

صلى الله عليه وسلم



()

توزیع برخی آمینواسیدها و پروتئین‌ها در سیستم‌های دو فاز آبی

پژوهشگر:

زهرا میرزایی

استاد راهنما:

دکتر علیرضا صلابت

استاد مشاور:

دکتر وحید مهدوی

پائیز ۱۳۹۰

بسم الله الرحمن الرحيم

توزیع برخی آمینواسیدها و پروتئینها در سیستم های دو فازی

آبی

توسط:

زهرا میرزایی

پایان نامه

ارائه شده به مدیریت تحصیلات تکمیلی به عنوان بخشی از فعالیت های تحصیلی

لازم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته شیمی (شیمی فیزیک)

از

دانشگاه اراک

اراک-ایران

ارزیابی و تصویب شده توسط کمیته پایان نامه با درجه: ۱۹۱۵ فروردین

دکتر علیرضا صلابت (استاد راهنما و رئیس کمیته)..... دانشیار

دکتر وحید مهدوی (استاد مشاور)..... استادیار

دکتر محمد سلیمان نژاد (استاد مدعو)..... دانشیار

پاییز ۱۳۹۰

تقدیم به

پدر و مادر مهربانم

که دعای خیرشان بدرقه راهم است

من لم يشكر المخلوق لم يشكر الخالق

در ابتدا بر خود لازم میدانم که از زحمات بی دریغ، تلاشهای بی وقفه و

راهنمایی های ارزشمند استاد گرامی، جناب آقای دکتر صلابت در

راستای انجام این پروژه تشکر و قدردانی نمایم.

هم چنین از زحمات استاد محترم، جناب آقای دکتر مهدوی که مشاور

این پایان نامه بوده اند کمال تشکر و سپاسگزاری را دارم.

از جناب آقای دکتر سلیمان نژاد که زحمت داوری و قرائت این پایان

نامه را بر دوش گرفتند نهایت سپاس را دارم

تشکر و قدردانی فراوان خدمت پدر و مادر عزیزم، به خاطر تمامی

زحماتی که در دوران پر فراز و نشیب زندگی ام متحمل شدند امیدوارم

بتوانم ادای دین کنم و به خواسته آنان جامه عمل بپوشانم . خدایا عاقبت به

خیری و عافیت و طول عمر را برای آنان از درگاهت مسئلت دارم.

چکیده

آمینواسیدها با اهمیت بسیار بالا در علم شیمی، داروسازی، صنایع غذایی و بیوتکنولوژی بکار می‌رود. تکنیک‌های بسیاری برای جداسازی آمینواسیدها استفاده شده است، از جمله استخراج مایع-مایع، غشای مایع، سیستم‌های دو فاز آبی، تعویض یون و میسل‌های معکوس.

بطور معمول، دو نوع از پلیمرهای محلول در آب یا یک پلیمر محلول در آب و یک نمک غیر آلی در بالاتر از غلظت بحرانشان وقتی در محلول آبی حل می‌شوند یک سیستم دو فاز آبی (ATPS) تشکیل خواهد شد. تاکنون، چهار دسته مهم از سیستم‌های دو فاز آبی کشف شده است: (۱) پلیمر/پلیمر، (۲) نمک/پلیمر، (۳) سورفکتانت و (۴) نمک/مایع یونی. سیستم‌های دو فاز بر مبنای سورفکتانت در مقایسه با سیستم‌های دیگر بعلاوه قیمت پایین و زمان جداسازی کوتاه دارای مزیت است.

در این تحقیق، استخراج برخی آمینواسیدها در سیستم میکرومولسیون در n/AOT- هپتان مورد بررسی قرار گرفته است. توزیع سه آمینواسید، تریپتوفان، فنیل آلانین و تیروزین، در دمای ۲۹۸/۱۵ کلون اندازه‌گیری شده است. اثرات pH و غلظت سورفکتانت بر روی ضریب توزیع بطور مفصل مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که pH فاز آبی تاثیر زیادی بر جداسازی آمینواسیدها دارد.

فصل اول: مقدمه و تئوری

۱-۱ تاریخچه.....	۱
۲-۱ جداسازی توسط سیستم‌های دو فاز آبی.....	۲
۳-۱ میکروامولسیون.....	۳
۱-۳-۱ سورفکتانت‌ها و کوسورفکتانت‌ها در میکروامولسیون‌ها.....	۴
۱-۱-۳-۱ سورفکتانت‌ها.....	۴
۱-۱-۳-۱ انواع سورفکتانت‌ها.....	۷
۱-۱-۳-۱-۱ سورفکتانت‌های آنیونی.....	۷
۱-۱-۳-۱-۱-ب سورفکتانت‌های کاتیونی.....	۷
۱-۱-۳-۱-۱-ج سورفکتانت‌های غیر یونی.....	۸
۱-۱-۳-۱-۱-د سورفکتانت‌های زوج یونی.....	۹
۲-۱-۳-۱ کوسورفکتانت.....	۹
۳-۱-۳-۱ معرفی سورفکتانت مورد مطالعه در این تحقیق.....	۹
۳-۱-۳-۱ AOT.....	۹
۲-۳-۱ انواع میسل.....	۱۱
۱-۲-۳-۱ میسل‌های معکوس.....	۱۱
۲-۳-۱-ب میسل‌های معمولی.....	۱۲
۳-۳-۱ انواع میکروامولسیون.....	۱۲
۱-۳-۳-۱ میکروامولسیون‌های آب در روغن (W/O).....	۱۲
۲-۳-۳-۱ میکروامولسیون‌های روغن در آب (O/W).....	۱۳
۳-۳-۱-ج میکروامولسیون‌های پیوسته.....	۱۴
۴-۳-۱ طبقه بندی وینسوری فازها.....	۱۵
۵-۳-۱ کاربردهای میکروامولسیون.....	۱۸

فصل دوم: بخش تجربی

۱-۲ نام و مشخصات مواد شیمیایی.....	۳۸
۲-۲ تجهیزات مورد استفاده.....	۳۸
۳-۲ تهیه سیستم‌های دوفازی.....	۳۹
۱-۳-۲ تهیه فاز آبی از آمینواسید.....	۳۹
۳-۲-ب تهیه فاز آبی از پروتئین.....	۳۹
۳-۲-ج تهیه فاز آلی.....	۳۹
۳-۲-د تهیه بافر.....	۴۰
۴-۲ روش آنالیز نمونه‌ها.....	۴۰
۱-۴-۲ تعیین غلظت آمینواسید و پروتئین.....	۴۰
۴-۲-ب تعیین درصد خطای روش.....	۴۳
۴-۲-ج تعیین درصد سورفکتانت در هر دو فاز.....	۴۴

فصل سوم: بحث و نتیجه گیری

۱-۳ نتایج بررسی اثر غلظت سورفکتانت AOT و pH بر روی ضریب توزیع.....	۴۶
۱-۳-۱ نتایج بررسی اثر غلظت سورفکتانت AOT و pH بر روی ضریب توزیع آمینواسیدها.....	۴۶
۱-۳-۲ نتایج بررسی اثر غلظت سورفکتانت AOT و pH بر روی ضریب توزیع زئین.....	۵۲
۲-۳ بحث و نتیجه گیری.....	۵۵
۱-۲-۳ بررسی نتایج مربوط به آمینواسیدها.....	۵۶
۱-۲-۳-۱ موقعیت آمینواسیدها در میسل‌های معکوس.....	۵۶
۱-۲-۳-۲ نیروهای محرکه رفتن آمینواسید در میسل‌های معکوس.....	۵۷
۱-۲-۳-۳ مکانیسم انتقال آمینواسید و پروتئین از طریق میسل‌های معکوس در استخراج مایع-مایع.....	۵۸
۱-۲-۳-۴ اثر زنجیره جانبی و آب‌گریزی آمینواسیدها بر ضریب توزیع.....	۶۰

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۶۱	۳-۲-۱-۵ اثر pH بر روی ضریب توزیع آمینواسیدها.....
۶۳	۳-۲-۱-۶ اثر غلظت سورفکتانت بر ضریب توزیع آمینواسیدها.....
۶۴	۳-۲-۲ مقایسه نتایج مربوط به استخراج L-تریپتوفان، L-فنیل آلانین و L-تیروزین.....
۶۵	۳-۲-۳ بررسی نتایج مربوط به پروتئین.....
۶۵	۳-۲-۳-۱ اثر pH بر ضریب توزیع زئین.....
۶۶	۳-۲-۳-۲ اثر غلظت سورفکتانت بر ضریب توزیع زئین.....

پیشنهادات

فهرست منابع

فصل اول: مقدمه و تئوری

- شکل ۱-۱- دیاگرام نمادین فرایند استخراج..... ۲
- شکل ۲-۱- ساختار مولکول سورفکتانت..... ۵
- شکل ۳-۱- جذب سطحی مولکول‌های سورفکتانت در سطح مشترک آب/روغن..... ۶
- شکل ۴-۱- میسل سورفکتانت کروی..... ۶
- شکل ۵-۱- سورفکتانت CTAB..... ۸
- شکل ۶-۱- نمک پیریدین..... ۸
- شکل ۷-۱- ساختار AOT..... ۱۰
- شکل ۸-۱- یک نوع ساختار میسل معکوس..... ۱۱
- شکل ۹-۱- میکروامولسیون آب در روغن..... ۱۳
- شکل ۱۰-۱- میکروامولسیون روغن در آب..... ۱۴
- شکل ۱۱-۱- تصویر سه بعدی ساختار پیوسته..... ۱۵
- شکل ۱۲-۱- انواع سیستم‌های وینسوری..... ۱۶
- شکل ۱۳-۱- ساختار آمینواسیدهای رایج در طبیعت..... ۲۱

فصل دوم: بخش تجربی

- شکل ۱-۲- نمایی از دستگاه اسپکتروسکوپی UV-Vis..... ۴۰
- شکل ۲-۲- نمودار جذب بر حسب غلظت برای تریپتوفان در $\lambda_{max}=268$ و $pH=4/8$ ۴۱
- شکل ۳-۲- نمودار جذب بر حسب غلظت برای تریپتوفان در $\lambda_{max}=257/5$ و $pH=4/8$ ۴۱
- شکل ۴-۲- نمودار جذب بر حسب غلظت برای فنیل آلانین در $\lambda_{max}=274/5$ و $pH=4/8$ ۴۲
- شکل ۵-۲- نمودار جذب بر حسب غلظت برای زئین در $\lambda_{max}=192$ و $pH=4/8$ ۴۲
- شکل ۶-۲- طیف‌های UV-Vis آمینواسیدهای L- تریپتوفان، L- فنیل آلانین و L- تیروزین..... ۴۳

فصل سوم: بحث و نتیجه گیری

- شکل ۱-۳- تغییر درصد استخراج تریپتوفان نسبت به غلظت AOT و pHهای متفاوت..... ۵۴

- شکل ۳-۲- تغییر درصد استخراج فنیل آلانین نسبت به غلظت AOT و pH های متفاوت ۵۴
- شکل ۳-۳- تغییر درصد استخراج تیروزین نسبت به غلظت AOT و pH های متفاوت ۵۵
- شکل ۳-۴- تغییر درصد استخراج زئین نسبت به غلظت AOT و pH های متفاوت ۵۵
- شکل ۳-۵- نمایش شماتیکی از مکانیسم انحلال پروتئین در فاز میسلی از فاز آبی ۵۹
- شکل ۳-۶- ترتیب آب‌گریزی آمینواسیدها ۶۱
- شکل ۳-۷- اثر pH بر روی ضریب توزیع تریپتوفان در غلظت‌های مختلف سورفکتانت ۶۲
- شکل ۳-۸- اثر pH بر روی ضریب توزیع فنیل آلانین در غلظت‌های مختلف سورفکتانت ۶۲
- شکل ۳-۹- اثر pH بر روی ضریب توزیع تیروزین در غلظت‌های مختلف سورفکتانت ۶۲
- شکل ۳-۱۰- اثر غلظت سورفکتانت بر روی ضریب توزیع تریپتوفان در pH های متفاوت ۶۳
- شکل ۳-۱۱- اثر غلظت سورفکتانت بر روی ضریب توزیع فنیل آلانین در pH های متفاوت ۶۴
- شکل ۳-۱۲- اثر غلظت سورفکتانت بر روی ضریب توزیع تیروزین در pH های متفاوت ۶۴
- شکل ۳-۱۳- اثر pH بر روی ضریب توزیع زئین در غلظت‌های مختلف سورفکتانت ۶۵
- شکل ۳-۱۴- اثر غلظت سورفکتانت بر روی ضریب توزیع زئین در pH های متفاوت ۶۶

فصل اول: مقدمه و تئوری

- جدول ۱-۱- مشخصات سورفکتانت ۱۰
- جدول ۱-۲- اثر کیفی متغیرهای مختلف روی رفتار فاز سورفکتانت‌های آنیونی ۱۷
- جدول ۱-۳- اثر کیفی متغیرهای مختلف روی رفتار فاز سورفکتانت‌های غیر یونی ۱۷
- جدول ۱-۴- برخی ویژگی‌های آمینواسیدهای L- تریپتوفان، L- فنیل آلانین و L- تیروزین ۲۴

فصل سوم: بحث و نتیجه گیری

- جدول ۳-۱- مقادیر غلظت آمینواسید استخراج یافته در فازهای بالا و پایین در $pH=4/8$ ۴۷
- جدول ۳-۲- مقادیر غلظت آمینواسید استخراج یافته در فازهای بالا و پایین در $pH=5/3$ ۴۸
- جدول ۳-۳- مقادیر غلظت آمینواسید استخراج یافته در فازهای بالا و پایین در $pH=6$ ۴۹
- جدول ۳-۴- مقادیر غلظت آمینواسید استخراج یافته در فازهای بالا و پایین در $pH=7$ ۵۰
- جدول ۳-۵- مقادیر غلظت آمینواسید استخراج یافته در فازهای بالا و پایین در $pH=8$ ۵۱
- جدول ۳-۶- مقادیر غلظت زئین استخراج یافته ($\mu g/mL$) در فازهای بالا و پایین
- در pH های مختلف ۵۳

فصل اول

مقدمه و تئوری

۱-۱- تاریخچه

پیشرفت در علم بیوشیمی مستلزم توسعه در روش‌های جداسازی، استخراج و خالص سازی می‌باشد. در مخلوط‌هایی با تعداد زیادی از اجزای سلولی، هیچ روشی به تنهایی قادر به حل مساله جداسازی نیست.

یکی از روش‌هایی که امروزه به طور گسترده جهت استخراج و جداسازی بیومولکول‌ها بکار می‌رود، استخراج توسط سیستم‌های دوفازی می‌باشد که با علامت اختصاری ATPS^۱ نشان داده می‌شود. اولین بار جداسازی توسط این سیستم‌ها توسط شخصی به نام بیجرینک^۲ در سال ۱۸۹۶ مطرح شد. او مشاهده کرد وقتی محلول‌های آبی آگار و ژلاتین با هم مخلوط می‌شوند یک سیستم دوفازی تشکیل می‌شود که فاز زیرین حاوی آگار و فاز فوقانی بیشتر محتوی ژلاتین است [۱]. نیم قرن بعد، در سال ۱۹۵۸ آلبرتسون^۳ برای اهداف استخراجی از این سیستم‌ها استفاده کاربردی کرد [۲].

در یک تحقیق سیستماتیک دوبروی^۴ و بایر-کاونوکی^۵ در سال ۱۹۷۴، توانایی حلالیت تعداد زیادی از زوج‌های پلیمری مختلف محلول در حلال آلی را مطالعه کردند. چندین آزمایش روی محلول‌های آبی پلیمری در شرایط یکسان توسط دوبروی صورت گرفت [۱].

مقالات بسیاری در مورد خالص سازی و جداسازی پروتئین‌ها با استفاده از سیستم‌های دوفازی آبی منتشر شده است. از توزیع ATPS برای خالص سازی جزئی گلوکز-۶-فسفات دهیدروژناز [۳]، استخراج لیپاز از سبوس برنج [۴]، استخراج و خالص سازی پراکسیداز گیاهی [۵] استفاده شده است. هم چنین برای استخراج پروتئین‌ها از میکروارگانیسم‌ها و حیوانات از این سیستم‌ها سود جسته اند [۶].

1- Aqueous Two Phase System

2- Beijerinck

3- Alberts

4- Dobry

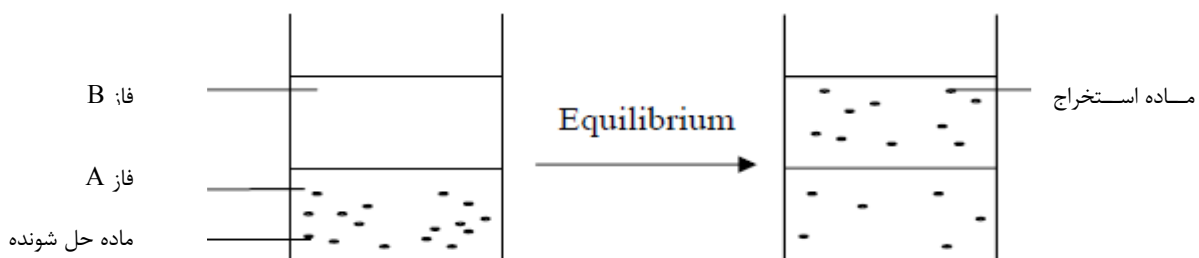
5- Boyer-Kawenoki

۲-۱- جداسازی توسط سیستم های دو فازی آبی (ATPS)

استفاده از تکنولوژی جداسازی دوفازی آبی در خالص سازی و شناسایی پروتئینها بسیار مطالعه شده است. چون که دو فاز، هر دو محلولهای آبی با محتوی زیاد آب (۷۰٪-۹۰٪) می باشند، بنابراین هر دو فاز باعث پایداری پروتئین می گردند. به علاوه به عنوان یک مرحله جداسازی اولیه، سیستمهای ATP توانایی استخراج، خالص سازی و جداسازی در یک مرحله مجزا را دارند.

در این روش از یک فاز آبی هموژن با افزودن یک یا چند ترکیب، دو فاز مایع حاصل می شود. این مواد افزودنی می تواند شامل دو نوع از پلیمرهای هیدروفیل مانند پلی اتیلن گلیکول و دکستران، یا اختلاط یک پلیمر و نمک معدنی مانند پلی اتیلن گلیکول و پتاسیم فسفات، یا اختلاط سورفکتانت^۱ و یک نمک معدنی مانند دودسیل آمونیوم کلرید و کلرید سدیم، و یا مایعات یونی باشد.

جداسازی توسط استخراج مایع-مایع، انتقال یک ماده حل شونده از یک فاز به فاز دیگر را شامل می شود. دو فاز در یکدیگر امتزاج ناپذیرند و معمولا از یک فاز آبی و یک فاز آلی ساخته می شوند. دیاگرام نمادین یک فرایند استخراج در شکل ۱-۱ نشان داده شده است. فاز A، شامل ماده حل شونده، در تماس با فاز B می باشد. جداسدن ماده حل شونده در فاز B تا زمانیکه تعادل فرا برسد رخ میدهد. ماده حل شونده باید توانایی تفکیک بالا در فاز B را داشته باشد بنابراین در پایان فرایند استخراج، بیشتر ماده حل شونده به فاز B انتقال خواهد یافت.



شکل ۱-۱- دیاگرام نمادین فرایند استخراج

فرایندهای استخراج مایع - مایع تنها در جداسازی مواد انحلال پذیری که می توانند در هر دو فاز امتزاج ناپذیر انتخاب شده انحلال یابند کاربرد دارد. انواع بسیاری از مواد حل شونده مثل بیومواد،

^۱- Surfactant

اینگونه نیستند و یکی از آنها آمینواسید است. آمینواسیدها در فاز آبی انحلال پذیر اما در فاز آلی انحلال ناپذیرند. یک راه حل، برای رفع این مشکل، استفاده از یک حامل است، که در فاز آبی انحلال ناپذیر است، و می‌تواند در انحلال آمینواسیدها در فاز آلی کمک کند. یکی از این حامل‌ها میسل‌های معکوس است. میسل‌های معکوس از مولکول‌های سورفکتانت ساخته شده‌اند و یک مرکز داخلی قطبی که شامل یک حوضچه آب که قادر به دام انداختن بیومواد است را دارد.

نکته حایز اهمیت در بسیاری از سیستم‌های دو فازی تشکیل شده توسط سورفکتانت‌ها این است که یک فاز غالباً غنی از آب است و اغلب ماهیت آنیزوتروپیک و مایع کریستالی دارد، که توسط تیدی^۱ در سال ۱۹۸۰ مورد بررسی قرار گرفته است. [۷]

تاکنون چهار نوع از سیستم‌های دو فازی آبی مورد استفاده قرار گرفته‌اند که عبارت هستند از سیستم‌های دو فازی بر مبنای پلیمر- پلیمر، نمک- پلیمر، سورفکتانت و بر مبنای مایعات یونی. در این مطالعه از سیستم‌های دو فازی شامل سورفکتانت‌ها بعلت هزینه کم و زمان جداسازی کوتاه برای جدایی فازها استفاده شده است.

۱-۳- میکروامولسیون‌ها:

واژه میکروامولسیون برای اولین بار توسط شالمن^۲ و همکارانش در سال ۱۹۵۹ پیشنهاد شد [۸]. آنها یک محلول چهارتایی از آب، بنزن، هگزانول و k -اولئات که پایدار، همگن و کمی کدر بود را آماده کردند. این سیستم‌ها به محض اینکه الکل با زنجیره کوتاه اضافه شود شفاف می‌شوند. در سالهای بین ۱۹۶۵_۱۹۴۳ شالمن و همکارانش چگونگی آماده کردن این سیستم‌های شفاف را شرح دادند. اکثر کار گزارش شده توسط شالمن با سیستم‌های چهار جزئی سروکار دارد: هیدروکربن‌ها (آلیفاتیک یا آروماتیک)، سورفکتانت‌های یونی، کوسورفکتانت^۳‌ها (معمولاً الکل آلیفاتیک با زنجیره ۸-۴ کربن) و یک فاز آبی. شالمن پیشنهاد کرد زمانیکه سورفکتانت و کوسورفکتانت، بطور صحیح انتخاب شوند، یک

¹ - Tiddy

² - Shulman

³ - Co-Surfactant

فیلم نازک مخلوط در سطح مشترک روغن/آب تشکیل می‌شود. معلوم شد که این سیستم‌ها از ریز قطره‌هایی با قطر بین ۸۰۰۰-۶۰۰ نانومتر ساخته می‌شوند. در سال ۱۹۵۹، شالمن پیشنهاد کرد که این سیستم‌ها میکروامولسیون‌ها نامیده شوند. قبلا او از اصطلاحاتی از قبیل پراکندگی شفاف آب و روغن، هیدرومیسسل‌های اولئوپاتیک^۱ یا اولئومیسسل‌های هیدروپاتیک^۲ استفاده می‌کرد. از آن به بعد، میکروامولسیون‌ها در محدوده وسیعی از کاربردها، از بازیافت روغن تا سنتز نانوذرات، تحت گزارشی از چابرا^۳ و همکارانش در سال ۱۹۹۷ بنیاد نهاده شد [۹]. میکروامولسیون‌ها ایزوتروپیک^۴، بطور ماکروسکوپی همگن، و محلول‌های پایدار ترمودینامیکی شامل حداقل سه ترکیب، که فاز قطبی (معمولا آب)، فاز غیر قطبی (معمولا روغن) و سورفکتانت نامیده می‌شود می‌باشند. در یک سطح میکروسکوپی مولکول‌های سورفکتانت یک لایه نازک سطحی بین دو فاز قطبی و غیر قطبی را تشکیل می‌دهند. این لایه می‌تواند به عنوان نانوراکتورها برای سنتز نانوذرات با یک پراکندگی کم استفاده شود.

۱-۳-۱- سورفکتانت‌ها و کوسورفکتانت‌ها در میکروامولسیون‌ها

۱-۳-۱-۱- سورفکتانت‌ها

سورفکتانت‌ها موادی هستند که کشش سطحی بین دو مایع امتزاج ناپذیر را با قرار گرفتن (جذب) در سطح مشترک کاهش می‌دهند. سورفکتانت‌ها یا مواد فعال سطحی^۵ معمولا ترکیبات آلی آمفیفیلیک هستند و دارای زنجیره آب‌گریز^۶ و گروه سر آب دوست^۷ می‌باشد [۱۰]. دنباله هیدروفوبیک معمولا یک زنجیره طولانی هیدروکربنی و سر هیدروفیلیک یک گروه آنیونی یا خیلی قطبی است. چنین ساختار دوگانه‌ای را آمفی پاتیک^۱ می‌نامند. به عبارت دیگر، مولکول

¹ - Oleopathic Hydromicelles

² - Hydropathic Oleomicelles

³ - Chhabra

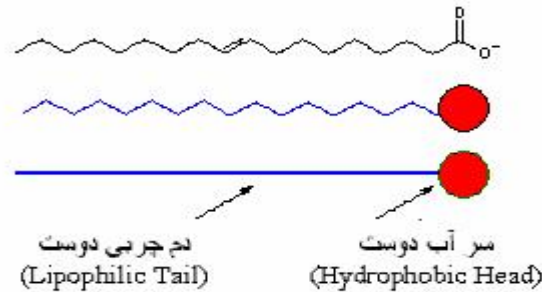
⁴ - Isotropic

⁵ - Surface Active Agent (surfactant)

⁶ - Lypophobic

⁷ - Lypophilic

سورفکتانت شامل حداقل یک گروه غیرقطبی و یک گروه قطبی یا یونی می‌باشد که ساختار آن در شکل ۱-۲ نمایش داده شده است.



شکل ۱-۲- ساختار مولکول سورفکتانت

وجود این نیروهای مخالف درون مولکول سورفکتانت و ساختار آمفیپاتیک منحصربفرد سورفکتانت‌ها منجر به دو پدیده جذب سطحی و تجمع می‌گردد:

(a) جذب سطحی، که تمایل یک مولکول سورفکتانت به جمع آوری در سطح مشترک است. خواص جذب سطحی سورفکتانت‌ها به این معنی است که مولکول‌ها معمولاً در سطح مشترک بین فازهای روغن و آب به همراه گروه‌های سر هیدروفیلیک در فاز آب و دنباله‌های هیدروفوبیک در فاز روغن یافت می‌شوند شکل ۱-۳.

(b) تجمع، مخصوص سورفکتانت‌هایی است که خودشان را در ساختارهای سازمان یافته‌ایی در محلول‌های آبی مرتب می‌کنند که غلظت خاصی بدست می‌آید، و معمولاً به غلظت میسل‌ی بحرانی (CMC) اشاره می‌کند [۱۱]. در غلظت‌های پایین مولکول‌های سورفکتانت در آب حل می‌شوند اما بعضی مولکول‌ها در سطح مشترک هوا / محلول و بر دیوارهای شامل مخزن جذب خواهند شد. هنگامیکه غلظت افزایش می‌یابد، سطح مشترک با یک تک لایه از مولکول‌های سورفکتانت پوشیده می‌شود. افزایش بیشتر در غلظت سبب می‌شود فرایند انحلال متوقف شود و مولکول‌ها در محلول شروع به توده‌ایی شدن در میسل‌های سازمان