

УДК 541.64:539.2:547.458

ПРОЯВЛЕНИЕ НАДМОЛЕКУЛЯРНОГО ЭФФЕКТА В РЕАКЦИИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА НАТРИЕВОЙ СОЛИ КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ

© 2023 г. В. В. Чернова^{а,*}, Р. Ю. Лаздин^а, Е. И. Кулиш^а

^аБашкирский государственный университет
450076 Уфа, ул. Заки Валиди, 32, Россия

*e-mail: my_life82@mail.ru

Поступила в редакцию 28.10.2022 г.

После доработки 29.11.2022 г.

Принята к публикации 27.12.2022 г.

Изучено проявление надмолекулярного эффекта в реакциях ферментативного гидролиза натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы. Факт протекания ферментативного гидролиза под действием неспецифического фермента гиалуронидазы доказан методом определения восстанавливающих сахаров. Для регулирования надмолекулярной структуры полимера в растворе выбран подход, заключающийся в использовании соразстворителей (модификаторов), в качестве которых был выбран ряд спиртов (этанол, пропиленгликоль и глицерин). Установлено, что при повышении концентрации полимера в растворе более 0.3 г/дл скорость процесса ферментативного гидролиза практически перестает увеличиваться с ростом концентрации. Это связано с диффузионными затруднениями при взаимодействии полимера с ферментом, вследствие имеющих место увеличения степени агрегации макромолекул в растворе и формирования сетки зацеплений. Присутствие в растворе модификаторов приводит к уменьшению скорости ферментативного гидролиза. Причина понижения скорости связана с несколькими факторами: во-первых, с уменьшением размеров надмолекулярного клубка и более ранним формированием сетки зацеплений, и вызванного этим уменьшением доступности звеньев полимера для взаимодействия с ферментом. Во-вторых, модифицирующие добавки понижают общую β -гликозидазную активность гиалуронидазы. Установлено, что закономерности ферментативного гидролиза в растворе сохраняются и при переходе к пленочным образцам.

DOI: 10.31857/S2308113923700377, EDN: PIULVN

ВВЕДЕНИЕ

К настоящему времени хорошо известно влияние конформационной и надмолекулярной структуры полимеров на скорость протекания тех или иных химических реакций [1], например процессов термической [2, 3], окислительной [4, 5] и ферментативной деструкции полимеров в растворе [6–9].

Получаемые из растворов материалы характеризуются значительной склонностью к образованию неравновесных структур [10, 11], вследствие чего свойства и структура формируемых из растворов пленочных покрытий характеризуются зависимостью от ряда факторов как со стороны используемого растворителя (скорость его удаления, термодинамическое качество, природа и т.д.), так и полимера (молекулярная масса, степень кристалличности, концентрация в исходном растворе и т.д.) [12–16].

Спектр находящихся в растворе надмолекулярных образований обусловлен совокупностью

взаимодействия звеньев полимера друг с другом и с растворителем. Фактически в процессе получения полимерного материала из раствора происходит последовательное изменение надмолекулярной структуры, обусловленное постепенным переходом через ряд концентрационных режимов полимера в растворе по мере удаления растворителя, и связанное с этим превращение дискретных агрегатов макромолекул в растворе в бесконечный кластер [18].

В результате появляется возможность целенаправленно использовать отклик в скорости протекания химических реакций на надмолекулярное состояние полимера, например, ферментативной устойчивости полимерных материалов. Ранее в работах [19–21], посвященных изучению гидролиза хитозана как полимерной основы раневых покрытий [22, 23], была выявлена необходимость повышения его устойчивости к действию ферментов. Данная проблема может быть с успехом решена варьированием надмолекулярной структуры полимера в растворе, например за

счет введения низкомолекулярных электролитов или коллоидных частиц [21, 24, 25], приводящим к изменению доступности звеньев полимера для взаимодействия с ферментом. При этом, как показано в работе [26], выявленные закономерности ферментативного гидролиза, протекающего в гомогенной среде, сохраняются и для твердых пленочных материалов.

Настоящая работа посвящена изучению проявления надмолекулярного эффекта в реакциях ферментативного гидролиза другого полисахарида – натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ). Выбор полимера обусловлен широким применением целлюлозы и ее производных в различных областях медицины как вспомогательного ингредиента в таблетированных лекарственных препаратах, так и в качестве связующей и стабилизирующей основы мазей и гелей [27].

Для регулирования надмолекулярной структуры Na-КМЦ в растворе выбран подход, заключающийся в использовании соразтворителей (модификаторов), в качестве которых использовали ряд спиртов (этанол, пропиленгликоль и глицерин). Ранее для них на примере растворов хитозана и натриевой соли сукцинамида хитозана было выявлено их существенное влияние на конформационное и надмолекулярное состояние полимеров в растворе [28–31]. Поскольку структуры, формирующиеся при взаимодействии полимера и растворителя остаются после удаления растворителей в метастабильных состояниях в твердой фазе, можно ожидать, что наличие соразтворителя (модификатора) повлияет на свойства и структуру формирующихся из раствора пленок.

Таким образом, цель настоящей работы – изучение влияния модифицирующих добавок на конформационное и надмолекулярное состояние Na-КМЦ и процесс ферментативного гидролиза данного полимера в растворе и в пленках.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы, со степенью замещения $\gamma = 80\%$ и $M_w = 2.5 \times 10^6$ марки Blanose СМС 7 МФРН производства “Ashland Inc.” (Франция). Растворителем служила дистиллированная вода. Растворы Na-КМЦ в смешанном растворителе готовили при объемном соотношении вода : соразтворитель равном 90 : 10, 80 : 20 и 70 : 30. В качестве соразтворителей использовали этанол, пропиленгликоль и глицерин.

Ферментом служила гиалуронидаза (торговое название “Лираза” производства Закрытого акционерного общества “Микроген”, Москва). Этот фермент относится к β -гликозидазам, присутствующим на раневой поверхности организма человека. В работах [26, 32] было выявлено ее не-

специфическое действие на такие полисахариды как хитозан и натриевую соль сукцинамида хитозана, также была разработана методика эксперимента. Концентрация ферментного препарата при проведении процесса гидролиза составляла 1 г/л. Ферментный препарат вносили в раствор полимера, после чего выдерживали в течение определенного времени. О протекании процесса судили по накоплению концентрации восстанавливающих сахаров [33]. Начальную скорость гидролиза определяли как тангенс угла наклона зависимости концентрации восстанавливающих сахаров от времени t при $t \rightarrow 0$. Ферментативный гидролиз останавливали путем выдерживания колбы с раствором полимера в кипящей воде в течение 10 мин. Общую β -гликозидазную активность гиалуронидазы определяли согласно работе [34].

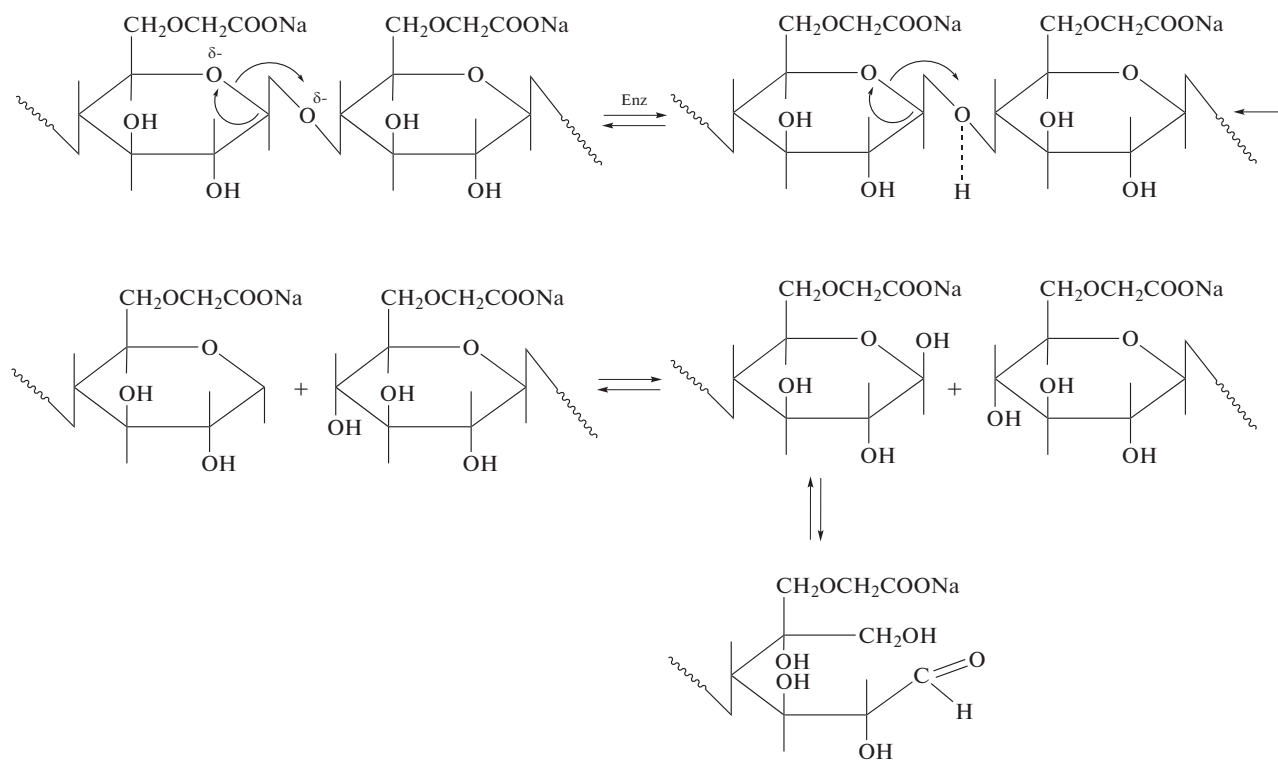
Пленки формировали в чашке Петри методом полива раствора полимера на поверхность стекла. Для проведения ферментативной деструкции пленочный образец помещали на подложку, смоченную раствором ферментного препарата, выдерживали в течение определенного времени в термостатируемых условиях. Как и в случае раствора полимера, протекание ферментативной деструкции останавливали путем выдерживания бюкса с пленочным образцом в кипящей воде в течение 10 мин. Затем готовили раствор заданной концентрации и находили концентрацию восстанавливающих сахаров по методике [34].

Характеристическую вязкость определяли с помощью вискозиметра Убеллоде при температуре $25 \pm 1^\circ\text{C}$ и рассчитывали, используя метод Баранова [35]. Степень структурирования раствора δ оценивали по тангенсу угла наклона экспериментальных зависимостей удельной вязкости растворов Na-КМЦ от концентрации полимера в растворе в логарифмических координатах [36].

Реологические измерения водных растворов Na-КМЦ проводили на модульном динамическом реометре “Haake Mars III” при 25°C в осцилляционном режиме (с определением комплексной вязкости) и в режиме непрерывного сдвигового деформирования (с определением динамической вязкости).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Факт ферментативного гидролиза Na-КМЦ можно подтвердить прямым определением количества восстанавливающих сахаров, образующихся на концах макромолекул полисахаридов при разрыве гликозидной связи:



Возможность применения данного метода для процессов ферментативного гидролиза полисахаридов была доказана в работе [33].

Выдерживание растворов Na-КМЦ в воде в отсутствие фермента даже в течение длительного времени не сопровождается каким-либо изменением концентрации восстанавливающих сахаров. Напротив, в присутствии ферментного препарата концентрация восстанавливающих сахаров закономерно увеличивается (рис. 1, кривые 2–5). Представленные на рис. 1 кинетические кривые процесса ферментативного гидролиза Na-КМЦ имеют типичный для ферментативных реакций вид – резкое повышение концентрации восстанавливающих сахаров в начальный период времени, соответствующий более быстрому процессу гидролиза, сменяется более пологим участком. При этом обращает на себя внимание тот факт, что начальная скорость и глубина протекания реакции определяется не только временем контакта с ферментом, но и концентрацией полимера в растворе.

На рис. 2 приведена зависимость скорости накопления восстанавливающих сахаров в присутствии ферментного препарата, определенная на начальном участке кинетической кривой, от концентрации Na-КМЦ в растворе. Видно (кривая 1), что после достижения концентрации полимера в растворе ≈ 0.3 г/дл, скорость процесса практически перестает увеличиваться с ростом концентрации. Это, по всей видимости, может быть связано с возникающими диффузионными за-

труднениями для взаимодействия полимера с ферментом. Причиной может служить повышение степени структурированности (агрегации) макромолекул в растворе при повышении концентрации полимера. На то, что степень агрегации полимера в растворе δ увеличивается, указывают результаты вискозиметрических измерений (табл. 1). Из данных, представленных в табл. 1 следует, что если раствор Na-КМЦ в интервале концентраций 0.02–0.05 г/дл представляет собой истинный раствор не взаимодействующих между собой макромолекул (о чем свидетельствует значение показателя $\delta = 1$), то в интервале концентраций 0.1–0.3 г/дл раствор Na-КМЦ в воде представляет собой структурированную жидкость ($\delta > 1$).

На это же указывают и данные реологических измерений. Разбавленный раствор Na-КМЦ ведет себя как типичная ньютоновская жидкость, вязкость которой не зависит от скорости сдвига (рис. 3а, кривая 1) или частоты осцилляции (рис. 3б, кривая 1). Полуразбавленный, а тем более концентрированный раствор полимера, представляет собой псевдопластичную жидкость, в которой вязкость уменьшается с увеличением частоты осцилляции или скорости сдвига (рис. 3, кривые 2).

При этом концентрация, соответствующая началу формирования флуктуационной сетки зацеплений c_e , определяемая по началу резкого роста вязкости при повышении концентрации полимера в растворе, составляет ≈ 0.3 г/дл (рис. 4,

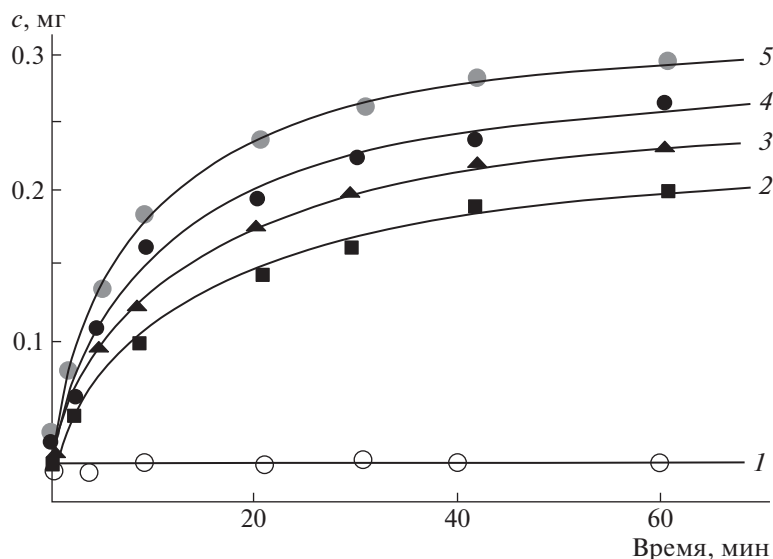


Рис. 1. Зависимость количества восстанавливающих сахаров, содержащихся в 0.1 мл раствора Na-КМЦ с концентрацией 0.1 (1, 2), 0.2 (3), 0.3 (4) и 1.0 г/дл (5) от времени выдержки раствора в отсутствие (1) и присутствии (2–5) ферментного препарата.

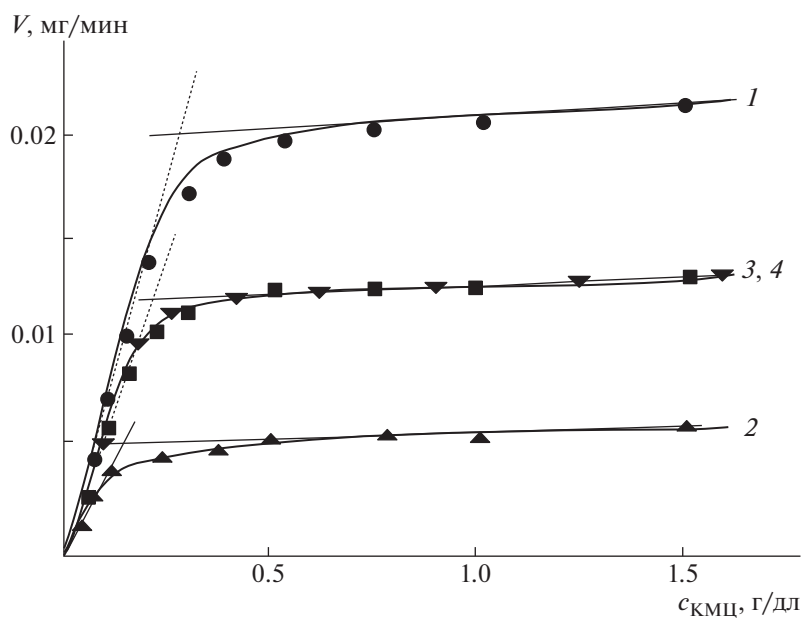


Рис. 2. Зависимость от содержания Na-КМЦ в растворе скорости накопления восстанавливающих сахаров, содержащихся в 0.1 мл раствора Na-КМЦ в воде (1) и в присутствии добавки этанола (2), пропиленгликоля (3) и глицерина (4) в объемном соотношении вода : добавка 80 : 20.

кривая 1). Интересно, что данная концентрация коррелирует с той, при которой наблюдался перегиб на кривой зависимости скорости ферментативного гидролиза от концентрации полимера в растворе (рис. 2, кривая 1). По всей вероятности, образование агрегатов из макромолекул Na-КМЦ, неизбежно имеющее место при повышении концентрации полимера, приводит к умень-

шению доступности звеньев полимера для взаимодействия с ферментом. Очевидно, что фермент взаимодействует только со звеньями на поверхности макромолекулярных клубков и их агрегатов.

Наличие модифицирующих добавок (соразтворителей) в растворе приводит к изменениям в конформационном и надмолекулярном состоя-

Таблица 1. Данные вискозиметрических измерений растворов Na-КМЦ

Добавка	Объемное соотношение вода : добавка	Значение показателя δ в диапазоне концентраций		$[\eta]$, дл/г
		0.01–0.05 г/дл	0.1–0.2 г/дл	
Без добавки	100 : 0	1.00	1.20	28.1
Этанол	90 : 10	1.07	1.24	22.5
	80 : 20	1.12	1.25	22.3
	70 : 30	1.22	1.27	22.1
Пропиленгликоль	90 : 10	1.02	1.21	26.5
	80 : 20	1.02	1.22	26.4
	70 : 30	1.04	1.22	26.2
Глицерин	90 : 10	1.01	1.20	27.8
	80 : 20	1.01	1.22	27.5
	70 : 30	1.02	1.22	27.1

нии Na-КМЦ. О том, что макромолекулы полимера в присутствии добавок имеют иную, чем в воде, конформацию, свидетельствуют значения характеристической вязкости. Так, из данных табл. 1 видно, что последовательная замена воды на модифицирующую добавку вызывает закономерное уменьшение значений характеристической вязкости. Из сравнений значений следует, что к наиболее существенному уменьшению значений характеристической вязкости полимера приводит введение этанола, поскольку именно он из трех изучаемых добавок вызывает выделение фазы Na-КМЦ из раствора. В случае использования глицерина и пропиленгликоля размер клубка уменьшается не столь значительно. Снижение характеристической вязкости с ухудшени-

ем качества растворителя обусловлено сжатием макромолекулярных клубков. При этом наблюдается не только изменение конформации макромолекул, но и степени структурированности полимера в растворе. В том диапазоне концентраций, в которой макромолекулы Na-КМЦ были не агрегированы при использовании в качестве растворителя воды, в присутствии модифицирующих добавок растворы Na-КМЦ представляют собой структурированные жидкости (даже формально в разбавленной области). При переходе в область более высоких концентраций характеристическая вязкость с ухудшением качества растворителя уменьшается, а динамическая (комплексная) вязкость полуразбавленных и концентрированных растворов увеличивается.

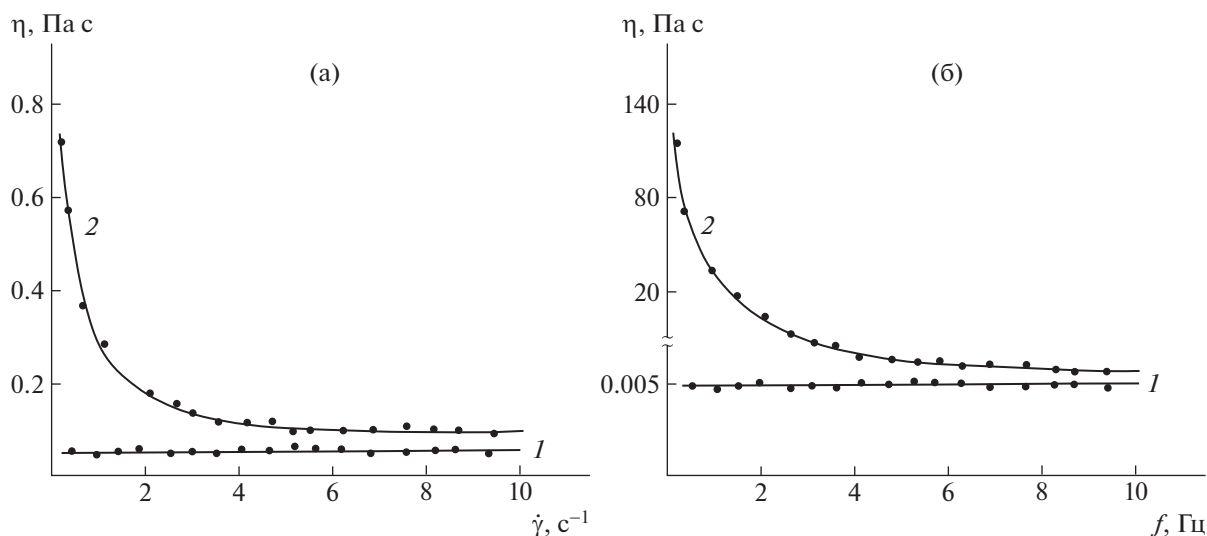


Рис. 3. Зависимости динамической (а) и комплексной (б) вязкости раствора Na-КМЦ от скорости сдвига (а) и частоты осцилляции (б). Концентрация Na-КМЦ: а – 0.05 (1) и 0.6 г/дл (2), б – 0.1 (1) и 5 г/дл (2).

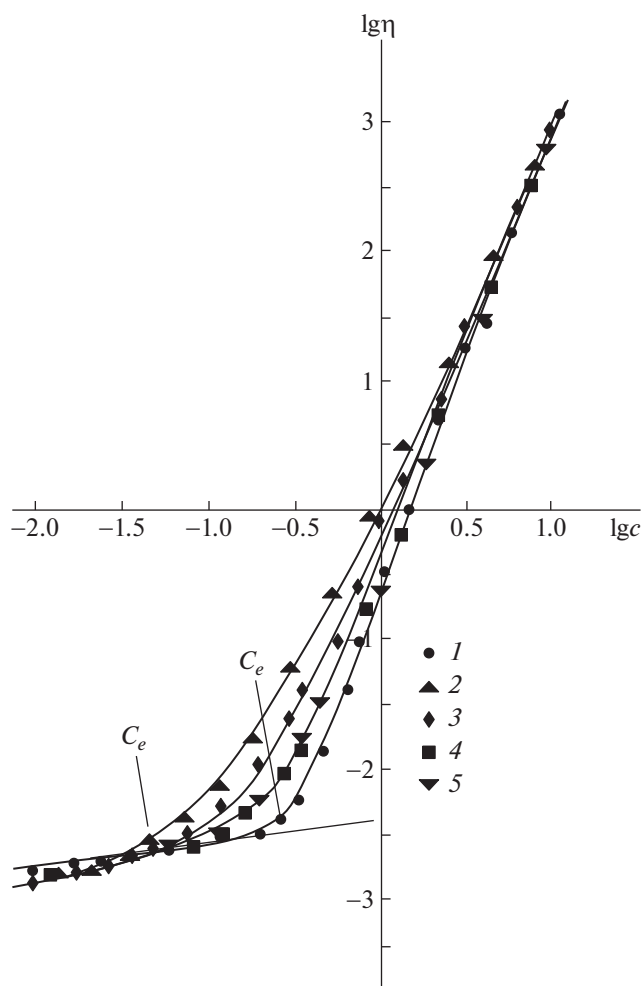


Рис. 4. Зависимость от содержания Na-КМЦ в растворе комплексной вязкости растворов Na-КМЦ, определенной при частоте осцилляции 1 Гц, в воде (1) и в присутствии добавки этанола (2, 3), пропиленгликоля (4) и глицерина (5) в объемном соотношении вода : добавка 80 : 20 (2, 4, 5) и 90 : 10 (3).

Более того, как видно из сравнений кривых 1 и 2–5 рис. 4, присутствие соразтворителей в растворе способствует тому, что резкий рост вязкости, связанный с формированием сетки зацеплений, начинается при меньших концентрациях Na-КМЦ, чем в их отсутствие. Так, в присутствии этанола концентрация c_e снижается практически на порядок. Важно то, что формирование сетки зацеплений, вызывающее уменьшение доступности звеньев полимера для взаимодействия с ферментом, сказывается на значении скорости ферментативного гидролиза. Как видно из сравнения кривых рис. 2, наличие модифицирующих добавок в растворе приводит к тому, что значение концентрации Na-КМЦ, при которой скорость ферментативного гидролиза практически выходит на предел, смещается в область меньших величин. При этом введение соразтворителя во всех

случаях сопровождается уменьшением скорости (на начальном участке) и глубины ферментативного гидролиза. Из рис. 2 следует, что при использовании в качестве модифицирующей добавки глицерина уменьшается скорость ферментативного гидролиза примерно на 20–30%, в то время как добавление этанола — более, чем на 50%. Таким образом, существует взаимосвязь между скоростью ферментативного гидролиза Na-КМЦ и характером изменения его конформационного и надмолекулярного состояния в растворе.

Однако можно предположить, что уменьшение скорости ферментативного гидролиза, может быть обусловлено не только ухудшением термодинамического качества растворителя, повышением степени структурированности раствора и соответствующим уменьшением доступности звеньев полимера для взаимодействия с ферментом, но и влиянием модифицирующих добавок на активность ферментного препарата. Проведенные исследования по определению общей β -гликозидазной активности гиалуронидазы показало, что при введении добавок действительно уменьшается активность фермента. Так, если общая β -гликозидазная активность гиалуронидазы в воде составляла 66 Е/г, то в присутствии глицерина, пропиленгликоля и этанола, взятых в объемном соотношении вода : добавка, равном 80 : 20, она составляет 43, 33 и 20 Е/г соответственно. Обращает на себя внимание тот факт, что влияние модифицирующих добавок на активность ферментного препарата коррелирует с характером изменения скорости процесса: медленнее всего гидролиз происходит именно в присутствии этанола, для которого сильнее всего изменяется как активность фермента, так и конформационно-надмолекулярное состояние полимера в растворе. В связи с этим однозначно нельзя полагать, чем вызвано уменьшение скорости ферментативного гидролиза Na-КМЦ в присутствии модифицирующих добавок — надмолекулярным эффектом или уменьшением активности фермента.

Оценка вклада конформационно-надмолекулярного состояния полимера в растворе на характер протекания процесса ферментативного гидролиза проведена на примере пленочных материалов. Использовали пленки, полученные из растворов в воде и в смеси воды с этанолом, который в процессе сушки пленок полностью удаляется, и, следовательно, не может оказать влияние на активность фермента при ферментативном гидролизе пленочных материалов.

Как и в случае деструкции Na-КМЦ в растворе, при деструкции пленочных образцов накопление восстанавливающих сахаров со временем имело нелинейный характер. Наиболее значительное падение характеристической вязкости

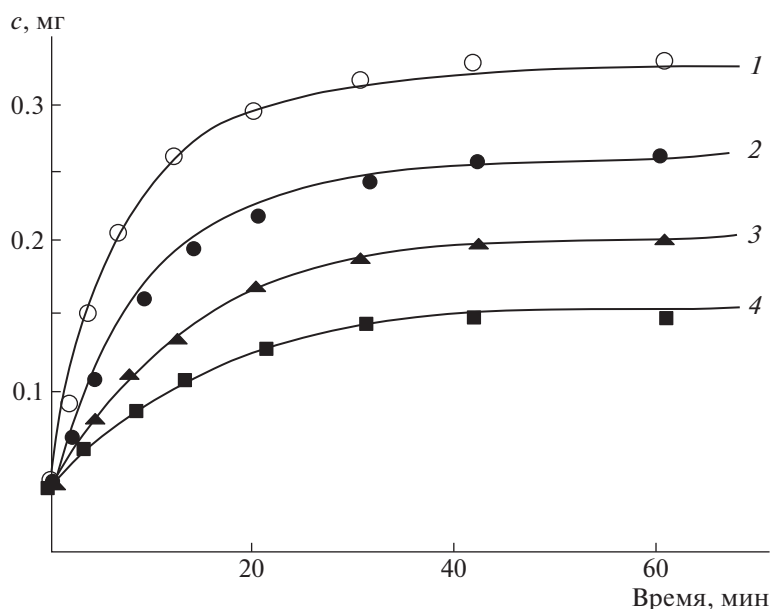


Рис. 5. Зависимость количества восстанавливающих сахаров от времени контакта пленочных образцов Na-КМЦ с раствором ферментного препарата. Пленки получены из раствора полимера в воде (1) и в присутствии добавки этанола (2–4) в объемном соотношении вода : этанол 90 : 10 (2), 80 : 20 (3) и 70 : 30 (4). Содержание ферментного препарата на подложке 1 г/л.

происходило в начальном периоде в течение 10–20 мин. Дальнейшая ферментативная экспозиция пленочных образцов, сказывалась на степени повышения концентрации восстанавливающих сахаров в существенно меньшей степени (рис. 5).

Значение скорости ферментативного гидролиза пленочных образцов, полученных в отсутствие этанола, составляет 0.028 мг/мин. В присутствии добавки этанола в объемном соотношении вода : этанол 90 : 10, 80 : 20 и 70 : 30 скорость гидролиза составляет 0.018, 0.012 и 0.0008 мг/мин соответственно.

Обращают на себя внимание два момента. Во-первых, несмотря на то, что этанола в пленке уже не было и повлиять на активность фермента он не мог, скорость и глубина процесса в пленках, сформированных из смешанного растворителя вода : этанол была меньше, нежели в пленках, полученных из воды. При этом, чем больше этанола находилось в исходном растворе, тем меньше была скорость ферментативной деструкции в полученном пленочном материале. Ранее аналогичные закономерности были обнаружены для пленок, полученных из растворов хитозана в смешанном растворителе 1%-ная уксусная кислота–этанол [29]. Очевидно, что различия в надмолекулярных характеристиках растворов полимеров в индивидуальном и смешанном растворителе сохраняются и при переходе к конденсированным системам (пленкам). В связи с этим, единственной причиной уменьшения скорости процесса ферментативного гидролиза в пленках, получен-

ных из смешанного растворителя вода–этанол, можно считать различие в надмолекулярном состоянии Na-КМЦ в данных пленках.

Во-вторых, переход к гетерогенной системе пленка полимера–раствор фермента мог бы сопровождаться существенным уменьшением степени гидролиза вследствие уменьшения доступности реагентов для взаимодействия друг с другом. Тем не менее, при сравнимом количестве фермента степень накопления восстанавливающих сахаров в растворах Na-КМЦ, полученных путем растворения пленок, больше, чем при проведении ферментативного гидролиза в растворах. Подобного рода факты могут быть объяснены как проявление одного из характерных макромолекулярных эффектов в химических реакциях полимеров – эффекта изменения локальных концентраций.

Таким образом, варьирование надмолекулярной структуры является фактором, безусловно, оказывающим влияние на степень ферментативной устойчивости пленочных образцов Na-КМЦ. В связи с этим за счет варьирования структуры полученного из раствора пленочного материала можно регулировать скорость и степень разложения пленки. Важность данного факта заключается в том, что хоть способность к биоразложению – один из весомых достоинств полисахаридов, низкая ферментативная устойчивость материалов на их основе является фактором, ограничивающим их применение, сокращая срок службы в условиях медицинского использования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом определения восстанавливающих сахаров доказан факт протекания гидролиза натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы под действием неспецифического фермента гиалуронидазы. Показано, что введение сорастворителей (модификаторов) глицерина, пропиленгликоля и этанола в систему Na-КМЦ–вода приводит к изменению конформационно-надмолекулярного состояния полимера в растворе – уменьшению размеров макромолекулярных клубков и более раннему формированию сетки зацеплений. Добавление указанных модификаторов понижает активность ферментного препарата. Показана взаимосвязь скорости и глубины ферментативного гидролиза натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы и активности фермента, а также размера макромолекулярного клубка и концентрации формирования сетки зацеплений. Установлено, что закономерности ферментативного гидролиза в растворе сохраняются и при переходе к пленочным образцам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Платэ Н.А., Литманович А.Д., Ноа О.В.* Макромолекулярные реакции. М.: Химия, 1977.
2. *Колесов С.В., Кулиш Е.И., Минскер К.С.* // Высокомолек. соед. Б. 1994. Т. 36. № 8. С. 1383.
3. *Кулиш Е.И., Колесов С.В., Минскер К.С., Заиков Г.Е.* // Высокомолек. соед. А. 1998. Т. 40. № 8. С. 1309.
4. *Kulish E.I., Gerchikov A.Ya., Chirko K.S., Kolesov S.V., Zaikov G.E.* // Polymer Science B. 2004. V. 46. № 1. P. 31.
5. *Эмануэль Н.М., Бучаченко А.Л.* Химическая физика старения и стабилизации полимеров. М.: Наука, 1982.
6. *Kulish E.I., Chernova V.V., Kolesov S.V., Volodina V.P., Monakov Y.B.* // J. Balkan Tribological Association. 2011. V. 17. № 2. P. 262.
7. *Kulish E.I., Chernova V.V., Kolesov S.V., Volodina V.P., Zaikov G.E.* // Oxidation Commun. 2010. V. 33. № 1. P. 220.
8. *Kulish E.I., Volodina V.P., Fatkullina R.R., Kolesov S.V., Zaikov G.E.* // Polymer Science B. 2008. V. 50. № 7–8. P. 175.
9. *Kulish E.I., Chernova V.V., Kolesov S.V., Volodina V.P., Monakov Y.B.* // Cellulose Chem. Technol. 2008. Т. 42. № 9–10. С. 463.
10. *Панков С.П.* Равновесие фаз в системе полимер–растворитель. М.: Химия, 1981.
11. *Чальх А.Е., Герасимов В.Н., Михайлов Ю.Н.* Диаграммы фазового состояния полимерных систем. М.: Янус К, 1998.
12. *Вихорева Г.А., Гальбрайх Л.С.* // Хитин и хитозан: получение, свойства и применение / Под ред. К.Г. Скрыбина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. М.: Наука, 2002. С. 254.
13. *Ilyin S. O., Makarova V. V., Anokhina T. S., Volkov A. V., Antonov S. V.* // Polymer Science A. 2017. V. 59. № 5. P. 676.
14. *Ageev E.P., Vikhoreva G.A., Matushkina N.N., Pchelko O.M., Gal'braikh L.S.* // Polymer Science. Ser. A. 2000. V. 42. № 2. P. 236.
15. *Udra S.A., Kazarin L.A., Mashchenko V.I., Gerasimov V.I.* // Polymer Science A. 2006. V. 48. № 10. P. 1105.
16. *Samuels R.J.* // J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed. 1981. V. 19. № 7. P. 1081.
17. *Ахметханов Р.М., Чернова В.В., Шуришина А.С., Лаздина М.Ю., Кулиш Е.И.* // Конденсированные среды и межфазные границы. 2021. Т. 23. № 2. С. 188.
18. *Новиков Д.В., Красовский А.Н., Осмоловская Н.А., Ефремов В.И.* // Физика твердого тела. 2007. Т. 49. № 2. С. 364.
19. *Bazunova M.V., Lazdin R.Yu., Elinson M.R., Sharafutdinova L.A., Mustakimov R.A., Kulish E.I.* // Chimica Techno Acta. 2022. V. 9. № 1. P. 20229108.
20. *Kulish E.I., Tuktarova I.F., Chernova V.V., Zakharov V.P., Kolesov S.V.* // Russ. J. Phys. Chem. B. 2015. V. 9. № 2. P. 237.
21. *Tuktarova I.F., Chernova V.V., Lazdin R.Y., Kulish E.I.* // Protection Metals Phys. Chem. Surf. 2016. Т. 52. № 2. С. 297.
22. Пат. 2430154 Россия. 2010 // Б.И. 2011. № 27. RU 2430154 C1.
23. Пат. 2424812 Россия. 2010 // Б.И. 2011. № 21. RU 2424812 C1.
24. *Chernova V.V., Valiev D.R., Bazunova M.V., Shurshina A.S., Kulish E.I.* // Russ. J. Appl. Chem. 2019. Т. 92. № 3. С. 332.
25. *Chernova V.V., Tuktarova I.F., Kulish E.I.* // Russ. J. Phys. Chem. B. 2017. Т. 11. № 2. С. 338.
26. *Кулиш Е.И., Чернова В.В., Вильданова Р.Ф., Володина В.П., Колесов С.В.* // Вестн. Башкирского гос. ун-та. 2011. Т. 16. № 2. С. 339.
27. *Liu J., Willför S., Xu C.* // Bioact. Carbohydr. Diet. Fibre. 2015. V. 5. № 1. P. 31–61.
28. *Bazunova M.V., Shurshina A.S., Chernova V.V., Kulish E.I.* // Russ. J. Phys. Chem. B. 2016. Т. 10. № 6. С. 1014–1021.
29. *Bazunova M.V., Chernova V.V., Lazdin R.Y., Zakharov V.P., Kulish E.I.* // Russ. J. Phys. Chem. B. 2018. Т. 12. № 6. С. 1039.
30. *Lazdin R.Y., Chernova V.V., Bazunova M.V., Zakharov V.P.* // Russ. J. Appl. Chem. 2019. Т. 92. № 1. С. 50.
31. *Каримова Р.Д., Лаздин Р.Ю., Аллаяров И.Р.* // Вестн. Башкирского гос. ун-та. 2017. Т. 22. № 1. С. 65.
32. *Валиев Д.Р., Базунова М.В., Чернова В.В., Шуришина А.С., Кулиш Е.И.* // Перспективные материалы. 2018. № 4. С. 14.
33. *Kulish E.I., Chernova V.V., Khusnutdinova A.R., Volodina V.P., Kolesov S.V.* // Russ. J. Appl. Chem. 2012. Т. 85. № 1. С. 156.
34. *Северин С.Е.* Практикум по биохимии / Под ред. С.Е. Северин, Г.А. Соловьева. М.: МГУ, 1989.
35. *Баранов В.Г., Бресткин Ю.В., Агранова С.А. Пинкевич В.Н.* // Высокомолек. соед. Б. 1986. Т. 28 № 11. С. 841.
36. *Arinshstein A.E.* // Sov. Phys. JETP. 1992. V. 74 (4). P. 646.