 C^2 + a_1 C + a_0, \quad (1)$$

где $a_0 \div a_3$ – коэффициенты полинома, имеющие размерность $^{\circ}\text{C}$; C – массовая концентрация раствора. Значения коэффициентов полинома и дисперсии аппроксимации σ^2 приведены в табл. 1.

Наряду с температурой плавления в криобиологии большую роль играет скрытая теплота плавления. Она оказывает непосредственное влияние на среднюю скорость охлаждения при одноэтапном замораживании биообъектов. При замораживании выделение скрытой теплоты плавления из глубины образца замедляет охлаждение его внешних слоев, что непременно скажется на сохранности замораживаемого биообъекта.

На рис. 7 представлены зависимости скрытой теплоты фазового перехода водных растворов глицерина и 1,2-ПД от массовой концентрации криопротектора, а на рис. 8 – зависимости скрытой теплоты плавления водных растворов изомеров бутандиолов (БД) от их массовой концентрации. Графики построены и обработаны с условием, что при нулевой концентрации криопротектора теплота фазового перехода равна теплоте фазового перехода воды (334,14 кДж/кг).

Зависимости теплоты плавления ΔH (кДж/кг) водных растворов криопротекторов от их массо-

Along with melting temperature the key role in cryobiology is played by the latent heat of melting. It directly affects an average cooling rate under one-step freezing of bioobjects. Under freezing the release of latent melting heat from a sample's depth slows down the cooling of its external layers (that will certainly affect the integrity of frozen bioobject).

Fig. 7 shows the dependencies of latent heat of phase transition of glycerol and 1,2-PD aqueous solutions on mass concentration of cryoprotectant, and Fig. 8 does the dependencies of latent melting heat of aqueous solutions of butane diols (BD) isomers on their mass concentration. Graphs are built and treated with the condition, that at a zero concentration of cryoprotectant the heat of phase transition equals to that for water (334.14 kJ/kg).

Dependencies of melting heat ΔH (kJ/kg) of cryoprotective aqueous solutions on their mass concentrations, as well as melting temperature, are described by polynomial of 3rd degree:

$$\Delta H = b_3 C^3 + b_2 C^2 + b_1 C + 334,14, \quad (2)$$

where $b_1 \div b_3$ are polynomial coefficients (kJ/kg), C is mass concentration of cryoprotectant.

The values of polynomial coefficients are summarised in Table 2.

From cryobiological point of view, of importance is the dependency of phase transition heat on overcooling degree, which is observed at each procedure

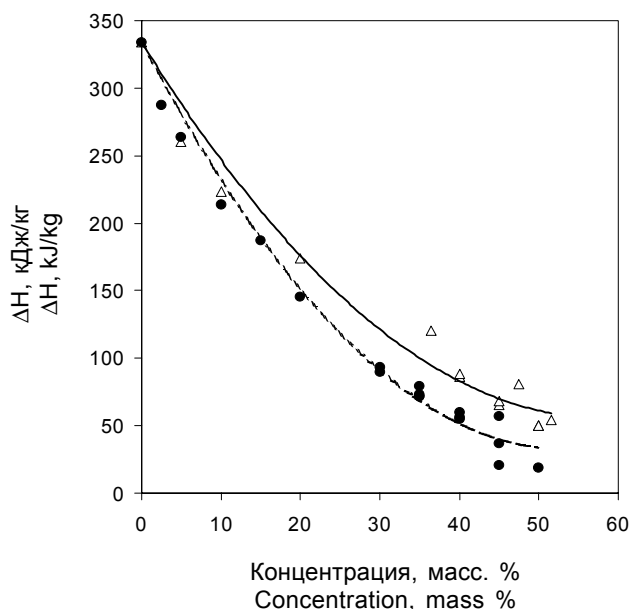


Рис. 7. Зависимость теплоты плавления водных растворов глицерина (●) и 1,2-ПД (Δ) от их массовых концентраций.

Fig. 7. Dependency of melting heat of glycerol (●) and 1,2-PD (Δ) aqueous solutions on its mass concentration.

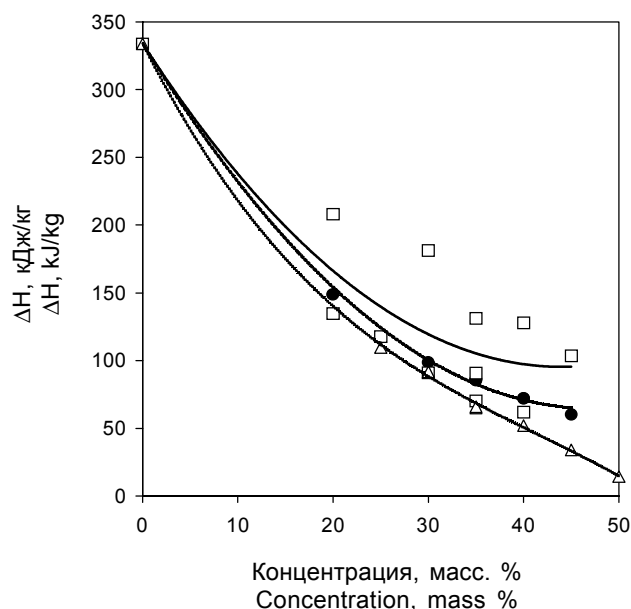


Рис. 8. Зависимость теплоты плавления водных растворов бутандиолов от их массовых концентраций: ● – 1,3-БД; □ – 2,3-БД; Δ – Levo-2,3-БД.

Fig. 8. Dependency of melting heat of aqueous solutions of butane diol isomers on its mass concentration: ● – 1,3-BD; □ – 2,3-BD; Δ – Levo-2,3-BD.

Таблица 1. Значения коэффициентов уравнения (1) и дисперсии аппроксимации для ряда водных растворов криопротекторов

Table 1. Values of equation coefficients (1) and dispersion of approximation for series of cryoprotective aqueous solutions

Криопротектор Cryoprotectant	$a_3 \times 10^{-5}$	$a_2 \times 10^{-4}$	a_1	a_0	σ^2	Диапазон концентраций, масс. % Concentration range, % (w/w)
Глицерин Glycerol	-9,3843	-9,2173	0,20001	0	0,9873	0+66,7
	0	3,157	1,8496	-170,2	0,9986	66,7+100
Глюкоза Glucose	-7,8534	21,426	-0,1227	0	0,9921	0+75
ГОЭК HES	-6,9672	37,87	-0,0742	0	0,9961	0+60
ДМАц MAc	-5,366	-104,23	0,0321	0	0,9926	0+55
	0	81,37	-0,8623	-15,14	1,0	55+100
ДМСО MSO	0	-84,93	-0,3808	0	0,9576	0+70
	0	229,6	-1,055	-105,605	0,9944	70+100
ДЭСО ESO	0	-96,28	-0,0992	0	0,9982	0+40
	0	705,7	-10,421	359,74	0,9917	80+100
ДМФА MFA	-5,8323	-101,31	-0,070	0	0,9454	0+80
	0	500,84	-6,9579	135,43	0,9591	80+100
Мальтоза Maltose	-2,1	-6,867	-0,0483	0	1,0	0+60
Метиловый спирт Methanol	-29,119	137,47	-1,0468	0	0,9919	0+77
	0	-106,2	3,6452	-355,78	0,9992	77+100
ММЭГ MMEG	0	-95,8	-0,0269	0	0,9975	0+60
ММЭПГ MMEPG	0	-87,4	-0,1637	0	0,9901	0+50
ММЭЭГ MMEEG	0	-117,4	-0,1489	0	0,9996	0+50
МЭЭГ MEEG	0	-78,7	-0,0198	0	0,9985	0+60
ОЭГ n = 3 EEG n = 3	-89,58	471,04	-0,9381	0	0,9926	0+40
ОЭГ n = 5 OEG n = 5	-15,3	64,89	-0,37044	0	0,9854	0+50
ОЭГ n = 7 OEG n = 7	-61,3	329,5	-0,6712	0	0,9929	0+50
ОЭГ n = 12 OEG n = 12	-10,92	89,47	-0,3563	0	0,9982	0+60
ПВП PVP	-25,02	125,4	-0,1925	0	0,8997	0+60
ПЭО-100 PEO-100	0	-78,58	-0,0936	0	0,9967	0+60
	0	60,0	-0,36	-33,0	1,0	60+100

Продолжение табл 1
Table 1 (continued)

Криопротектор Cryoprotectant	$a_3 \times 10^{-5}$	$a_2 \times 10^{-4}$	a_1	a_0	σ^2	Диапазон концентраций, масс. % Concentration range, % (w/w)
ПЭО-200 PEO-200	-17,66	47,03	-0,149	0	0,9935	0+60
ПЭО-300 PEO-300	-18,12	44,08	-0,1121	0	0,9952	0+60
ПЭО-400 PEO-400	-24,3	111,9	-0,239	0	0,995	0+68
	0	-103,2	3,026	-200,15	0,9996	68+100
ПЭО-900 PEO-900	-1,692	-32,36	0,0245	0	0,9961	0+55
	53,832	-1424,8	13,32	-401,7	0,9987	55+100
ПЭО-2000 PEO-2000	-6,697	-7,234	0,0021	0	0,9994	0+55
	0	-198,5	4,3536	-187,35	0,9621	55+100
Рибоза Ribose	-24,713	150,36	-0,3332	0	0,9966	0+70
Сахароза Sucrose	-11,042	61,948	-0,2068	0	0,9918	0+65
Сорбит Sorbitol	-4,8918	-17,451	-0,0255	0	0,9959	0+65
Трегалоза Trehalose	0	-21,265	-0,0931	0	0,882	0+70
Этиленгликоль Ethylene glycol	0	-123,5	-0,1289	0	0,9504	0+62,6
	0	-413,7	7,8604	-387,37	0,925	62,7+100
Этиловый спирт Ethanol	-15,31	119,6	-0,8856	0	0,9568	0+90
	0	-1404,4	28,333	-1544,2	0,9234	92,5+100
1,3-м-2-П 1,3-m-2-P	0	-81,6	-0,1121	0	0,9948	0+60
1,2-ПД 1,2-P	-16,17	16,38	-0,3399	0	0,9938	0+65
1,3-ПД 1,3-P	-42,59	200,9	-0,6119	0	0,995	0+60
1,3-БД 1,3-B	0	-78,4	-0,0913	0	0,9983	0+50
1,4-БД 1,4-B	0	-30,1	-0,6775	0	0,9867	0+40
	52,585	-1050,6	7,3225	-187,51	0,9902	40+100
2,3-БД 2,3-B	0	-103,8	-0,0385	0	0,9673	0+40
Levo-2,3-БД Levo-2,3-B	0	-92,4	-0,1132	0	0,9977	0+50
NaCl	0	-178,51	-0,4811	0	0,999	0+23,2

вых концентраций как и температура плавления описываются полиномом 3-й степени:

$$\Delta H = b_3 C^3 + b_2 C^2 + b_1 C + 334,14, \quad (2)$$

где $b_1 \div b_3$ – коэффициенты полинома (кДж/кг); C – массовая концентрация протектора.

Значения коэффициентов полинома приведены в табл. 2.

С криобиологической точки зрения очень важна зависимость теплоты фазового перехода от степени переохлаждения, которое наблюдается практически при каждой процедуре замораживания биообъектов. Чем больше степень переохлаждения вещества, тем меньше теплоты выделяется.

Зависимость теплоты фазового перехода веществ и растворов от температуры переохлаждения также может быть описана полиномом до 3-й степени:

$$\Delta H = d_3 t^3 + d_2 t^2 + d_1 t + d_0, \quad (3)$$

of bioobject's freezing. The higher is the degree of substance overcooling, the less heat is released.

Dependency of phase transition heat of substances and solutions on overcooling temperature may be also described by the 3rd degree polynomial:

$$\Delta H = d_3 t^3 + d_2 t^2 + d_1 t + d_0, \quad (3)$$

where $d_0 \div d_3$ are polynomial coefficients with following dimension: d_0 is kJ/kg, d_1 is kJ/(kg·°C); d_2 is kJ/(kg·°C)²; d_3 is kJ/(kg·°C)³; t is overcooling temperature, [°C].

Fig. 9 shows the data [21, 28, 53] for dependency of phase transition heat of water on overcooling degree (data spread on heat reaches 119 kJ/kg). This graph may be divided into two pronounced branches, which were treated both apart and together, the results are shown in Table 3.

Fig. 10 demonstrates the data on heat of phase transition for overcooled 1,2-PD aqueous solution of different concentration [6].

Таблица 2. Значения коэффициентов уравнения (2) и дисперсии аппроксимации для ряда водных растворов криопротекторов
Table 2. Values of equation coefficients (2) and dispersion of approximation for series of cryoprotective aqueous solutions

Криопротектор Cryoprotectant	b_3	b_2	b_1	σ^2	Диапазон концентраций, масс. % Concentration range, % (w/w)	Источник Reference
Глицерин Glycerol	0	0,0819	-9,552	0,9748	0+50	[8, 24, 30, 34, 36, 37]
ДМСО MSO	0	0,0779	-10,395	1,0	0+50	[37]
ДЭСО ESO	-0,0015	0,2017	-12,889	0,9981	0+40	[56]
МХГГ* MCHG*	-0,00194	0,19451	-8,0566	0,988	0+60	[7]
ПВП PVP	-0,0133	0,9397	-22,14	0,9898	0+38	[3]
ПЭО-400 PEO-400	0	0,2479	-10,013	0,9805	0+20	[24]
Трегалоза Trehalose	0	0,0524	-7,2814	0,9971	0+40	[62]
1,2-ПА 1,2-P	0	0,1052	-11,268	0,9866	0+55	[30, 32, 35, 37, 59, 60, 61]
1,3-БД 1,3-B	0	0,1212	-11,425	0,9985	0+45	[30, 37, 38, 59]
2,3-БД 2,3-B	0	0,1238	-10,869	0,8015	0+45	[30, 38]
Levo-2,3-БД Levo-2,3-B	-0,00201	0,25134	-13,92	0,9994	0+50	[30, 31, 37]

Примечание: * – монохлоргидрин глицерина.

Note: * – monochlorhydrin of glycerol.

где $d_0 \div d_3$ – коэффициенты полинома, имеющие размерность: d_0 – кДж/кг, d_1 – кДж/(кг·°C), d_2 – кДж/(кг·°C²), d_3 – кДж/(кг·°C³), t – температура переохлаждения, °C.

На рис. 9 приведены данные [21, 28, 53] для зависимости теплоты фазового перехода воды от степени переохлаждения (разброс данных по теплоте доходит до 119 кДж/кг). Можно разделить этот график на две ярко выраженные ветви, которые были обработаны как раздельно, так и совместно, результаты приведены в табл. 3.

На рис. 10 представлены данные по теплоте фазового перехода для переохлажденных водных растворов 1,2-ПД различной концентрации [6].

Кроме того, были обработаны данные по теплоте фазового перехода переохлажденных водных растворов ММЭГ и МЭЭГ. Результаты обработки приведены в табл. 4.

Выводы

Как видно из графиков разброс данных по значениям температуры и теплоты плавления для одних и тех же концентраций водных растворов криопротекторов, полученных из нескольких источников, весьма существенен, что затрудняет применение указанных данных как справочного материала.

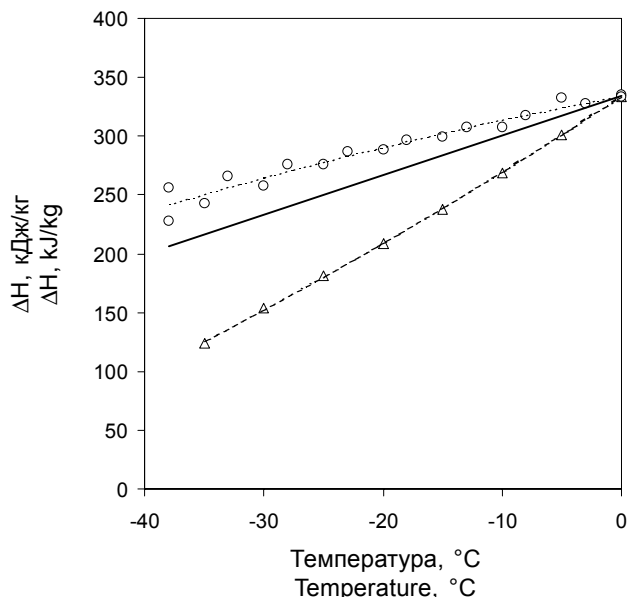


Рис. 9. Зависимость скрытой теплоты фазового перехода воды от переохлаждения: ○ – данные из [29, 54]; △ – данные из [21]; — – совместно обработанные данные.
Fig. 9. Dependency of latent heat of water phase transition on overcooling: ○ – data from [29, 54]; △ – data from [21]; — – co-processed data.

Таблица 3. Коэффициенты уравнения (3) и дисперсия аппроксимации для воды

Table 3. Equation coefficients (3) and dispersion of approximation for water

Ветвь графика Arm of the curve	d_2	d_1	d_0	σ^2	Диапазон температур, °C Temperature range, °C
Верхняя Top	-0,0134	1,9247	334,34	0,9572	-38+0
Нижняя Bottom	0,0191	6,629	333,73	0,9998	-35+0
Общая Total	0	3,3567	334,14	0,5225	-38+0

Additionally the data on heat of phase transition for overcooled MMEG and MEEG aqueous solutions [6] were processed. The processing results are shown in Table 4.

Conclusion

As shown in graphs, the data spread on values of temperature and melting heat for the same concentrations of cryoprotective aqueous solutions, obtained from several sources, is quite significant, that complicates applying the mentioned data as the reference data.

Obtained by us literature data-based empirical dependencies of melting temperatures of aqueous solutions for 38 cryoprotectants on their concentration, are demonstrated.

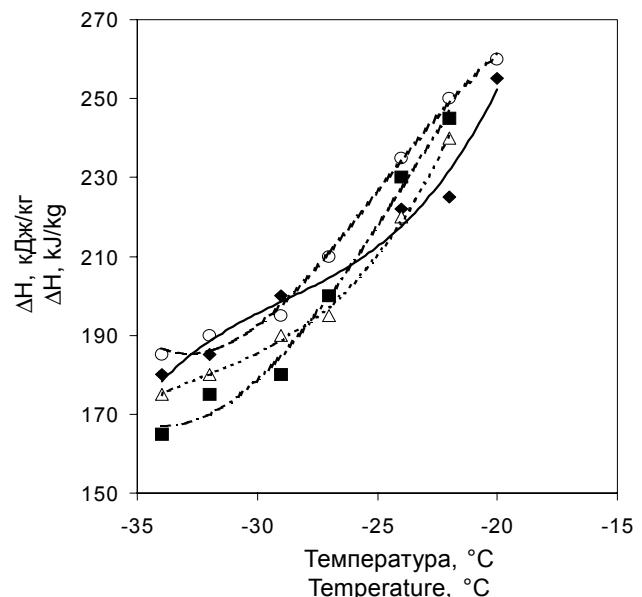


Рис. 10. Зависимость теплоты фазового перехода водных растворов 1,2-ПД от температуры при разных концентрациях, %: ◆ – 10,4; ○ – 20,5; △ – 30,3; ■ – 40,6.

Fig. 10. Dependency of heat of phase transition for 1,2-PD aqueous solutions on temperature under various concentrations, %: ◆ – 10.4; ○ – 20.5; △ – 30.3; ■ – 40.6.

Таблица 4. Коэффициенты уравнения (3) и дисперсии аппроксимации для 1,2-ПД, ММЭГ, МЭЭГ
Table 4. Coefficients of equation (3) and dispersion of approximation for 1,2-PD, MMEG, MEEG

Концентрация вещества, массовые % Solute concentration, % (w/w)		d_3	d_2	d_1	d_0	σ^2	Диапазон температур, °C Temperature range, °C
1,2-ПД 1,2-P	10,4	0,0403	3,4856	103,38	1248,3	0,978	-34+-20
	20,5	-0,0414	-3,0937	-69,088	-215,05	0,9957	-34+-20
	30,3	0,0326	3,1668	104,87	1362,4	0,997	-34+-22
	40,6	-0,0264	-1,8079	-31,514	146,72	0,9877	-34+-22
ММЭГ MMEG	5,4	-0,0349	-2,3911	-45,375	26,324	0,9927	-33+-13
	10,5	-0,0337	-2,3511	-46,5	-14,121	0,9923	-33+-16
	21	0	0,5934	36,745	753,16	0,9839	-33+-20
	31,1	0,1696	14,374	407,92	4072,3	0,9897	-33+-24
	40,6	0	1,25	76,078	1328,7	0,9831	-33+-26
	49,9	0,2381	22,071	683,4	7248	1,0	-33+-26
МЭЭГ MEEG	9,9	-0,0491	-3,5447	-77,492	-308,3	0,9889	-31+-18
	19,9	0	-0,2439	-5,659	199,99	0,9745	-31+-18
	30,4	-0,0513	-3,911	-90,999	-440,07	0,9982	-31+-18
	41,2	-0,0665	-4,9363	-114,74	-638,54	0,9994	-31+-18
	50	0	0,6333	37,7	722,07	1,0	-31+-26

Приведены полученные нами на основании данных литературы эмпирические зависимости температуры плавления водных растворов 38 криопротекторов от их концентрации.

Построены эмпирические формулы для расчета значений скрытой теплоты плавления водных растворов 11 криопротекторов в зависимости от их массовой концентрации.

Получены зависимости скрытой теплоты плавления от степени переохлаждения воды и водных растворов трех криопротекторов разной концентрации.

Литература

1. Абакумова Н.А. Междолинное взаимодействие в бинарных системах растворитель (H₂O) – растворенное вещество (апротонные и протонные дипольные органические вещества): Дис. ... канд. хим. наук. – М., 1982.– 232 с.
2. Белоус А.М., Грищенко В.И. Криобиология.– Киев: Наук. думка, 1994.– 431 с.
3. Белоус А.М., Шраго М.И., Пушкарь Н.С. Криоконсерванты.– Киев: Наук. думка, 1979.– 198 с.

Empirical formulae to calculate the values of latent melting heat of aqueous solutions of 11 cryoprotectants depending on their mass concentration, are built.

There are obtained the dependencies of latent melting heat on overcooling degree for water and aqueous solutions of three differently concentrated cryoprotectants.

References

1. Abakumova N.A. Interaction between particles in binary systems of solvent (H₂O) – solute (aprotic and protic dipolar organic substances): Thesis of candidate of chemical sciences.– Moscow: 1982.– 232 p.
2. Belous A.M., Grischenko V.I. Cryobiology.– Kiev: Naukova dumka, 1994.– 431p.
3. Belous A.M., Shrago M.I., Pushkar N.S. Cryopreservatives.– Kiev: Naukova dumka, 1979.– 198 p.
4. Belousov V.P., Morachevsky A.G., Panov M.Yu. Thermal properties of non-electrolyte solutions: Reference book.– Leningrad: Khimiya, 1981.– 264 p.
5. Bidny S.Yu., Averiyanov M.V., Serebryakov V.G. et al. Phase transformation in dimethyl acetamide-water system // In: Physical and chemical properties and biological effect of cryoprotectants / Ed. by V.I. Lugovoy.– Kharkov, 1990.– P. 5–8.

4. Белоусов В.П., Морачевский А.Г., Панов М.Ю. Тепловые свойства растворов неэлектролитов. Справочник.– Л.: Химия, 1981.– 264 с.
5. Бидный С.Ю., Аверьянов М.В., Серебряков В.Г. и др. Фазовые превращения в системе диметилацетамид-вода // Физико-химические свойства и биологическое действие криопротекторов: Сб. статей / Под ред. В.И. Лугового.– Харьков, 1990.– С. 5–8.
6. Бидный С.Ю., Бронштейн В.Л. Измерение удельной теплоты плавления льда в замороженных растворах полиолов // Деп. в ВИНТИ N5740-85.
7. Бидный С.Ю., Кошый С.В., Гучок В.М., Шраго М.И. Некоторые физико-химические свойства и токсичность водных растворов монохлоргидрина глицерина // Пробл. криобиологии.– 1994.– №2.– С. 21–25.
8. Бидный С.Ю., Тимошенко Ю.П., Иванова Е.Ф. Исследование термодинамических свойств водных растворов глицерина // Криобиология и криомедицина.– 1983.– Вып. 11.– С. 43–47.
9. Богданов Н.С., Иванов О.П., Куприянова А.В. Холодильная техника. Свойства веществ: Справочник.– М.: Агропромиздат, 1985.– 208 с.
10. Карапетян Ю.А., Эйчис В.М. Физико-химические свойства электролитных неводных растворов.– М.: Химия, 1989.– 256 с.
11. Компаниец А.М., Николенко А.В., Чеканова В.В., Троц Ю.П. Криоконсервирование эритроцитов под защитой олигомера оксиэтилированного глицерина (n = 25) // Пробл. криобиологии.– 2005.– Т. 15, №3.– С. 561–565.
12. Краткий справочник физико-химических величин.– Л.: Химия, 1983.– 232 с.
13. Кухлинг Х. Справочник по физике.– М.: Мир, 1985.– 520 с.
14. Линник Т.П. Амиды алифатических кислот – эффективные криопротекторы. I. Физико-химические свойства соединений ряда амидов // Пробл. криобиологии.– 1998.– №3.– С. 21–27.
15. Линник Т.П. Физико-химические факторы криоповреждений и криозащиты сперматозоидов петухов в цикле низкотемпературного консервирования: Дис. ... доктора биол. наук.– Харьков, 2003.– 328 с.
16. Новиков А.Н., Линник Т.П. Влияние физико-химических свойств криопротекторов на скорость роста и размер кристаллов льда в модельных системах // Физико-химические свойства и биологическое действие криопротекторов: Сб. статей / Под ред. В.И.Лугового.– Харьков, 1990.– С. 99–103.
17. Новиков А.Н., Пичугин Ю.И., Линник Т.П. Влияние криопротекторов и ряда органических добавок на процесс рекристаллизации льда в модельных системах // Пробл. криобиологии.– 1992.– №2.– С. 20–23.
18. Пушкарь Н.С., Белоус А.М., Иткин Ю.А. и др. Низкотемпературная кристаллизация в биологических системах.– Киев: Наук. думка, 1973.– 243 с.
19. Пушкарь Н.С., Тимошенко Ю.П., Лобынцева Г.С., Щербак Г.В. Современное состояние проблем размораживания органов и тканей // Итоги науки и техники. Сер. Биофизика.– 1978.– Т. 9.– С. 8–52.
20. Пушкарь Н.С., Шраго М.И., Белоус А.М. Криопротекторы.– Киев: Наук. думка, 1978.– 204 с.
21. Сморгин Г.И. Особенности кристаллизации неподвижной переохлажденной воды // Материалы Всесоюз. совещания “Проблемы инженерной гляциологии”.– Новосибирск, 1986.– С. 16–23.
22. Таблицы физических величин: Справочник / Под ред. И.К. Кикоина.– М.: Атомиздат, 1976.– 1008 с.
23. Теплотехнический справочник. Т. 1 / Под ред. В.Н. Юренева и П.Д. Лебедева.– М.: Энергия, 1975.– 744 с.
24. Тимошенко Ю.П. Исследование процесса теплопереноса при замораживании биологических объектов: Дис. ... канд. техн. наук.– Харьков, 1982.– 148 с.
5. Bidny S.Yu., Bronshtein B.L. Measurement of ice specific heat of fusion of ice in frozen solutions of polyols / Dep. in VINITIN 5740-85.
7. Bidny S.Yu., Koschiy S.V., Guchok V.M., Shrago M.I. Some physico-chemical properties and toxicity of monochlorohydrine glycerol aqueous solutions // Problems of Cryobiology.– 1994.– N2.– P. 21–25.
8. Bidny S.Yu., Timoshenko Yu.P., Ivanova E.F. Study of thermodynamic properties of glycerol aqueous solutions// Kriobiologiya i Kriomeditsina.– 1983.– Issue 11.– P. 43–47.
9. Bogdanov N.S., Ivanov O.P., Kupriyanova A.V. Refrigerating appliances. Properties of substances: Reference book.– Moscow: Agropromizdat, 1985.– 208 p.
10. Karapetyan Yu.A., Eichis V.M. Physical and chemical properties of electrolyte non-water solutions.– Moscow: Khimiya, 1989.– 256 p.
11. Kompaniets A.M., Nikolenko A.V., Chekanova V.V., Trots Yu.P. Cryopreservation of erythrocytes under protection of oxyethylated glycerol oligomer (n = 25) // Problems of Cryobiology.– 2005.– Vol. 15, N3.– P. 561–565.
12. Short reference book of physical and chemical values.– Leningrad: Khimiya, 1983.– 232 p.
13. Kuchling Kh. Reference book on physics.– Moscow: Mir, 1985.– 520 p.
14. Linnik T.P. Amides of aliphatic acids are effective cryoprotectants. I. Physical-chemical properties of the compounds out of the amid series // Problems of Cryobiology.– 1998.– N3.– P. 21–27.
15. Linnik T.P. Physical and chemical factors of cryodamages and cryoprotection of fowl spermatozoa in the cycle of low temperature preservation: Thesis of Doctor of Biol. Sciences.– Kharkov, 2003.– 328 p.
16. Novikov A.N., Linnik T.P. Effect of physical and chemical properties of cryoprotectants on growth rate and size of ice crystals in model systems // In: Physical and chemical properties and biological effect of cryoprotectants / Ed. by V.I. Lugovoy.– Kharkov, 1990.– P. 99–103.
17. Novikov A.N., Pichugin Yu.I., Linnik T.P. The effect of cryoprotectants and some organic additives on the recrystallization in model systems // Problems of Cryobiology.– 1992.– N2.– P. 20–23.
18. Pushkar N.S., Belous A.M., Itkin Yu.A. et al. Low temperature crystallisation in biological systems.– Kiev: Naukova dumka, 1973.– 243 p.
19. Pushkar N.S., Timoshenko Yu.P., Lobyntseva G.S., Scherbak G.V. Actual state of problems of freeze-thawing of organs and tissues // Itogi Nauki i Tekhniki. Biophysics Series.– 1978.– Vol. 9.– P. 8–52.
20. Pushkar N.S., Shrago M.I., Belous A.M. Cryoprotectants.– Kiev: Nauk. Dumka, 1978.– 204 p.
21. Smorygin G.I. Peculiarities of crystallisation of immobile overcooled water // Problems of engineering glaciology. Proc. of All-Union Meeting.– Novosibirsk, 1986.– P. 16–23.
22. Tables of physical values. Reference book / Ed. by I.K. Kikoin.– Moscow: Atomizdat, 1976.– 1008 p.
23. Thermotechnical reference book. Vol. 1 / Ed. by V.N. Yurenev and P.D. Lebedev.– Moscow: Energiya, 1975.– 744 p.
24. Timoshenko Yu.P. Study of heat transfer process during freezing of biologic objects: Thesis of Candidate of Technical Sciences.– Kharkov, 1982.– 148 p.
25. Angell C.A., Senapati H. Crystallization and vitrification in cryoprotected aqueous systems // In: The biophysics of organ cryopreservation / Ed. by: D.E. Pegg and A.M.Karow.– New York, Plenum, 1987.– P. 147–171.
26. Baudot A., Bret J.L. A simple capacitive cell for the measurement of liquids dielectric constant under transient thermal conditions // Cryo-Letters.– 2003.– Vol. 24, N1.– P. 5–16.
27. Baudot A., Odagescu V. Thermal properties of ethylene glycol aqueous solutions // Cryobiology.– 2004.– Vol. 48, N3.– P. 283–294.

25. Angell C.A., Senapati H. Crystallization and vitrification in cryoprotected aqueous systems // In: The biophysics of organ cryopreservation / Ed. by: D.E. Pegg and A.M.Karow.— New York, Plenum, 1987.— P. 147–171.
26. Baudot A., Bret J.L. A simple capacitive cell for the measurement of liquids dielectric constant under transient thermal conditions // *Cryo-Letters.*— 2003.— Vol. 24, N1.— P. 5–16.
27. Baudot A., Odagescu V. Thermal properties of ethylene glycol aqueous solutions // *Cryobiology.*— 2004.— Vol. 48, N3.— P. 283–294.
28. Boutron P. More accurate determination of the quantity of ice crystallized at low cooling rates in the glycerol and 1,2-propanediol aqueous solutions: comparison with equilibrium // *Cryobiology.*— 1984.— Vol. 21, N2.— P. 183–191.
29. Boutron P. Comparison with the theory of the kinetics and extent of ice crystallization and of the glass-forming tendency in aqueous cryoprotective solutions // *Cryobiology.*— 1986.— Vol. 23, N1.— P. 88–102.
30. Boutron P. Glass-forming tendency and stability of the amorphous state in solutions of a 2,3-butanediol containing mainly the levo and dextro isomers in water, buffer, and Euro-Collins // *Cryobiology.*— 1993.— Vol. 30, N1.— P. 86–97.
31. Boutron P. Levo- and dextro-2,3-butanediol and their racemic mixture: very efficient solutes for vitrification // *Cryobiology.*— 1990.— Vol. 27, N1.— P. 55–69.
32. Boutron P., Delage D., Roustit B., Korber Ch. Ternary systems with 1,2-propanediol. — A new gain in the stability of the amorphous state in the system water–1,2-propanediol–1-propanol // *Cryobiology.*— 1982.— Vol. 19, N5.— P. 550–564.
33. Boutron P., Kaufmann A. Stability of the amorphous state in the system water-glycerol-dimethylsulfoxide // *Cryobiology.*— 1978.— Vol. 15, N1.— P. 93–108.
34. Boutron P., Kaufmann A. Stability of the amorphous state in the system water-glycerol-ethylene glycol // *Cryobiology.*— 1979.— Vol. 16, N1.— P. 83–89.
35. Boutron P., Kaufmann A. Stability of the amorphous state in the system water–1,2-propanediol // *Cryobiology.*— 1979.— Vol. 16, N6.— P. 557–568.
36. Boutron P., Kaufmann A., Dang N.V. Maximum in the stability of the amorphous state in the system water-glycerol-ethanol // *Cryobiology.*— 1979.— Vol. 16, N4.— P. 372–389.
37. Boutron P., Mehl P. Theoretical prediction of devitrification tendency: determination of critical warming rates without using finite expansions // *Cryobiology.*— 1990.— Vol. 27, N4.— P. 359–377.
38. Boutron P., Mehl P., Kaufmann A., Angiband P. Glass-forming tendency and stability of the amorphous state in the aqueous solutions of linear polyalcohols with four carbons. I. Binary systems water-polyalcohol // *Cryobiology.*— 1986.— Vol. 23, N5.— P. 453–469.
39. 1,4-butanediol properties. BASF Diols. Products [Электронный ресурс] // [web-сайт] www.basf.com/diols/bcdiolsbdo_properties.html (5.08.2008).
40. Chang Z.H., Baust J.G. Stability of concentrated sorbitol solutions in the glassy state // *Cryo-Letters.*— 1991.— Vol. 12, N1.— P. 23–30.
41. Chang Z., Baust J.G. Further injury into the cryobehavior of aqueous solutions of glycerol // *Cryobiology.*— 1991.— Vol. 28, N3.— P. 268–278.
42. Chang Z.H., Hansen T.N., Baust J.G. The effect of antifreeze protein on the devitrification of a cryoprotective system // *Cryo-Letters.*— 1991.— Vol. 12, N4.— P. 215–226.
43. Donzon P. Cryoenzymology // *Cryobiology.* — 1983. — Vol. 20, N5.— P. 625–635.
44. Franks F., Asquith M.H., Hammond C.C., Skaer H.B., Echlin P. Polymeric cryoprotectants in the preservation of biological ultrastructure. I. Low temperature states of aqueous solutions of hydrophilic polymers // *J. Microscopy.*— 1977.— Vol. 110, Pt. 3.— P. 223–238.
45. Franks F., Reid D.S., Suggett A. Conformation and hydration of sugars and related compounds in dilute aqueous solution // *J. Solution Chem.*— 1973.— Vol. 2, N2/3.— P. 99–105.
46. Freezing point of water/glycol solutions. Ketema LP [Electronic resource] // [web-site] www.ketemalp.com/pdfs/glycol_freezing_point_table.pdf (1.03.2007).
47. Freitas R.A. Nanomedicine. V.1. Basic Capabilities.— Georgetown: Landes Bioscience, 1999 [Electronic resource] // [web-site] www.nanomedicine.com/NMI.htm (7.11.2007).

45. *Franks F., Reid D.S., Suggett A.* Conformation and hydration of sugars and related compounds in dilute aqueous solution // *J. Solution Chem.*—1973.— Vol. 2, N2/3.— P. 99–105.
46. *Freezing point of water/glycol solutions.* Ketema LP [Электронный ресурс] // [web-сайт] www.ketemalp.com/pdfs/glycol_freezing_point_table.pdf (1.03.2007).
47. *Freitas R.A.* Nanomedicine. V.1. Basic Capabilities.— Georgetown: Landes Bioscience, 1999 [Электронный ресурс] // [web-сайт] www.nanomedicine.com/NMI.htm (7.11.2007).
48. *Green J.W., Hoffman J.F.* A study of isotonic solutions for the erythrocytes of some marine teleosts and elasmobranchs // *Biol. Bull.*— 1953.— Vol. 105, N2.— P. 289–295.
49. *Goff H.D., Caldwell K.B., Stanley D.W., Maurice T.J.* The influence of polysaccharides on the glass transition in frozen sucrose solution and ice cream // *J. Dairy Sci.*— 1993.— Vol. 76, N5.— P. 1268–1277.
50. *Hey J.M., Macfarlane D.R.* Crystallization of ice in aqueous solutions of glycerol and dimethyl sulfoxide // *Cryobiology.* — 1996.— Vol. 33, N2.— P. 205–216.
51. *Knauf M.J., Burcham T.S., Osuga D.T. et al.* Comparisons of the freezing and melting characteristics of antifreeze glycoproteins and other substances // *Cryo-Letters.*— 1982.— Vol. 3, N4.— P. 221–226.
52. *Körber Ch., Scheiwe M.W., Boutron P., Rau G.* The influence of hydroxyethyl starch on ice formation in aqueous solution // *Cryobiology.*— 1982.— Vol. 19, N5.— P. 478–492.
53. *Lindstrom O.M.* Assessment of freezing injury of cold-hardened undercooled leaves of *Solanum commersonii* // *Cryo-Letters.*— 1983.— Vol. 4, N6.— P. 361–370.
54. *MacFarlane D.R.* Devitrification in glass-forming aqueous solutions // *Cryobiology.*— 1986.— Vol. 23, N3.— P. 230–244.
55. *MacKenzie A.P., Rasmussen D.* Interactions in water-polyvinylpyrrolidone systems at low temperatures // In: *Water structure at the water-polymer interface* / Ed. by H.H.G. Jellinek.— New York, Plenum, 1972.— P. 146–172.
56. *Markarian S.A., Bonora S., Bagramyan K.A., Arakelyan V.B.* Glass-forming property of the system diethyl sulphoxide/water and its cryoprotective action on *Escherichia coli* survival // *Cryobiology.*— 2004.— Vol. 49, N1.— P. 1–9.
57. *Martinez I.* Liquid properties [Электронный ресурс] // [web-сайт] <http://imartinez.etsin.upm.es/dat1/eLIQ.htm> (12.01.2005).
58. *Mehl P.M.* Remarks on the determination of critical warming rates in amorphous aqueous solutions relevant to cryopreservation by vitrification // *Cryo-Letters.*— 1993.— Vol. 14, N1.— P. 21–30.
59. *Mehl P., Boutron P.* Glass-forming tendency and stability of the amorphous state in the aqueous solutions of linear polyalcohols with four carbons. II. Ternary systems with water, 1,2-propanediol or 1,3-butanediol or 2,3-butanediol // *Cryobiology.*— 1987.— Vol. 24, N4.— P. 355–367.
60. *Mehl P., Boutron P.* Stability of the amorphous state in the system water-1,2-propanediol-methanol // *Cryo-Letters.*— 1985.— Vol. 6, N6.— P. 343–352.
61. *Mehl P., Boutron P.* Ternary system with 65% (w/w) water, 1,2-propanediol and 1,2-butanediol: glass-forming tendency and stability of the amorphous state // *Cryo-Letters.*—1987.— Vol. 8, N2.— P. 64–73.
62. *Nicolajsen H., Hvidt A.* Phase behavior of the system trehalose-NaCl-H₂O // *Cryobiology.*— 1994.— Vol. 31, N2.— P. 199–205.
63. *N,N-Dimethylacetamide* [Электронный ресурс] // [web-сайт] <http://chemicaland21.com/industrialchem/solalc/n,n-DIMETHYLACETAMIDE.htm> (15.11.2006).
64. *Pegg D.E.* Equations for obtaining melting points and eutectic temperatures for the ternary system dimethyl sulphoxide/sodium chloride/water // *Cryo-Letters.* — 1986. — Vol. 7, N6.— P. 387–394.
65. *Pegg D.E., Arnaund F.G.* Equation for obtaining melting points in the quaternary system propane-1,2-diol/glycerol/sodium chloride/water // *Cryo-Letters.*— 1988.— Vol. 9, N6.— P. 404–417.
66. *Physical properties of solutions.* Fundamentals of chemistry [Electronic resource] // [web-site] <http://genchem.chem.wisc.edu/ssutorial/Text11/Tx117/tx117.html> (26.05.2007).
67. *Physical properties.* Optim™ Glycerine [Electronic resource] // [web-site] www.dow.com/glycerine/resources/physical_prop.htm (11.09.2008).

65. *Pegg D.E., Arnaud F.G.* Equation for obtaining melting points in the quaternary system propane-1,2-diol/glycerol/sodium chloride/water // *Cryo-Letters.*– 1988.– Vol. 9, N6.– P. 404–417.
66. *Physical properties of solutions.* Fundamentals of chemistry [Электронный ресурс] // [web-сайт] <http://genchem.chem.wisc.edu/ssutorial/Text11/Tx117/tx117.html> (26.05.2007).
67. *Physical properties.* Optim[™]. Glycerine [Электронный ресурс] // [web-сайт] www.dow.com/glycerine/resources/physicalprop.htm (11.09.2008).
68. *Kencro chemicals.* Product: propylene glycol [Электронный ресурс] // [web-сайт] www.kencro.ca/PDF/PROPGLYC.pdf (30.01.2008).
69. *Reid D.S.* Thermal analysis of biological systems // In: *Low temperature biotechnology. Emerging applications and engineering contributions* / Ed. by: J.J. McGrath, K.R. Diller.– New York: Amer. Soc. of Mech. Eng., 1988.– P. 363–376.
70. *Shafizadeh F., Susott R.A.* Crystalline transitions of carbohydrates // *J. Org. Chem.*– 1973.– Vol. 38, N21.– P. 3710–3715.
71. *Sutton R.L., Pegg D.E.* Devitrification in butane-2,3-diol solutions containing anti-freeze-peptide // *Cryo-Letters.*– 1993.– Vol. 14, N1.– P. 13–20.
72. *Takahashi T., Hammett M.F., Cho M.S.* Multifaceted freezing injury in polymorphonuclear cells at high subfreezing temperatures // *Cryobiology.*– 1985.– Vol. 22, N3.– P. 215–236.
73. *The engineering tool box.* Tools and basic information for design, engineering and construction of technical applications [Электронный ресурс] // [web-сайт] www.engineeringtoolbox.com (6.11.2007).
74. *Viking technical data* [Электронный ресурс] // [web-сайт] www.vikingcorp.com (9.12.2007).
75. *WINTREX.* Ethylene glycol heat transfer fluid [Электронный ресурс] // [web-сайт] www.houghtonchemical.com/fluids/wintrex/index.htm (28.10.2006).
76. *Wowk B., Darwin M., Harris S.B. et al.* Effects of solute methoxylation on glass-forming ability and stability of vitrification solutions // *Cryobiology.*– 1999.– Vol. 39, N3.– P. 215–227.
68. *Kencro chemicals.* Product: propylene glycol [Electronic resource] // [web-site] www.kencro.ca/PDF/PROPGLYC.pdf (30.01.2008).
69. *Reid D.S.* Thermal analysis of biological systems // In: *Low temperature biotechnology. Emerging applications and engineering contributions* / Ed. by: J.J. McGrath, K.R. Diller.– New York: Amer. Soc. of Mech. Eng., 1988.– P. 363–376.
70. *Shafizadeh F., Susott R.A.* Crystalline transitions of carbohydrates // *J. Org. Chem.*– 1973.– Vol. 38, N21.– P. 3710–3715.
71. *Sutton R.L., Pegg D.E.* Devitrification in butane-2,3-diol solutions containing anti-freeze-peptide // *Cryo-Letters.*– 1993.– Vol. 14, N1.– P. 13–20.
72. *Takahashi T., Hammett M.F., Cho M.S.* Multifaceted freezing injury in polymorphonuclear cells at high subfreezing temperatures // *Cryobiology.*– 1985.– Vol. 22, N3.– P. 215–236.
73. *The engineering tool box.* Tools and basic information for design, engineering and construction of technical applications [Electronic resource] // [web-site] www.engineeringtoolbox.com (6.11.2007).
74. *Viking technical data* [Electronic resource] // [web-site] www.vikingcorp.com (9.12.2007).
75. *WINTREX.* Ethylene glycol heat transfer fluid [Electronic resource] // [web-site] www.houghtonchemical.com/fluids/wintrex/index.htm (28.10.2006).
76. *Wowk B., Darwin M., Harris S.B. et al.* Effects of solute methoxylation on glass-forming ability and stability of vitrification solutions // *Cryobiology.*– 1999.– Vol. 39, N3.– P. 215–227.

Accepted in 16.02.2009

*Поступила 16.02.2009
Рецензент Т.П. Линник*