

ПОЛИМЕРНЫЕ, БИООРГАНИЧЕСКИЕ
И ГИБРИДНЫЕ НАНОМАТЕРИАЛЫ

УДК 544.77.022; 547.022

ПОЛУЧЕНИЕ CuO-СОДЕРЖАЩИХ РАЗМЕРКОНТРОЛИРУЕМЫХ
НАНОЧАСТИЦ С АРАБИНОГАЛАКТАНОВОЙ МАТРИЦЕЙ
И ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ДРЕВОРАЗРУШАЮЩИМИ ГРИБАМИ

© 2024 г. Г. П. Александрова^{1,*}, Л. А. Беловежец¹, А. Н. Сапожников²

¹Иркутский институт химии СО РАН, Иркутск, Россия

²Иркутский институт геохимии СО РАН, Иркутск, Россия

*E-mail: alexa@irioch.irk.ru

Поступила в редакцию 12.02.2024 г.

После доработки 12.04.2024 г.

Принята к публикации 22.04.2024 г.

Представлены результаты синтеза новых нетоксичных CuO-содержащих нанокompозитов с полисахаридной матрицей. Биосовместимые CuO-содержащие наночастицы (НЧ) получены в мягких условиях экологически безопасным методом конденсации. Обосновано использование матрицы арабиногалактана для регулирования размера НЧ и придания им гидрофильности. Формирование оксидов меди в присутствии полисахарида в качестве стабилизирующей матрицы приводит к образованию монодисперсных НЧ оксидов меди с регулируемым узким распределением по размерам (5–11 нм) благодаря эффективной стабилизации функциональными группами полисахарида. Медьсодержащие нанокompозиты охарактеризованы с помощью рентгенодифракционного анализа. Для исследования координации между НЧ CuO и арабиногалактана использована ИК-спектроскопия. Просвечивающая электронная микроскопия и УФ-видимая спектрометрия применены для анализа размеров и оптических свойств НЧ. Морфология поверхности и элементный состав изучены с помощью рентгеноспектрального энергодисперсионного микроанализа. Установлено, что новые гидрофильные нанокompозиты в матрице арабиногалактана являются нетоксичными материалами по отношению к природным микробным сообществам дроворазрушающих грибов.

DOI: 10.56304/S1992722324601459

ВВЕДЕНИЕ

Объединение достижений нанотехнологий с другими отраслями науки, включая физику, химию, биологию и материаловедение, создало предпосылки создания наночастиц (НЧ) для использования в различных областях. Отметим, что исследованиям НЧ благородных металлов, особенно серебра и золота, уделяется гораздо больше внимания, чем остальным [1, 2]. Однако наноматериалы, изготовленные из широко распространенных и недорогих металлов, также имеют немаловажное значение из-за их потенциала как альтернативы редким и дорогим катализаторам на основе благородных металлов, используемым во многих традиционных коммерческих химических процессах. В этом контексте медьсодержащие НЧ особенно привлекательны из-за достаточности высоких запасов меди и низкой стоимости, их создание экономически более эффективно.

Медьсодержащие наносистемы обладают не только уникальными фотоэлектрическими [3], каталитическими [3–5], полупроводниковыми [6] и рентгеночувствительными свойствами [7],

но и достаточно широким профилем биологической активности [7–9]. Медь является чрезвычайно важным биогенным металлом, поскольку входит в состав разнообразных ферментов, например лакказы, фенолазы и гемоцианина, способного переносить кислород подобно гемоглобину, и занимает второе место после соединений железа в качестве катализаторов окислительно-восстановительных процессов.

Склонность медьсодержащих НЧ к преодолению клеточных барьеров и их взаимодействие с внутриклеточными структурами вследствие их небольшого размера и высокой поверхностной реактивности способствуют потенциальной фитотоксичности, генотоксичности, а также цитотоксическому эффекту [9–13]. Известна антимикробная и антибактериальная активность соединений меди, в том числе наноразмерных, применяемых в сельском хозяйстве [9–14]. При этом медь обладает низкой токсичностью по сравнению с другими металлами, так как в малых концентрациях медь участвует в метаболических процессах. Удобрения, содержащие медь, способствуют росту растений на малоплодородных

почвах, повышают их выносливость против засухи и холода [12]. Устойчивость к меди патогенных микроорганизмов *Pseudomonas*, *M. tuberculosis*, *Synechococcus* и *E. coli* отмечена в обзоре [15]. Также общеизвестна избирательность действия противомикробных агентов в зависимости от конкретного класса микроорганизмов [15], поэтому априори предсказать позитивное либо негативное воздействие новых НЧ на определенный тип микробов невозможно. Влияние медьсодержащих наноконструкций (НК) на рост и жизнестойкость дроворазрушающих грибов ранее не изучали.

Методы синтеза НЧ на основе меди основаны, как правило, на тех же процедурах, которые применяются для подготовки НЧ других металлов. Подход, в котором для синтеза наноразмерных материалов используются предшественники атомного уровня, стал наиболее популярным, поскольку он предлагает больше возможностей для управления формой и размером получаемых НЧ [3, 7, 16]. Синтез медьсодержащих НЧ часто осуществляют из солей Cu(I) или Cu(II), используя в качестве прекурсоров сульфат, хлорид, нитрат или ацетилацетонат меди [17].

Интеграция исследовательской и технологической деятельности привела к появлению концепции синтеза полимерстабилизированных НЧ из соответствующих прекурсоров. Синтез НЧ контролируемой геометрии возможен в пространственно ограниченных средах, приводящих к получению самоорганизованных структур. В качестве такого пространственно ограничивающего окружения могут использоваться как “жесткие” нанореакторы (поры, мембраны), так и “мягкие” (мицеллярные и полимерные среды). Полимерные среды, применяемые при создании металлсодержащих НЧ, изменяют свойства поверхности последних, придавая им новые перспективные свойства. Интересные возможности получения НК биомедицинского и сельскохозяйственного назначения открываются при введении в полимер биологически активных агентов, таких как медьсодержащие НЧ, обладающих разнообразной биологической, в том числе иммуномодулирующей активностью [9, 10, 17–19].

Существует ряд работ по синтезу и исследованию структуры и свойств медьсодержащих НК на основе полисахаридов, вводящих в матрицу производных целлюлозы и других полисахаридов НЧ различной природы [20, 21], среди них выделяются работы по созданию медьсодержащих НЧ в присутствии ацетата целлюлозы [21], альгината [22], бактериальной целлюлозы [23] и хитозана [24, 25]. Известны работы по созданию НЧ оксидов меди с участием моносахаридов в качестве восстановителей и стабилизаторов [4, 5, 26, 27], а также по получению НЧ меди и оксидов меди с

использованием различных растительных экстрактов [28–32].

Особенностью и дополнительным преимуществом НЧ меди является то, что они способны подвергаться окислению, позволяя формировать НЧ оксидов меди, которые могут легко взаимодействовать с полимерными макромолекулами и во многих случаях более стабильны как с точки зрения химических, так и физических свойств [11, 25].

Во время образования медьсодержащих НЧ возникают проблемы, вызванные активностью меди, связанной с агрегацией и окислением. Важная роль полимеров в формировании металлических НЧ заключается в их способности экранировать полученные НЧ в наноразмерном состоянии, предотвращать их агрегацию и обеспечивать долгосрочную стабильность их свойств.

Существенным аспектом, влияющим как на свойства медьсодержащих НЧ, так и на характеристики НК в целом, является выбор структуры и природы матрицы, в которой НЧ диспергированы. Повышенный интерес вызывают наносистемы с матрицами экологически безвредных, нетоксичных и биodeградирующих природных полимеров [33], к которым относятся и водорастворимые полисахариды (ПС). Одним из таких ПС может служить арабиногалактан (АГ) лиственницы, хорошо известный своими антиоксидантными, противомикробными и иммуностимулирующими свойствами [34]. В [35, 36] показано успешное использование природного ПС АГ для создания плазмонных НК с наночастицами определенного размера с узкодисперсным распределением и высокой стабильностью химических и биологических свойств в течение длительного времени, с использованием его полимерной матрицы были синтезированы биосовместимые НЧ магнетита [37] и оксида висмута [38]. Возникающий при создании НК синергизм свойств матрицы АГ и НЧ создает практически неограниченные возможности для молекулярного дизайна инновационной продукции биотехнологического назначения [39].

Цель данной работы – исследование закономерностей формирования, структуры, морфологии поверхности медьсодержащих НК, полученных путем конденсации в присутствии полисахаридной матрицы АГ, и изучение их потенциальной биологической активности по отношению к различным типам дроворазрушающих грибов.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Синтез медьсодержащих наноконструкций проводили методом конденсации, используя в качестве прекурсора сульфат меди $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, путем взаимодействия со щелочью в присутствии ПС

АГ. К раствору 400 мг АГ в 4 мл дистиллированной воды при перемешивании приливали раствор 0.1–0.3 ммоль CuSO_4 в 3 мл воды и добавляли по каплям 1 н NaOH до pH 12, реакцию вели в течение 40 мин при комнатной температуре. Образовавшиеся НК высаживали в четырехкратный объем спирта, полученные осадки бледно-голубого цвета отфильтровывали и сушили на воздухе. Серия медьсодержащих нанобиокмозитов с АГ-матрицей ($\text{CuO}/\text{АГ}$) получена с высокими выходами (до 90%). NC-1, найдено, %: С – 41.8, Cu – 1.0, Na – 1.0, O – 52.6. NC-2, найдено, %: С – 38.8, Cu – 2.8, Na – 3.1, O – 53.7. NC-3, найдено, %: С – 38.2, Cu – 3.2, Na – 3.0, O – 53.0.

В работе использовали АГ, выделенный из водного экстракта древесины лиственницы сибирской (*Larix sibirica*), очищенный переосаждением в этанол [35]. Найдено, %: С – 42.20, Н – 6.21, O – 51.59.

Элементный состав НК определяли методом рентгеноспектрального энергодисперсионного микроанализа (РСЭДМА) при помощи электронного сканирующего микроскопа “Hitachi TM 3000” с X-детектором SDD Xflash 4304 и на CHNS-анализаторе “Flash 2000” (“ThermoScientific”, США). Содержание металлов в НК дополнительно контролировали атомно-абсорбционным методом на спектрометре Analyst 200 Perkin-Elmer.

ИК-спектры получали в диапазоне частот 4000–400 см^{-1} на приборе “Bruker VERTEX 70” в таблетках с KBr. ИК-спектр АГ, ν , см^{-1} : 3422 (ОН), 2920 (CH_3 , CH_2 и CH), 1642 (H_2O), 1375, 1216, 1145–1077 (С–О), 886–776 (β -гликозид). ИК-спектр NC-2, ν , см^{-1} : 3430 (ОН), 2926 (CH_3 , CH_2 и CH), 1623 (H_2O), 1450 1380, 1200–1000 (С–О), 1076 (Cu–O), 1043 (Cu–O–Н), 890–775 (β -гликозид), 571 (Cu–O), 442 (Cu–O).

Спектры поглощения водных растворов НК в УФ-видимой области записывали на спектрофотометре PerkinElmer Lambda 35 в кварцевой кювете шириной 1 см.

Микрофотографии НЧ металлов получены на трансмиссионном электронном микроскопе (ТЭМ) Leo 906E с ускоряющим напряжением 80 кВ. Пробоподготовку НК для микроскопии осуществляли путем нанесения на формваровую пленку разбавленного раствора НК. Распределение НЧ по размерам устанавливали статистической обработкой микрофотографий.

Рентгенодифракционное исследование проводили на приборе D8 ADVANCE (Cu-излучение, зеркало Гёбеля). Для выполнения фазового анализа регистрацию дифрактограмм выполняли в интервале углов 2θ от 14° до 80° – 90° . При расчетах параметра ячейки использовали пакет программ DIFFRACplus EVA 13 (2007, DIFFRACplus

BASIC Evaluation Package, EVA 13, Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Germany), область когерентного рассеяния рассчитывали по фундаментальным параметрам, используя пакет программ DIFFRACplus TOPAS4 (2008, DIFFRACplus, TOPAS 4, Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Germany).

Определение биоактивных свойств НК по отношению к дереворазрушающим грибам. Объектами служили музейные культуры грибов, относящиеся к разным классам и разные по типу метаболизма: *Polyporus versicolor* (*Trametes versicolor*), *Trichaptum laricinum* – грибы белой гнили, *Fomitopsis pinicola*, *Laetiporus sulphureus* – грибы бурой гнили, *Aureobasidium pullulans*, *Trichoderma harzianum* – грибы синевы.

Культуры грибов. Чистую культуру гриба, используемую для получения инокулятов, выращивали в пробирках объемом 50 см^3 на сусло-агаре (Wort Agar, Hi medika, Индия). За два дня до проведения эксперимента делали посев в виде блока 0.5×0.5 см каждого вида грибов в центр чашки Петри с сусло-агаром для предварительного подрашивания.

Исследования проводили по ГОСТ 30704-2001 “Защитные средства для древесины” [40]; контроль качества древесины – методом определения биозащитных свойств к дереворазрушающим грибам и грибам синевы и плесени. Образцы древесины прямоугольной формы 30×40 мм и толщиной 5 мм подготавливали из прямослойной воздушно-сухой древесины сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) плотностью от 450 до 500 $\text{кг}/\text{м}^3$. Перед пропиткой образцы маркировали, взвешивали с погрешностью не более 0.005 г и помещали в пропиточный сосуд. Пластины древесины обрабатывали 2%-ным водным раствором НК CuO/АГ (с содержанием меди 2.8%) в течение 30 мин и помещали в чашки Петри, инокулированные разросшимся мицелием для заражения грибами. Контроль – стерильная дистиллированная вода. В качестве стандартного контроля использовали коммерческий транспортный антисептик для древесины Просепт-42 в концентрации 5% следующего состава: фенолят натрия, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, 2-октил-3(2Н)-изотиозолинон.

Проведение испытаний. Образцы древесины, соблюдая правила стерильности, помещали в чашки с культурами грибов с разросшимся мицелием. Образцы выдерживали на культуре гриба 2 мес при температуре $26 \pm 2^\circ\text{C}$ и относительной влажности воздуха 70–75%. По истечении двух месяцев образцы вынимали из чашек, очищали от мицелия и выдерживали при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$ до достижения ими равновесной влажности, взвешивали и анализировали.

Пропитанные нанокмозитом либо антисептиком и непропитанные образцы испытывали на отдельных культурах, контролем служила непро-

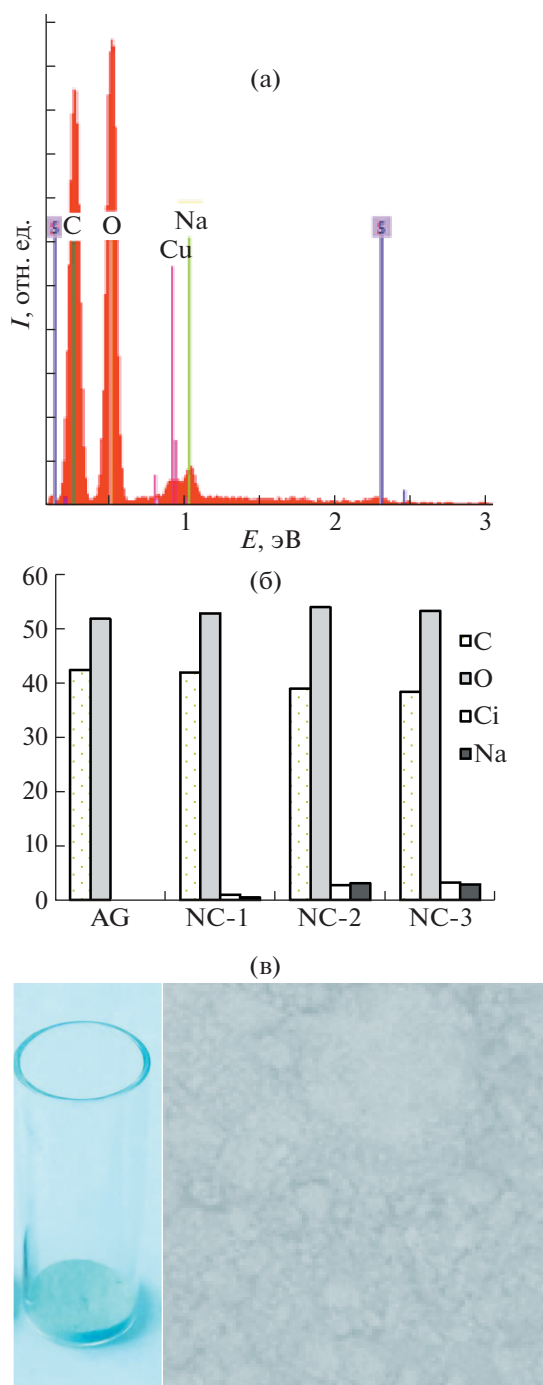


Рис. 1. Вид типичного энергодисперсионного рентгеновского спектра CuO/АГ (а) в матрице арабиногалактана, диаграмма (б), показывающая элементный состав АГ и трех НК NC-1, NC-2, NC-3, вид НК CuO/АГ и морфология поверхности (в).

питанная древесина. Каждая серия опытов имела по три биологических и три аналитических повтора. Среднюю потерю массы опытных и контрольных образцов D_{cp} в процентах определяли как среднее арифметическое потери массы девяти образцов. Критерием токсичности является

поглощение защитного средства, снижающее потерю массы древесины от воздействия грибов по сравнению с потерей массы древесины, не содержащей защитное средство [40].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

С использованием сульфата меди в качестве прекурсора получен ряд НК, содержащих медь в мягких условиях в водной фазе в присутствии АГ. Наличие меди и органической составляющей в полученных НК, определенное методами РСЭДМА и атомно-абсорбционного анализа, показано на рис. 1. Элементный анализ, отражающий атомную неорганическую и органическую составляющую в медьсодержащих НК (рис. 1), продемонстрировал относительно более высокое содержание кислорода (например, для NC-2 и NC-3 $C/O = 0.72$) в НК, чем в исходном АГ ($C/O = 0.82$), что, по-видимому, обусловлено присутствием меди в НК в виде ее оксида.

Полученные порошкообразные НК и морфология их поверхности представлены на рис. 1б. Согласно РСЭДМА микрофото образцы содержат микрометрические агрегаты с четко выраженной зернистостью. Наиболее типичной микроструктурой изучаемых объектов, окрашенных в бледно-голубой цвет, являются достаточно однородные по размерам гранулы.

Ключевая проблема, возникающая при синтезе НК с заданными свойствами, заключается в регулировании размеров НЧ, их морфологии и пространственного распределения. При синтезе агрегативно устойчивых НЧ оксида меди, с одной стороны, требуется гидролиз прекурсора, сопровождаемый процессами конденсации НЧ, приводящий к нужным дисперсным объектам, с другой стороны, необходима устойчивая стабилизация формирующихся НЧ с контролем их размеров. Ранее проведенные исследования связывания ионов меди в присутствии АГ показали зависимость этого процесса от величины pH реакционной среды [41].

Вероятно, у полимерного ПС АГ в отличие от моносахаридов величина редокс-потенциала недостаточна для восстановления меди до одновалентного состояния (до гидратированной закиси меди) по механизму реакций Фелинга и Тромера. Реакция синтеза НК оксид меди–АГ способом конденсации в водных растворах АГ запускается сдвигом pH реакционной смеси в более высокую область и останавливается на стадии образования комплекса синего цвета, при этом выпадения осадка гидроксида двухвалентной меди (хотя pH осаждения гидроксида меди составляет 6.2) не происходит, очевидно, за счет стабилизации высокодисперсного оксида меди на наноразмерном уровне.

При образовании зародышей в результате конденсации оксида меди они проявляют тенденцию к агрегированию, чтобы уменьшить общую поверхностную энергию. Эта агрегация, которая может быть следствием притягивающих сил Ван-дер-Ваальса между кристаллитами, должна подавляться или ограничиваться, чтобы ограничить конечный размер частиц в наномасштабе. При наличии АГ в растворе НЧ для ликвидации избыточной энергии взаимодействуют не друг с другом, а с окружающими их макромолекулами, организовываясь в стабильные композиты [35, 38].

Механизмы роста НЧ оксидных наноматериалов в значительной степени зависят от специфических процессов, используемых для их синтеза. Известно [3, 7], что диффузия ионов прекурсора является этапом, определяющим скорость роста НЧ. В данном случае гомогенное распределение ионов Cu^{2+} в реакционной смеси контролировало концентрацию образующихся наноразмерных ядер CuO таким образом, что заставило их однородно распределяться в наноканалах полимерной матрицы. Отсутствие локальных пересыщений вследствие равномерного распределения прекурсора меди по объему, контролирующей диффузию зародышей НЧ в процессе реакции, приводит к узкодисперсному распределению формирующихся НЧ. Предотвратить агрегацию этих НЧ, а также контролировать размеры получающихся нанокристаллов по мере увеличения концентрации прекурсора в реакционной смеси можно соблюдением соотношения прекурсор/матрица в строго определенном интервале, не превышающем 4.0% меди на 1 г полисахарида.

Процесс самоорганизации системы, при котором происходит самосборка НЧ в упорядоченные наноструктурированные НК, сопровождается возникновением новых связей между образующимися *in situ* НЧ и многочисленными гидроксильными и карбонильными группами АГ, равномерно распределенными в полимерной матрице ПС. Значительный стабилизирующий эффект, оказываемый АГ на наночастицы, обусловлен его уникальной структурой [34, 42], представляющей собой сильно замещенный галактановый кор, построенный преимущественно из 1 → 3 связанных β-D-галактопиранозных остатков, с разветвлениями при С-6, представленными 3,6-ди-О-6-замещенными остатками β-D-галактопиранозы и 3-О-замещенными остатками β-L-арабинофуранозы. Разветвленная форма макромолекулы (рис. 2) способна изолировать своими боковыми цепочками НЧ определенного размерного интервала, тем самым предохраняя их от чрезмерного роста, ведущего к коагуляции — потере стабильности и распаду НК [42].

Компьютерный анализ структуры АГ лиственницы западной с использованием данных рентге-

новской дифракции [43] позволил предположить, что макромолекула АГ представляет собой свернутую основную галактановую цепь с многочисленными боковыми ответвлениями, также хорошо продемонстрированы внутренние полости клубка кора и внешние боковые цепи в виде “клешней”. Эти данные подчеркивают ведущую роль боковых ответвлений и водородных связей в структурообразовании макромолекул АГ.

Особые свойства ПС АГ как лиганда можно объяснить наличием диольных гидроксигрупп, способных в области щелочного рН связывать металлы кислородными атомами с образованием прочных диолатных комплексов. Как показано на мономерных моделях, при координации углеводов ионом меди в координационную сферу металла вовлекается диольная группировка одного углеводного звена [42], которое выступает в качестве бидентатного лиганда, образуя замкнутый пятичленный цикл. Стабилизирующий эффект макромолекулы АГ наблюдали и при взаимодействии с другими оксидами и НЧ металлов [35, 37, 38, 42]. Стабилизационные процессы регулируются также ван-дер-ваальсовыми силами и дисперсионными взаимодействиями [6, 15, 19]. Устойчивость дисперсной системы в целом в водном растворе обуславливается гидрофилизацией поверхности частиц вследствие взаимодействия с макромолекулами АГ и стерической защитой, препятствующей агрегации частиц при столкновении. Препаративное преимущество исследуемой матрицы состоит в том, что благодаря эффективной стабилизации функциональными группами полисахарида НЧ не коагулируют даже после длительного хранения (более 4 мес).

Образование НЧ CuO зафиксировано с помощью спектров поглощения в УФ-видимой области. На рис. 3 представлены спектры оптического поглощения водных растворов НК, отражающие динамические особенности процесса реакции. Сам АГ, как и многие ПС, в УФ- и видимой области не поглощает, а УФ-спектры НК $\text{CuO}/\text{АГ}$ представляют собой широкую полосу с интенсивным максимумом поглощения в области 237–245 нм, которую можно отнести к комплексу с переносом заряда с лиганда АГ на ион Cu(II) [43] (рис. 3). В [25, 44] сообщалось, что положение полосы поглощения в диапазоне 200–350 нм в УФ-спектре синтезированного НК подтверждает образование НЧ CuO . Как известно, на размер и форму НЧ оказывает влияние концентрация раствора прекурсора. Изучение электронных спектров НК $\text{CuO}/\text{АГ}$ показало, что ограничение и ингибирование роста НЧ зависят от молярного отношения стабилизатора и прекурсора. Интенсивность поглощения максимума пропорциональна содержанию меди в НК и снижается с 2.65 до 1.64 при его уменьшении с 3.2 до 1.0%. Отсутствие пика поглощения при 589 нм, соответствующего

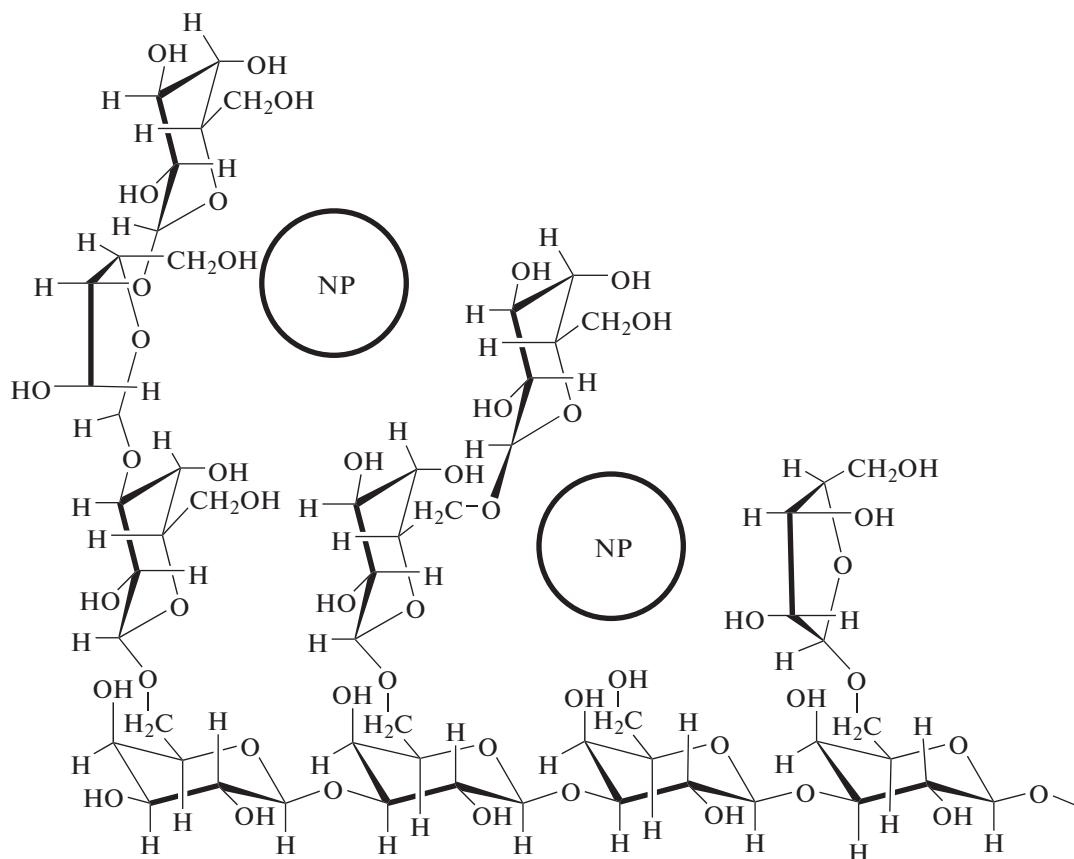


Рис. 2. Схематическое изображение нанокompозита с наночастицами (NP) в матрице АГ.

ющего максимуму плазмонного поглощения НЧ нульвалентной меди [25], свидетельствует об отсутствии редокс-превращений меди в данном процессе и тем самым совместно с отмеченным выше максимумом подтверждает образование НЧ оксида меди.

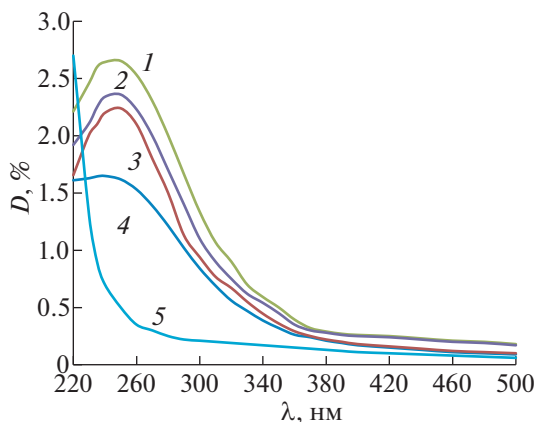


Рис. 3. УФ-видимые спектры поглощения НК CuO/АГ с содержанием меди: 1 – 3.2, 2 – 2.9, 3 – 2.8, 4 – 1.0%, 5 – АГ.

В ИК-спектрах НК зафиксированы сигналы, характеризующие органическую матрицу АГ ($\nu/\text{см}^{-1}$: 3430 (ОН), 2926 (CH_3 , CH_2 и CH), 1623 ($\text{H}_2\text{O}_{\text{ass}}$), 1200–1000 (C–O), 890–775 (β -гликозидная связь), что указывает на стабильность полимерной матрицы. Наиболее чувствительными к структурным особенностям НК являются линии, обусловленные деформационными колебаниями O–H-групп, координированных с металлом (область спектра 1100–1640 см^{-1}). Было отмечено смещение полос для НК по сравнению с исходным АГ с 3418 до 3430 и с 1641 до 1623 см^{-1} с резким увеличением интенсивности последней, появление интенсивной полосы при 1450 см^{-1} , изменение интенсивности при 1043 см^{-1} и в области около 600 см^{-1} , соответствующих колебаниям связи Cu–O–H и Cu–O. Тенденция, аналогичная появлению пика при 1043 см^{-1} и увеличению интенсивности при 622 см^{-1} , отвечающих за связь Cu–O, наблюдалась в спектре Cu-NPs, стабилизированных цитратом [45, 46]. Увеличение интенсивности пиков при 1623 и 1450 см^{-1} свидетельствует о том, что соответствующие водородные связи гидроксильных групп АГ, по-видимому, участвуют во взаимодействии с поверхностью НЧ

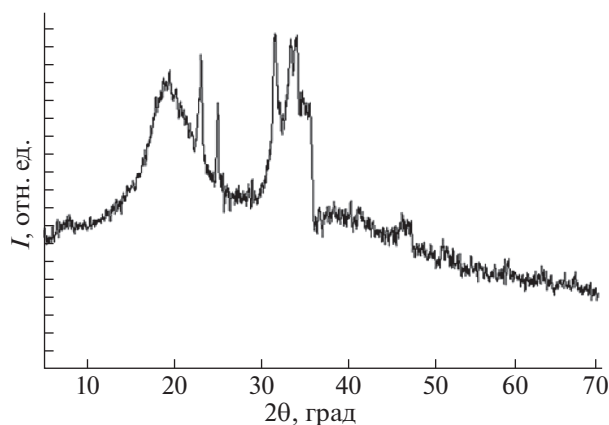


Рис. 4. Типичная дифрактограмма НК гидратированного оксида меди в матрице АГ с содержанием 2.8% меди.

оксида меди. Можно предположить, что наблюдаемые изменения объясняются тем, что хотя энергия водородных связей, характерных для АГ, невелика, этих связей много, и они способны, вступая во взаимодействие с поверхностью НЧ, предохранять их от агрегации друг с другом. Таким образом, АГ благодаря его высокой функционализации можно рассматривать в качестве эффективного и сильного стабилизатора НЧ оксидов меди за счет ингибирования роста и предотвращения агрегации формирующихся *in situ* НЧ в реакциях с ионами Cu(II) , осуществляемыми в водной среде.

Присутствие медьсодержащих НЧ в образцах подтверждено характерными пиками, наблюдаемыми на рентгенограммах образцов. Рисунок 4 демонстрирует в интервале углов $2\theta = 10^\circ\text{--}70^\circ$ присутствие аморфного гало АГ в области углов $15^\circ\text{--}22^\circ$ и наличие узких интенсивных пиков при углах 2θ 23.8° , 25.2° , 31.8° , 33.1° , 35.4° , 47.6° , которые соответствуют структуре гидратированного оксида меди $\text{CuO} \cdot (\text{H}_2\text{O})_n$ (куприта), что объясня-

ется известной способностью гидроксидов меди взаимодействовать со щелочами и присутствием натрия в составе НК. Дополнительные дифракционные пики, очевидно, принадлежат другим неидентифицированным фазам. Четко определенные и узкие линии отражения куприта на наблюдаемых рентгенограммах подтверждают хорошо выраженную кристаллическую природу медьсодержащих НЧ, близкие дифракционные картины наблюдали [47, 48] при биосинтезе НЧ CuO .

Типичное ТЭМ-изображение синтезированных частиц оксида меди представлено на рис. 5. Микрофото зафиксировало, что при подобранных условиях синтеза формируются НЧ сферической формы, они расположены достаточно близко друг к другу, разделены участками полисахаридных молекул. Данные микроскопии демонстрируют, что полученные НЧ обладают достаточно узким мономодальным распределением по размерам в интервале 5–11 нм со средними рассчитанными размерами 7.7–8.5 нм в зависимости от содержания меди в НК. Свойства и морфология НК зависят от таких аспектов их микроструктуры, как размер НЧ и окружающей их матричной оболочки. Рост НЧ тесно связан с размерами пространств, ограничиваемыми боковыми цепями ПС и главными цепями, связанными межмолекулярными водородными связями [43]. В процессе роста НЧ происходит конкуренция между силой движения границ НЧ и сдерживающей силой, оказываемой боковыми цепями матрицы (рис. 2). Таким способом структурные особенности макромолекулы АГ в процессе формирования НЧ выполняют функцию размерконтролирующей матрицы, предотвращающей рост и агрегацию образующихся НЧ [35, 38].

Отмеченное рассредоточение НЧ в матрице и узкодисперсность их размеров являются важной структурной особенностью полученных НК, определяющей перспективы их использования

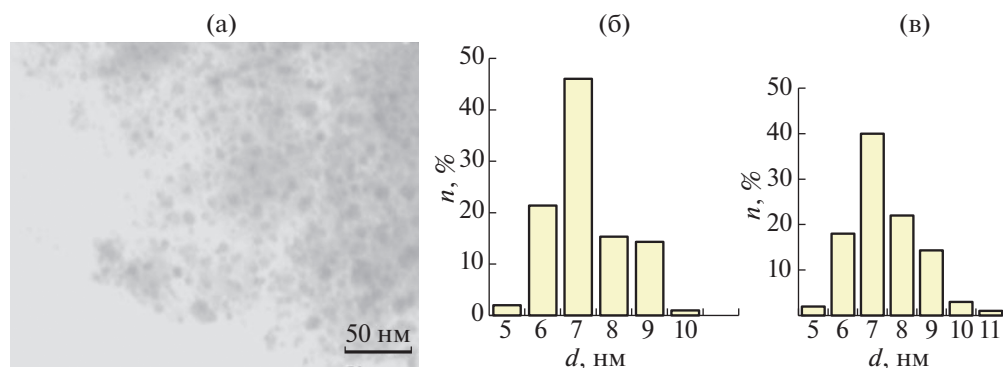


Рис. 5. ТЭМ-изображение наночастиц оксида меди (а) и распределение дисперсности по размерам наночастиц в НК CuO/АГ , содержащих 2.8 (б) и 3.2% (в) меди.

для создания высокотехнологичных материалов, например субстанций с гидрофильными свойствами.

Современные запросы к новым материалам требуют исследования эффективности и безопасности получаемых НК, в том числе оценки возможности снижения антропогенного воздействия этих НЧ [9]. Функционализация поверхности целевых НЧ легко осуществима вследствие легкости конъюгации с макромолекулами АГ [35, 39] для соответствия требованиям для специфического применения. Придаваемые наночастицам полисахаридной матрицей гидрофильные свойства вследствие ее гидротропной способности [39] обеспечивают высокую водорастворимость НК CuO/АГ в новом морфологическом состоянии. Наличие медьсодержащих НЧ в полученных НК может быть приемлемым для оказания фунгицидного воздействия на биоповреждаемые сельскохозяйственные культуры и древесину.

Древоразрушающие грибы белой и бурой гнили способны утилизировать различные компоненты древесины, вызывая потерю ее массы и изменения цвета товарной древесины, например для грибов бурой гнили характерно потемнение вследствие преимущественной деструкции целлюлозы [49]. Большое значение также имеют многие плесневые и деревоокрашивающие грибы, которые не только вызывают порчу внешнего вида материала, но и могут метаболизировать компоненты древесных клеток, способствуя более глубокому повреждению структурных элементов древесины.

Одним из наиболее эффективных способов борьбы с микроскопическими грибами – вредителями и разрушителями древесины, на долю которых приходится до 50% от общего числа биоповреждений, – является применение различных химических веществ, оказывающих антисептическое действие. Соединения меди (бордоская жидкость, хлорокись меди) с давних пор используются для предотвращения грибковых заболеваний древесины. Точный механизм действия соединений меди и медьсодержащих НЧ в качестве антимикробных агентов не известен, но несколько механизмов были постулированы [50]. Предположительно, накопление НЧ Cu или НЧ CuO на поверхности клеток снижает целостность мембраны, вызывая утечку цитоплазмы. Когда НЧ пересекают клеточную мембрану, они могут взаимодействовать с тиольными группами белков внутри клетки, инактивируя белки, вызывая повреждение ДНК, а также вызывать развитие окислительного стресса посредством генерации кислородных радикалов, которые могут вызывать апоптоз.

Для оценки токсического воздействия НК на природные микробные сообщества была иссле-

дована способность медьсодержащего НК предотвращать биологическое повреждение и разрушение древесины микроорганизмами. Взаимодействие НК и микрогрибов изучали на культурах, относящихся к разным классам и разным по типу метаболизма: грибах белой гнили (*Trametes versicolor*, *Trichaptum laricinum*), грибах бурой гнили (*Fomitopsis pinicola*, *Laetiporus sulphureus*) и грибах синевы (*Aureobasidium pullulans*, *Trichoderma harzianum*). Сущность метода испытания токсичности НК по отношению к дереворазрушающим грибам состояла в оценке степени деструкции древесины при инкубировании чистых культур грибов с образцами древесины, обработанными испытуемым НК и стандартным защитным средством.

Различия в способности грибов к росту на исходных и пропитанных НК плашках показаны на рис. 6. Зависимость интенсивности разрастания мицелия и разрушения древесины микроорганизмами от наличия пропитки НК указывает на то, что грибы проявляли определенную способность дезактивировать НЧ в процессе биоповреждения. В зависимости от типа метаболизма способность грибов поглощать компоненты древесины и среды с течением времени инкубирования явно улучшалась, что наиболее характерно для видов *Trametes versicolor* и *Aureobasidium pullulans*. В присутствии НК эта тенденция была более постепенной.

Сохранность древесины после обработки нанокондитом CuO/АГ и заражения грибами, оцененная по убыли массы после инкубирования в течение 2 мес (табл. 1), была несколько выше уровня таковой для контрольных образцов, пропитанных стерильной водой (в интервале 6–13% для разных грибов). Эффективность биоцидной способности НК следует считать весьма низкой, поскольку в аналогичных условиях стандартный транспортный антисептик предотвращал потерю массы в 1,5, 2 или 3 раза лучше в зависимости от типа гриба.

Максимальная деградация древесины была отмечена для наиболее активного гриба бурой гнили *Laetiporus sulphureus* для всех вариантов пропитки, наименьшая (45–51%) – для гриба синевы *Aureobasidium pullulans*. В среднем после воздействия грибов сохранилось 27% массы древесины для пропитанных водой образцов, 34% – для пропитанных нанокондитом, 54% – для обработанных антисептиком. Такие критические результаты с мощной активной деструкцией древесины в эксперименте связаны с тем, что для инокуляции использовали большое количество активного мицелия грибов, а сохранность древесины оценивали по потере массы образцов в долговременном эксперименте (по требованиям ГОСТ инкубацию осуществляют в течение 2 мес),

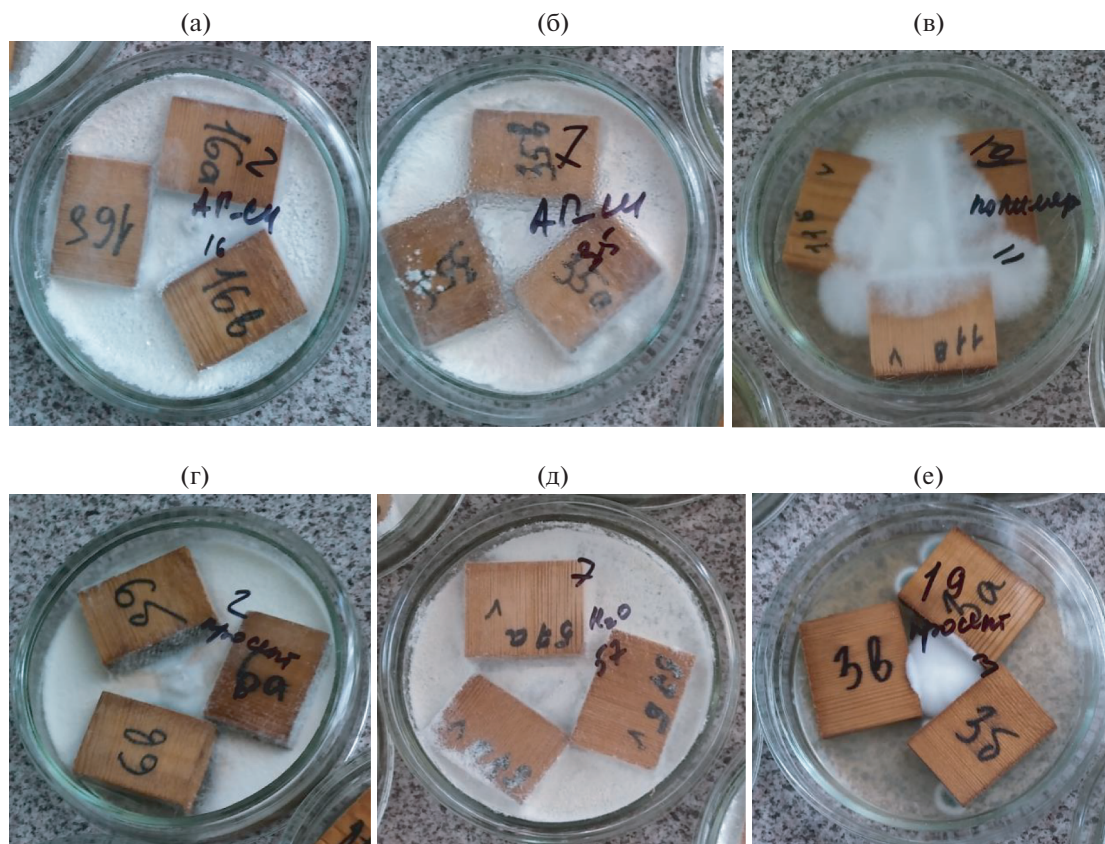


Рис. 6. Обрастание древесины, пропитанной нанокomпозитом CuO/АГ, мицелием грибов при инкубировании в течение 2 мес: *Trametes versicolor* (а), *Aureobasidium pullulans* (б), *Fomitopsis pinicola* (в). Для сравнения показаны образцы древесины, пропитанные антисептиком просепт-42, при воздействии *Trametes versicolor* (г), *Fomitopsis pinicola* (е) и контроль (пропитка водой) при заражении *Aureobasidium pullulans* (д).

значительно превышающем стандартное время (2 нед) транспортировки, на которое рассчитано действие промышленного антисептика.

Как показал эксперимент, дереворазрушающие грибы *Trametes versicolor*, *Trichaptum laricinum*, *Aureobasidium pullulans*, *Laetiporus sulphureus* и *Trichoderma harzianum* оказались устойчивы к воздействию изучаемого НК в опробованной концентрации. Установлено, что пропитка древесины водным раствором стабилизированных АГ на-

ночастиц оксида меди со средним размером 7.7 нм сопровождается отсутствием выраженного отклонения значений гибели микроорганизмов и разрастания их мицелия от физиологически нормального в контроле.

Следует отметить наблюдаемое в эксперименте неожиданное незначительное подавление роста гриба бурой гнили *Fomitopsis pinicola*. Возможно, это связано именно с наноразмерной медью, так как известно, что грибы бурой гнили генети-

Таблица 1. Сохранность древесины при заражении грибами после обработки нанокomпозитом CuO/АГ и антисептиком

Пропитка	Сохранность древесины, % от исходной массы				
	Грибы				
	<i>Trametes versicolor</i>	<i>Fomitopsis pinicola</i>	<i>Laetiporus sulphureus</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>
CuO/АГ	31.9 ± 0.8	41.1 ± 0.8	12.4 ± 0.2	51.5 ± 0.5	32.4 ± 0.5
Вода	22.7 ± 0.7	28 ± 0.5	6.0 ± 0.8	45.1 ± 0.8	34.2 ± 0.7
Просепт	69 ± 1.1	47.1 ± 0.4	39 ± 0.5	44.8 ± 0.4	68.5 ± 0.7

чески устойчивы к препаратам солей меди. Подобное проявление, вероятно, обусловлено более низкой продукцией данным грибом ферментов гемицеллюлазного и арабинозидазного типа, обуславливающей низкую скорость деструкции АГ, а следовательно, значительно более длительное сохранение гидрофильности структуры НК и замедление инактивации медьсодержащих НЧ. В то же время более агрессивный *Laetiporus sulphureus* устойчив к изучаемому НК. Это несомненно указывает на то, что НК проявлял определенную биоцидную активность при обработке древесины НК и последующем заражении микроорганизмом *Fomitopsis pinicola* (рис. 6). Эти данные подтверждают известную зависимость противомикробных свойств НК меди и оксидов меди НЧ от типа микроорганизмов и вида матрицы [15].

Наличие в НК матрицы природного ПС АГ приводит к низкому уровню биоцидной активности медьсодержащих НЧ в отношении древоразрушающих грибов. Это, вероятно, связано с тем, что АГ является хорошим пищевым субстратом для грибов, что приводит к его быстрой утилизации, а значит, к скорому разрушению наноструктуры, резкому уменьшению биодоступности медьсодержащих НЧ и тем самым их инактивации. Подтверждением этому заключению могут служить проведенные ранее работы по определению степени подверженности АГ биологической деструкции микроорганизмами – природными биодеструкторами древесины – древоразрушающими грибами белой гнили с высокоэффективным комплексом внеклеточных ферментов как гидролазного (целлюлазы и гемицеллюлазы, включая арабинозидазы), так и оксидазного типа (лакказы и пероксидазы), которые позволили установить, что первичный этап биоконверсии сопровождался окислительно-восстановительными процессами [49]. При этом наблюдалось постепенное возрастание степени их окисленности, происходящее с различной скоростью, характерной для каждого гриба и зависящей от соотношения и объема продуцируемых им ферментов. Одновременно происходила гидролитическая деструкция ПС, катализируемая целлюлазами и арабинозидазой, с отщеплением концевых звеньев, что подтверждалось значительной потерей массы ПС, используемых микроорганизмами в качестве единственного источника углерода [50]. Мониторинг оценки биоконверсии и осуществленная оптимизация условий биодеградации АГ позволили установить, что максимальная степень его утилизации в условиях жидкофазного культивирования с грибами (*Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*) в течение 10 нед достигала 14–23% [49]. Известно также о метаболизировании АГ другими микроорганизмами, например *Saccharomyces cerevisiae* [51].

Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии какого-либо негативного влияния НК CuO/АГ с матрицей АГ на рост грибов *Trametes versicolor*, *Aureobasidium pullulans*, *Laetiporus sulphureus* и *Trichoderma harzianum* в питательных средах и природной древесине, что доказывает безопасность полученного НК для изученных типов микроорганизмов. Правомерность этого вывода подтверждает обнаруженная нетоксичность НК с другими медьсодержащими НЧ в матрице АГ, установленная как на животных, так и на растительных организмах. Изучение острой токсичности НК Cu₂O/АГ в матрице АГ на белых мышах в дозе 2000 мг/кг показало, что по данному параметру НК относится к малотоксичным веществам 5 класса опасности без проявления генотоксических эффектов [52]. Также было обнаружено, что НК Cu₂O/АГ стимулировал *in vitro* прирост растений картофеля на 20% по сравнению с контрольными [53].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В мягких экологически приемлемых условиях синтезированы наноконпозиты с медьсодержащими наночастицами в матрице природного полисахарида арабиногалактана. Охарактеризованы состав и структура созданных наноматериалов. Систематически изучены спектральные свойства (УФ-видимая, ИК) наноконпозитов оксидов меди и их морфология. Показано, что оптические свойства НК являются адекватным откликом их внутренней структуры. Методом электронной микроскопии определены размеры НЧ, варьирующиеся в интервале 5–11 нм. Идентификация точного элементного состава, размера частиц и морфологии поверхности НЧ создает необходимый массив данных для полного понимания потенциальных возможностей применения создаваемых НК. Установлено отсутствие токсичности НК CuO/АГ с матрицей АГ в отношении древоразрушающих грибов. Придаваемые наночастицам полисахаридной матрицей гидрофильные свойства обеспечивают водорастворимость НК в новом морфологическом состоянии, усиливая их фармацевтическую привлекательность. Созданные новые наноструктурированные медьсодержащие агенты на основе биосовместимого природного ПС могут найти широкое применение как системы доставки меди в медицине и биологии, а также в качестве многофункциональных оптических материалов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Shadeeb H.* // Int. J. Nanosci. 2021. V. 20. № 1. P. 2150009. <https://doi.org/10.1142/S0219581X21500095>

2. Chandrakala V., Aruna V., Angajala G. // Emergent Mat. 2022. V. 5. P. 1593.
<https://doi.org/10.1007/s42247-021-00335-x>
3. Gawande M.B., Goswami A., Felpin F.-X. et al. // Chem. Rev. 2016. V. 116. № 6. P. 3722.
<https://doi.org/10.1021/Acs.Chemrev.5b00482>
4. Sarkar S., Chatterjee N., Roy M. et al. // RSC Adv. 2014. V. 4. P. 7024.
<https://doi.org/10.1039/C3RA46168H>
5. Liu K., Song Y., Chen S. // J. Power Sources. 2014. V. 268. P. 469.
<https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2014.06.054>
6. Ho M.Y., Khiew P.S., Isa D. et al. // Nano. 2014. V. 09. № 6. P. 1430002.
<https://doi.org/10.1142/S1793292014300023>
7. Rafique M., Shaikhreena J., Rasheedshow R. et al. // Nano: Brief Reports and Reviews. 2017. V. 12. № 4. P. 1750043.
<https://doi.org/10.1142/S1793292017500436>
8. Saravanakumara K., Sathiyaseelan A., Venkatachalam K. et al. // Int. J. Biol. Macromol. 2020. V. 164. P. 2073.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.036>
9. Мамонова И.А., Бабушкина И.В., Гладкова Е.В. // Российские нанотехнологии. 2013. Т. 8. № 5–6. С. 25.
<https://doi.org/10.1134/S1995078013030142>
10. Ржеусский С.Э., Авчинникова Е.А., Воробьева С.А. // Вестник фармации. 2014. Т. 3. С. 62.
11. Cioffi N., Torsi L., Ditaranto N. et al. // Chem. Mater. 2005. V. 17. P. 5255.
<https://doi.org/10.1021/CM0505244>
12. Fahmy B., Cormier S. // Toxicol. In vitro. 2009. V. 23. № 7. P. 1365.
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2009.08.005>
13. Akhtar M., Kumar S., Alhadlaq H. et al. // Toxicol. Ind. Health. 2016. Т. 32. № 5. P. 809.
<https://doi.org/10.1177/0748233713511512>
14. Минеев В.Г. Агрехимия. М.: Изд-во МГУ, КолосС. 2004. 720 с.
15. Nevezhina A.V., Fadeeva T.V. // Acta Biomed. Sci. 2021. V. 6 (6–2). P. 37.
<https://doi.org/10.29413/ABS.2021-6.6-2.550>
16. Umer A., Naveed S., Ramzan N. et al. // NANO: Brief Reports and Reviews. 2012. V. 7. 5 P. 1230005.
<https://doi.org/10.1142/S1793292012300058>
17. Aguilar M., Esparza R., Rosas G. // Trans. Nonferrous Met. Soc. China. 2019. V. 29. P. 1510.
[https://doi.org/10.1016/C1003-6326\(19\)65058-2](https://doi.org/10.1016/C1003-6326(19)65058-2)
18. Chung I., Rahuman A., Marimuthu S. et al. // Exp. Ther. Med. 2017. V. 14. № 1. P. 18.
<https://doi.org/10.3892/etm.2017.4466>
19. Ismail M., Gul S., Khan M.I. et al. // Green Process. Synth. 2018. V. 8. P. 135.
<https://doi.org/10.1515/gps-2018-0038>
20. Chang Ch., Zhang L. // Carbohydr. Polym. 2011. V. 84. № 1. P. 40.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.023>
21. Cong Wang, Xudong Gao, Zhongqin Chen // Polymers. 2017. V. 9. P. 689.
<https://doi.org/10.3390/polym9120689>
22. Saravanakumara K., Sathiyaseelan A., Vijay A. // Int. J. Biol. Macromol. 2020. V. 153. P. 207.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.250>
23. Jang G.G., Jacobs C.B., Gresback R.G. et al. // J. Mater. Chem. C. 2015. V. 3. P. 644.
<https://doi.org/10.1039/c4tc02356k>
24. Brunel F., El Gueddari N., Moerschbacher B. // Carbohydr. Polym. 2013. V. 92. № 2. P. 1348.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.10.025>
25. Usman M., Ibrahim N., Shameli K. et al. // Molecules. 2012. V. 17. P. 14928.
<https://doi.org/10.3390/molecules/171214928>
26. Sabbaghan M., Beheshtian J., Niazmand L.R. // Mater. Lett. 2015. V. 153. P. 1.
<https://doi.org/10.1016/j.matlet.2015.03.147>
27. Chahdoura F., Pradel C., Gomez M. // ChemCatChem. 2014. V. 6. P. 2929.
<https://doi.org/10.1002/cctc.201402214>
28. Nasrollahzadeh M., Sajadi S.M., Khalaj M. // Rsc Adv. 2014. V. 4. P. 47313.
<https://doi.org/10.1039/C4RA08863H>
29. Cheirmadurai K., Biswas S., Murali R. et al. // Rsc Adv. 2014. V. 4. P. 19507.
<https://doi.org/10.1039/C4RA01414F>
30. Sharma J.K., Srivastava P., Singh G. et al. // Thermochem. Acta. 2015. V. 614. P. 110.
<https://doi.org/10.1016/j.tca.2015.06.023>
31. Cuevas R., Duran N., Diez M.C. et al. // J. Nanomater. 2015. P. 789089.
<https://doi.org/10.1155/2015/789089>
32. Sharma J.K., Akhtar M.S., Ameen S. et al. // J. Alloys Compd. 2015. V. 632. P. 321.
<https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2015.01.172>
33. Adeleye A., Conway J., Perez T. et al. // Environ. Sci. Technol. 2014. V. 48. № 21. P. 12561.
<https://doi.org/10.1021/es5033426>
34. Дубровина В.И., Витязева С.А., Коновалова Ж.А. и др. Иммуномодулирующее действие металло-содержащих наноконструкций. Мегапринт. Иркутск. 2017. 77 с.
35. Сухов Б.Г., Александрова Г.П., Грищенко Л.А. // Журн. структур. химии. 2007. Т. 48. № 5. С. 979.
<https://doi.org/10.1007/s10947-007-0136-3>
36. Александрова Г.П., Грищенко Л.А., Фадеева Т.В. и др. // Нанотехника. 2010. Т. 23. № 3. С. 34.
37. Aleksandrova G.P., Grishchenko L.A., Chetverikova T.D. et al. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2011. V. 37. № 7. С. 829.
<https://doi.org/10.1134/S1068162011070028>
38. Александрова Г.П., Сапожников А.Н., Боймиряев А.С. и др. // Журн. орган. химии. 2020. Т. 90. № 4. С. 619.
<https://doi.org/10.1134/S1070363220040180>
39. Зверева М.В., Александрова Г.П. // Журн. орган. химии. 2023. Т. 93. № 1. S347.
<https://doi.org/10.1134/S1070363223140141>
40. ГОСТ 30704–2001. Защитные средства для древесины. Методы контроля качества. М.: Издательство стандартов. 2002. 11 с.
41. Грищенко Л.А., Александрова Г.П., Медведева С.А. // Журн. орган. химии. 2004. Т. 74. № 7. С. 1213.
<https://doi.org/10.1023/B:RUGC.0000045876.52850.04>

42. *Александрова Г.П., Боймирзаев А.С., Клименков И.В.* // Российские нанотехнологии. 2019. Т. 14. № 1–2. С. 44.
<https://doi.org/10.21517/1992-7223-2019-1-2-44-51>
43. *Chandrasekaran R., Janaswamy S.* // Carbohydr. Res. 2002. V. 337. P. 2211.
[https://doi.org/10.1016/s0008-6215\(02\)00223-9](https://doi.org/10.1016/s0008-6215(02)00223-9)
44. *Жданов Ю.А., Алексеев Ю.Е.* // Успехи химии. 2002. Т. 71. № 11. С. 1090.
45. *Garrido L.V.Q., Gonçalves J., Rocha J.C. et al.* // Plasmonics. 2020. V. 15. P. 1213.
<https://doi.org/10.1007/c10570-013-9890-x>
46. *Dang T.M.D., Le T.T.T., Fribourg-Blanc E. et al.* // Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol. 2011. P. 2.
<https://doi.org/10.1088/2043-6262/2/1/015009>
47. *Mott D., Galkowski J., Wang L. et al.* // Langmuir. 2007. V. 23. № 10. P. 5740.
<https://doi.org/10.1021/la0635092>
48. *Sharma J.K., Akhtar M.S., Ameen S.* // J. Alloys Comps. 2015. V. 632. № 25. P. 321.
<https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2015.01.172>
49. *Chandan Tamuly, Moushumi Hazarika, Jadumoni Das* // Mater. Lett. 2014. V. 123. P. 202.
<https://doi.org/10.1016/j.matlet.2014.03.010>
50. *Александрова Г.П., Медведева С.А., Бабкин В.А.* // Прикладная биохимия и микробиология 1998. Т. 34. № 3. С. 270.
51. *Trofimov B.A., Oparina L.A., Parshina L.N. et al.* // Cellulose. 2013. V. 20. № 3. P. 1201.
<https://doi.org/10.1007/c10570-013-9890-x>
52. *Neverova N.A., Belovezhets L.A., Medvedeva E.N. et al.* // Russ. J. Bioorgan. Chem. 2011. V. 37. № 7. P. 834.
<https://doi.org/10.1134/S106816201107017X>
53. *Тумов Е.А., Соседова Л.М., Капустина Е.А. и др.* // Российские нанотехнологии. 2021. Т. 16. № 4. С. 578.
<https://doi.org/10.1134/S1992722321040130>
54. *Перфильева А.И., Липчанская Т.В., Харасова А.Р. и др.* // Российские нанотехнологии. 2023. Т. 18. № 3. С. 402.
<https://doi.org/10.56304/S1992722323030093>