

## МОДИФИКАЦИЯ ПОЛИМЕРОВ

УДК 541(49+64):547.458.8

### ВЛИЯНИЕ МОДИФИКАЦИИ ГЕЛЬ-ПЛЕНКИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ НА ЕЕ МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И СПОСОБНОСТЬ КОВАЛЕНТНО СВЯЗЫВАТЬ ФЕРМЕНТЫ

© 2021 г. Д. А. Кадималиев<sup>а,\*</sup>, А. А. Девятаева<sup>а</sup>, И. П. Грунюшкин<sup>а</sup>,  
А. Н. Малафеев<sup>а</sup>, В. В. Ревин<sup>а</sup>

<sup>а</sup> Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева  
430019 Саранск, ул. Ульянова, 26Б, Россия

\*e-mail.ru: cadimded@yandex.ru

Поступила в редакцию 13.10.2020 г.

После доработки 23.12.2020 г.

Принята к публикации 06.01.2021 г.

Оптимизированы правила модификации гель-пленки бактериальной целлюлозы без нарушения ее пленочной структуры. Методом ИК-фурье-спектроскопии и титрования показано, что окисление периодатом натрия позволяет получить диальдегидпроизводные гель-пленки с различным количеством альдегидных групп. Подобраны условия иммобилизации ферментов пепсина и  $\beta$ -галактозидазы на модифицированные гель-пленки. Анализ ИК-спектров продемонстрировал, что ферменты удерживаются на гель-пленке за счет образующихся азометиновых связей между аминоклассами белка и альдегидными группами пленки. Эффективность иммобилизации зависит от вида фермента и условий проведения реакции привития; при одних и тех же условиях гель-пленка связывала больше  $\beta$ -галактозидазы, чем пепсина.

DOI: 10.31857/S2308113921030086

Современные знания о патогенезе раневого процесса определяют необходимость применения различных видов перевязочных материалов, среди которых текстильные, пленочные, пены, гидрогелевые, гидроколлоидные, импрегнированные покрытия [1, 2]. Такие материалы должны соответствовать целому ряду свойств: дренирование поверхности, создание и сохранение определенной величины влажности и воздухопроницаемости, предохранение от контаминации, отсутствие адгезии к раневой поверхности [3].

Главная роль в осуществлении перечисленных функций перевязочного средства принадлежит полимерной матрице, на которой фиксируют методами иммобилизации медикаментозные средства. Способ иммобилизации фермента и выбор полимера-носителя в первую очередь должны определяться особенностями эксплуатации раневых покрытий. В связи с доступностью и дешевой в качестве матрицы многие исследователи продолжают использовать текстильные ткани, прежде всего медицинскую марлю [4–7]. Однако высокая степень адгезии к ране, болезненность при снятии, образование благоприятной среды для развития гнойных процессов требуют создания нового поколения полимерных и наноконпозиционных материалов.

Наиболее подходящим материалом для этих целей являются полимеры, в частности целлюлоза. На сегодняшний день, исследованиям свойств нативной целлюлозы, подбором условий ее обработки с целью изготовления биомедицинских материалов на ее основе уделено большое внимание [8–15].

Широкий интерес к материалам на основе растительной целлюлозы оправдан их способностью к биологическому разложению, биосовместимостью, хорошими механическими свойствами, доступностью, устойчивостью и низкой цитотоксичностью [16–18]. Однако получение матриц из растительной целлюлозы для иммобилизации лекарственных препаратов довольно сложный процесс.

Вместе с тем некоторые бактерии, в частности *Glucanacetobacter sucrofermentans*, способны при культивировании в статических условиях образовывать целлюлозную гель-пленку, которую можно использовать для различных материалов медицинского назначения [19–21]. Однако из-за отсутствия реакционно-способных групп, гель-пленка бактериальной целлюлозы не способна прочно удерживать лекарственные препараты, в том числе протеолитические ферменты.

В качестве окислителя гель-пленки бактериальной целлюлозы в работе использовали периодат натрия, который активно применяют на практике. Периодатное окисление целлюлозы характеризуется специфическим расщеплением связи C<sub>2</sub>–C<sub>3</sub> глюкопиранозного кольца, в результате чего образуются две альдегидные группы на элементарное звено. Альдегидные группы целлюлозы, вводимые окислением, могут адсорбировать или связывать вещества, содержащие аминокислоты (например, аминокислоты, белки, ферменты и т.д.) [22, 23].

Цель настоящей работы – подбор условий и получение модифицированной гель-пленки бактериальной целлюлозы без нарушения структуры, а также иммобилизация пепсина и β-галактозидазы на синтезированную матрицу ковалентной сшивкой.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Гель-пленку бактериальной целлюлозы (ГПБЦ) получали культивированием *Glucanacetobacter sucrofermentans* ВКПМ-11267 в стационарных условиях при комнатной температуре в течение семи суток в среде Хестрина–Шрамма [17, 19].

Количество образовавшейся бактериальной целлюлозы определяли весовым методом. Для этого предварительно отмытую целлюлозу помещали на полиэтиленовую пленку и оставляли до высыхания при комнатной температуре, после чего переносили ее в сушильный шкаф и выдерживали при температуре 50°C. Высушивание и взвешивание повторяли до тех пор, пока масса полисахарида не достигала постоянного значения, т.е. колебание массы не превышало значения ±0.0001 г [24].

Окисленную гель-пленку бактериальной целлюлозы получали следующим образом. В склянку из темного стекла с притертой пробкой помещали 0.1 г (0.06 моля) ГПБЦ и заливали 20 мл водного раствора NaIO<sub>4</sub>. Взбалтывали и оставляли в темном месте при температуре от 16 до 20°C.

Затем окисленную ГПБЦ последовательно промывали дистиллированной водой, подкисленной до pH 1, смесью ацетон : вода (1 : 8), ацетоном и несколько раз дистиллированной водой до pH промывных вод ~5.0–5.5. Высушивали окисленную ГПБЦ до постоянной массы при температуре 50°C [25, 26].

Определение образовавшихся альдегидных групп после модификации осуществляли с помощью йодометрического метода. Для этого в коническую колбу с притертой пробкой помещали 10 мл раствора Буры и 20 мл раствора йода. Затем быстро добавляли 0.1 г целлюлозы и закрывали пробкой. Раствор с целлюлозой выдерживали 6 ч при температуре 25°C в термостате, периодически

ски перемешивая. Через 6 ч в колбу добавляли 15 мл 0.1 н. раствора соляной кислоты, избыток йода оттитровывали раствором тиосульфата натрия, прибавляя в конце титрования 2–3 мл раствора крахмала.

Содержание СНО-групп  $\bar{x}$  вычисляли по формуле:

$$\bar{x} = \frac{(V_2 - V_1)K \times 0.013 \times 10}{m} \times 100(\%),$$

где V<sub>2</sub> и V<sub>1</sub> – объем 0.013 н. раствора тиосульфата натрия, израсходованный на титрование в контрольном опыте и в определенном образце соответственно, мл; K – коэффициент поправки для 0.013 н. раствора тиосульфата натрия; значение 0.013 – концентрация раствора тиосульфата натрия, н.; m – масса навески высушенной целлюлозы, г [27].

Эффективность модификации и количество образовавшихся альдегидных групп определяли химическим методом и методом ИК-спектроскопии.

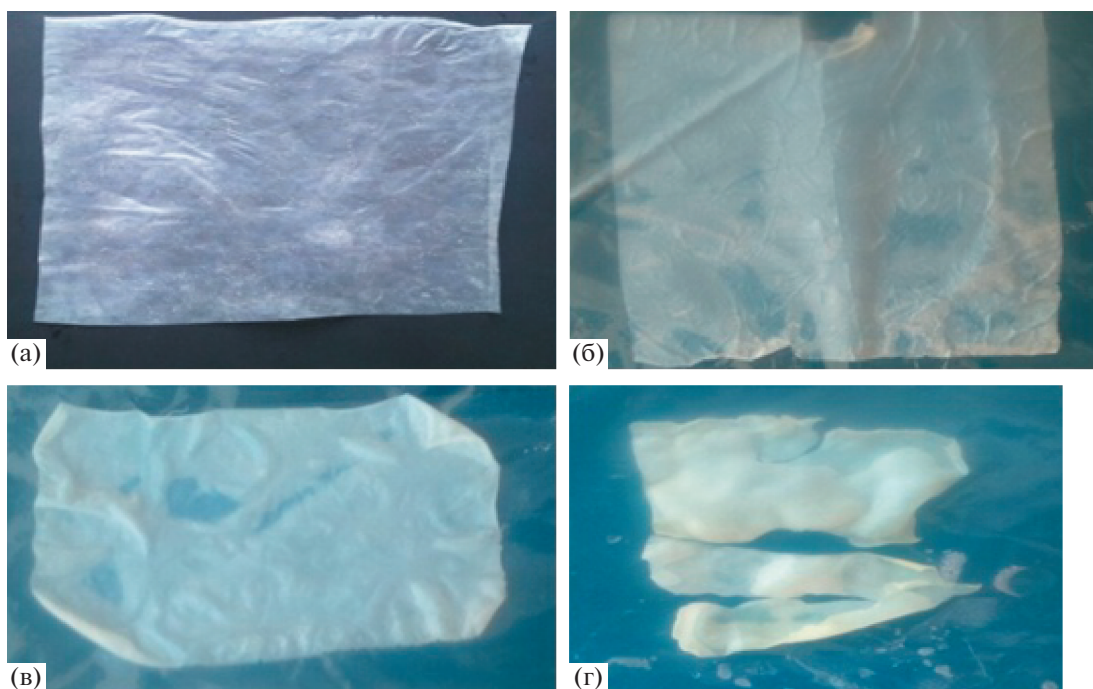
Прочность и растяжение образцов гель-пленки выполняли на универсальной испытательной машине “XLW”, толщину на толщинумере “CHY–C2”, в соответствии со стандартами ISO 4593, ГОСТ 17035–86, ГОСТ 7855–84 (ASTM D645).

Анализируемые образцы в виде полупрозрачных пленок предварительно высушивали, а затем регистрировали спектры поглощения на ИК-фурье-спектрометре “IRPrestige–21” в спектральном диапазоне 450–4500 1/см с шагом 4. Обработку полученных данных проводили при помощи программы “OriginPro2015”.

Количество белка устанавливали по методу Бредфорда по калибровочному графику с сывороточным белком [28].

Иммобилизацию фермента осуществляли следующим образом. 1 мл раствора фермента – пепсина (Pepsin, “Acrosorganics” >= 0.5 Ph. Eur. U/mg) или β-галактозидазы (β-Galactosidase, From *Aspergillus oryzae*, 9.9 units, “Sigma”) в фосфатном буфере с pH 7.0 при концентрации от 0.01 до 0.10 мг/мл белка наносили на кусок исходной и модифицированной ГПБЦ размером 2.5 × 4.0 см (0.027 ± 0.002 г) и толщиной 43–46 мкм в чашке Петри и оставляли при 4°C до высыхания. Для удаления не связавшихся или слабосвязанных ферментов пленки промывали до отсутствия белка в промывных водах. Количество связавшегося с гель-пленкой фермента рассчитывали по разнице между количеством внесенного фермента и его количеством в промывных водах. Образование связей между ферментом и гель-пленкой регистрировали методом ИК-фурье-спектроскопии.

О наличии протеолитической активности и стабильности гель-пленки с пепсином судили по



**Рис. 1.** Внешний вид гель-пленок исходной промытой (а) и после выдержки в 0.5 н. растворе  $\text{NaIO}_4$  в течение 3 (б), 6 (в) и 24 ч (г).

коагуляции молока, а  $\beta$ -галактозидазы – по превращению хромогенного субстрата (5-Bromo-4-chloro-3-indoxyl- $\beta$ -D-Galactopyranoside, “Sigma”). Субстрат разводили в фосфатном буфере (рН 7) 1 : 1. Несколько капель субстрата наносили на пленку, о присутствии пепсина судили по появлению синей окраски. В случае  $\beta$ -галактозидазы от субстрата отщепляется индольная структура, которая спонтанно окисляется и выпадает в виде осадка синего цвета. Это свойство широко используют в молекулярной и клеточной биологии.

Все эксперименты повторяли пятькратно, результаты обрабатывали статистически.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученный продукт представлял собой гель-пленку желтоватого цвета (после очистки от остатков питательной среды и избытка клеток гель-пленка становилась белого цвета) толщиной от 43.0 до 46.6 мкм, поверхность пленки была гладкая, равномерная без уплотнений (рис. 1а). Гель-пленка бактериальной целлюлозы – это полимер, состоящий из остатков D-глюкозы, соединенных между собой  $\beta$ -1,4-гликозидными связями (соотношение сухой полимер : вода около 1 : 100). Гель-пленка – чистый внеклеточный продукт, не содержит лигнина, смол, жиров, восков и не требует отбеливания. ГПБЦ не загрязняет окружающую среду, способна к биоразложению и абсолютна нетоксична. Молекулы бакте-

риальной целлюлозы располагаются строго параллельно друг другу и образуют кристаллические микрофибриллы в 100 раз тоньше микрофибрилл растительной целлюлозы [17, 19, 24].

Исследования показали, что количество образующихся альдегидных групп в модифицированной гель-пленке зависит от времени выдержки и концентрации окислителя (табл. 1). Наибольшее количество альдегидных групп содержали образцы со временем выдержки 24 ч в растворах периодата натрия с концентрацией 0.2 и 0.5 н.

Количество альдегидных групп в модифицированной целлюлозе было установлено при помощи йодометрического метода. Из табл. 1 видно, что увеличение времени выдержки и концентрации окислителя приводит к повышению содержания альдегидных групп.

Результаты табл. 2 свидетельствуют о том, что прочность всех образцов при окислении понижается. Значительное уменьшение прочности продемонстрировал образец, полученный с использованием раствора с концентрацией модификатора 0.5 н. При увеличении времени воздействия окислителя до 24 ч прочностные показатели резко понижались. Как видно на рис. 1б–1г, при длительном окислении пленка становится хрупкой и даже разрушается при незначительном воздействии. С учетом имеющихся данных для иммобилизации ферментов использовалась окисленная ГПБЦ, полученная обработкой 0.5 н. периодатом в течение 6 ч.

**Таблица 1.** Содержание альдегидных групп в зависимости от времени выдержки в модификаторе и его концентрации

Время выдержки, ч	Концентрация NaIO <sub>4</sub> , Н	Толщина пленки, мкм	Содержание альдегидных групп, %
3	0.1	45.1 ± 1.8	9.4
	0.2	33.2 ± 1.5	11.1
	0.5	32.7 ± 1.4	18.5
6	0.1	39.6 ± 2.7	14.4
	0.2	34.9 ± 1.6	18.3
	0.5	35.3 ± 1.9	22.0
24	0.1	30.5 ± 1.2	16.6
	0.2	27.8 ± 1.8	21.6
	0.5	27.2 ± 1.6	22.6
Контроль	—	44.8 ± 1.8	3.0

**Таблица 2.** Влияние продолжительности выдержки и концентрации модификатора на механические свойства ГПБЦ

Время выдержки, ч	Концентрация NaIO <sub>4</sub> , н.	Толщина, мкм	Прочность, МПа	Растяжение, %
Контроль	—	44.8 ± 1.8	52.8 ± 2.6	8.2 ± 0.4
3	0.1	45.1 ± 1.8	51.3 ± 2.8	7.8 ± 0.3
	0.2	33.2 ± 1.5	47.1 ± 2.3	6.4 ± 0.3
	0.5	32.7 ± 1.4	35.5 ± 1.5	6.7 ± 0.4
	0.1	39.6 ± 2.7	49.7 ± 2.3	7.3 ± 0.3
6	0.2	34.9 ± 1.6	44.2 ± 2.2	8.1 ± 0.5
	0.5	35.3 ± 1.9	24.2 ± 1.6	6.4 ± 0.3
	0.1	30.5 ± 1.2	15.2 ± 1.1	5.2 ± 0.3
24	0.2	27.8 ± 1.8	4.1 ± 0.3	4.5 ± 0.3
	0.5	27.2 ± 1.6	1.5 ± 0.1	3.7 ± 0.1

При взаимодействии целлюлозы с периодатом происходит окисление вторичных гидроксильных групп элементарного звена до альдегидных, сопровождающееся разрывом связи между вторым и третьим атомами углерода элементарного звена.

Целлюлоза из древесины или бактериальная целлюлоза, полученная в динамических условиях, представляет собой отдельные фрагменты структуры, не связанные между собой ковалентными связями. Процессы окисления таких фрагментов, в конечном счете, не приводят к полному изменению надмолекулярной структуры.

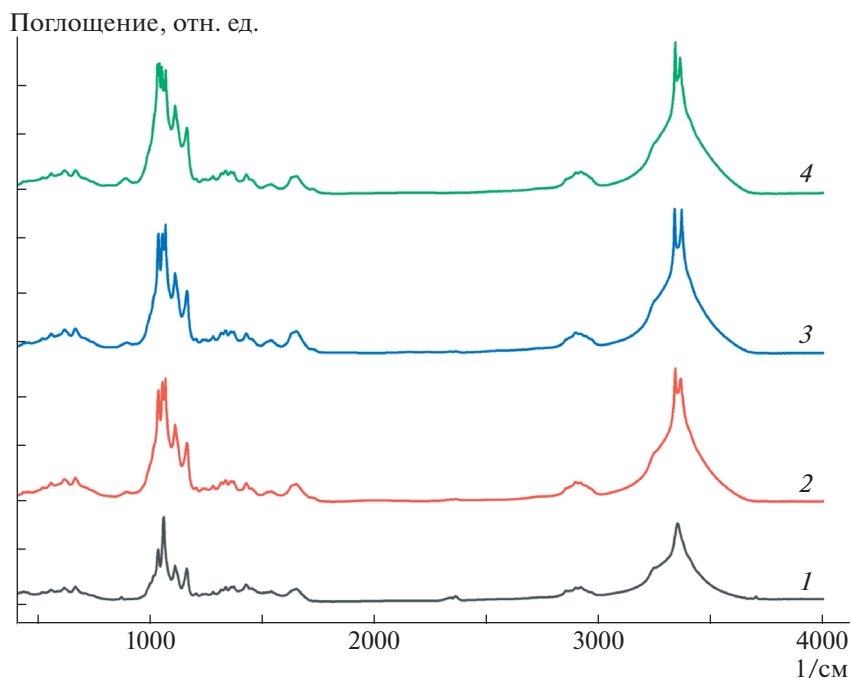
В случае с гель-пленкой, являющейся единой пространственной структурой в виде тесно переплетенных и связанных друг с другом ковалентными связями элементарных звеньев отдельных нитей, все происходит несколько иначе. С увеличением количества разрывов может нарушиться и

даже разрушиться пространственная трехмерная структура гель-пленки.

За счет частичной деструкции целлюлозы, а именно разрыва пиранозного кольца и образования альдегидных групп, нарушается взаимодействие макромолекул целлюлозы, тем самым значительно уменьшаются прочностные характеристики окисленной ГПБЦ и повышается хрупкость пленки, что можно назвать проблемой в дальнейшем ее использовании.

Было проведено сопоставление ИК-спектров контрольных и опытных образцов гель-пленки бактериальной целлюлозы (рис. 2).

В целом ИК-спектры контрольных и опытных образцов подобны, соответствуют ИК-спектрам целлюлозы, представленным в работах [29, 30]. В ИК-спектрах окисленной ГПБЦ, полученной периодатным окислением, наблюдается заметное увеличение интенсивности полосы поглощения в области 750–900 1/см. Эта полоса связана с по-



**Рис. 2.** ИК-спектры исходной ГПБЦ (1) и окисленной ГПБЦ, полученной обработкой ГПБЦ 0.5 н. раствором  $\text{NaIO}_4$  в течение 3 (2), 6 (3) и 24 ч (4).

глошением полуацетальных связей, образование которых обусловлено взаимодействием групп СНО с гидроксильными группами. В образцах окисленной ГПБЦ появляется пик в области 1720–1740  $1/\text{см}$ , который указывает на наличие алифатических альдегидов. Вероятно, альдегидные группы, зафиксированные в этой области, относятся к концевым группам СНО (рис. 2) [31–35].

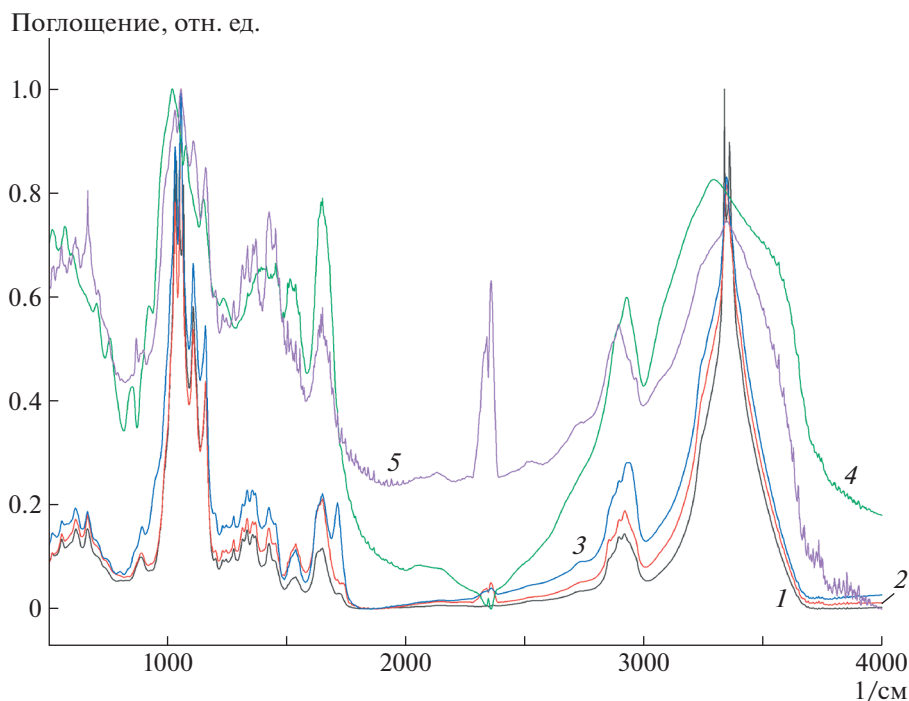
Окисленная ГПБЦ использовалась в качестве носителя для пепсина и  $\beta$ -галактозидазы. Поскольку ожидаемые азометиновые связи между аминогруппами ферментов и диальдегидными группами окисленной ГПБЦ устойчивы в слабощелочной и щелочной среде, то процедура иммобилизации проводилась при рН 7.0 [36, 37]. Полученные образцы были проанализированы ИК-спектроскопическим методом и оценивали наличие фермента по проявлению активности (табл. 3).

Количество иммобилизованных ферментов зависело от концентрации белка в исходном растворе. Наибольшее их количество связывалось с пленкой при концентрации белка в исходном растворе  $70.4 \pm 2.5$  мкг/мл. При использовании пепсина количество максимальное иммобилизованного фермента составило  $21.3 \pm 0.9$  мкг (пепсин) и  $25.9 \pm 1.0$  мкг ( $\beta$ -галактозидазы), при увеличении же концентрации белка в исходном растворе, сверх указанного выше, практически не влияло на количество связанных ферментов. Вероятно, это обусловлено с насыщением активных центров на поверхности пленки. В пересчете на грамм окисленной ГПБЦ, количество связанного

фермента для пепсина составило 727 мкг, а для  $\beta$ -галактозидазы – 862 мкг. Эти результаты согласуются с литературными данными, согласно которым количество иммобилизованного биоактивного препарата на перевязочных материалах обычно составляет менее 1000 мкг на 1 г материала. Например, такие результаты были получены при иммобилизации протеолитических ферментов на текстильные материалы [38, 39]. При одних и тех же условиях количество иммобилизованной  $\beta$ -галактозидазы было больше, чем пепсина. По-

**Таблица 3.** Эффективность иммобилизации ферментов на окисленной ГПБЦ (площадь пленки  $10.5 \pm 0.5$   $\text{см}^2$ , вес  $0.029 \pm 0.001$  г)

Количество фермента в исходном растворе, мкг	Количество иммобилизованного фермента, мкг	
	пепсина	$\beta$ -галактозидазы
$10.5 \pm 0.5$	$4.2 \pm 0.2$	$6.7 \pm 0.4$
$20.3 \pm 0.9$	$6.1 \pm 0.3$	$8.4 \pm 0.5$
$30.2 \pm 1.5$	$7.1 \pm 0.3$	$8.9 \pm 0.5$
$40.4 \pm 1.8$	$8.3 \pm 0.5$	$11.8 \pm 0.5$
$50.2 \pm 1.8$	$14.4 \pm 0.5$	$15.9 \pm 0.8$
$60.1 \pm 2.5$	$20.5 \pm 0.9$	$22.6 \pm 0.9$
$70.4 \pm 2.5$	$21.3 \pm 0.9$	$25.9 \pm 1.0$
$80.6 \pm 3.2$	$22.4 \pm 1.1$	$26.8 \pm 1.0$
$90.3 \pm 3.4$	$23.5 \pm 1.1$	$26.7 \pm 1.5$



**Рис. 3.** ИК-спектры окисленной ГПБЦ, полученной обработкой ГПБЦ 0.5 н. раствором  $\text{NaIO}_4$  в течение 24 ч (1), пепсина (2) и продукта его взаимодействия с окисленной ГПБЦ (3),  $\beta$ -галактозидазы (4) и продукта его взаимодействия с окисленной ГПБЦ (5).

видимому, это обусловлено более низким содержанием свободных аминогрупп в пепсине.

С контрольных не модифицированных гель-пленок ферменты смывались полностью после первой промывки, что свидетельствует об отсутствии или слабой связи белков с пленкой. Пленки окисленной ГПБЦ удерживали ферменты и после промывки. Определение истинной ферментативной активности иммобилизованного на окисленной ГПБЦ белка было затруднено, выделяющимися в результате протеолиза продуктами (белки молока, хромофор), которые сорбируются носителем как за счет ионогенных групп, так и за счет физической сорбции. Поэтому о присутствии ферментов на носителе можно судить качественно. При нанесении на пленку молока происходит его коагуляция за счет иммобилизованного фермента пепсина, появление синей окраски наблюдается при нанесении специфического субстрата на гель-пленку с  $\beta$ -галактозидазой. Соответствующая активность ферментов сохранялась и после промывания.

Для подтверждения образования азометиновой связи при взаимодействии окисленной ГПБЦ с ферментами дано сравнение ИК-спектров исходных и образовавшихся образцов (рис. 3).

Видно, что при иммобилизации ферментов существенно понижается интенсивность пика в области 750–900  $1/\text{см}$ , обусловленное связыванием

групп СНО с аминогруппами. В ИК-спектре образца окисленной ГПБЦ с пепсином (спектр 3) и с  $\beta$ -галактозидазой (спектр 5) появляются полосы при частоте 1660–1670  $1/\text{см}$  соответственно. Согласно литературным данным валентным колебаниям связи  $\text{C}=\text{N}$  в азометинах соответствует полоса 1620–1650  $1/\text{см}$ . Однако в процессе взаимодействия этих связей с окружающими молекулами, полоса поглощения может сместиться, как в нашем случае, в область 1660–1670  $1/\text{см}$  [40].

Согласно работам [36, 38], ковалентные связи с аминогруппами ферментов стабильны и практически не разрушаются при  $\text{pH} > 6.5$ . Известно, что  $\text{pH}$  крови человека, являясь величиной постоянной, может изменять свои значения только в строго обозначенных пределах – от 7.36 до 7.44 (в среднем – 7.4), т.е. имеет слабощелочной характер. Привитые биологические активные соединения не могут диффундировать в биологическую жидкость и вызывать аллергические или другие не желательные реакции организма. Поэтому пленки с иммобилизованными ферментами можно использовать для получения различных перевязочных материалов путем химической иммобилизации различных лекарственных препаратов, имеющих в своем составе аминогруппы. В зависимости от привитого лекарственного средства, такие материалы можно будет использовать в различных областях медицины.



Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (выполнение Госзадания) в рамках научного проекта № FZRS-2020-0003.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Morton L.M., Phillips T.J. // J. Semin. Cutan. Med. Surg. 2012. V. 31. № 1. P. 33.
- Boateng J.S., Matthews K.H., Stevens H.N. // J. Pharm. Sci. 2008. V. 97. P. 2892.
- Юданова Т.Н., Решетов И.В. // Хим.-фарм. журн. 2006. Т. 40. № 8. С. 24.
- Белов А.А., Филатов В.Н., Белова Е.Н., Филатов Н.В. Пат. 2268751 Россия. 2006.
- Белов А.А., Филатов В.Н., Белова Е.Н. Пат. 2323748 Россия. 2008.
- Филатов В.Н., Рыльцев В.В., Макаров В.А., Белозерская Г.Г. Пат. 238011 Россия. 2010.
- Белов А.А., Бурмака В.В., Медушева Е.О., Мельниченко В.И. Пат. 2203684 Россия. 2003.
- Zyu L., Kumar V., Banker G. // AAPS Pharm. Sci. Tech. 2004. V. 5. № 4. P. 145.
- Liu S.A., Cheng S.S., Chen J.S., Huang Y.W., Chen F.J., Chiu Y.T. // J. Chin. Med. Assoc. 2012. V. 75. P. 178.
- Качмазов А.А., Жернов А.А. // Экспериментальная и клиническая урология. 2010. № 4. С. 69.
- Solár P., Suchý P., Muselík J., Vujarová M., Havelka P., Sopuch T. // Ceska a Slovenska Farmacie. 2008. V. 57. № 1. P. 13.
- Hoенich N. // Bioresources. 2006. V. 1. № 2. P. 275.
- Wei B., Yang G., Hong F. // Carbohydr. Polym. 2011. V. 5. № 84. P. 536.
- Громовых Т.И., Садыкова В.С., Луценко С.В., Дмитренко А.С., Фельдман Н.Б., Данильчук Т.Н., Каширин В.В. // Прикл. биохим. микробиол. 2017. Т. 53. № 1. С. 73.
- Grunin L.Y., Grunin Y.B., Talantsev V.I., Nikolskaya E.A., Masas D.C. // Polymer Science A. 2015. V. 57. № 1. P. 43.
- Tkacheva N.I., Morozov S.V., Grigoryev I.A., Loginov D.M., Kolchanov I.A. // Polymer Science B. 2013. V. 55. № 7–8. P. 409.
- Revin V.V., Pestov N.A., Shchankin M.V., Mishkin V.M., Platonov V.I., Petrov P.S., Uglanov D.A. // Biomacromolecules. 2019. V. 20. № 3. P. 1406.
- Кузнецова Т.А., Пестов Н.А., Ревин В.В. // Химия растительного сырья. 2020. Т. 2. С. 315.
- Revin V.V., Liyas'kina E.V., Sapunova N.B., Bogatyreva A.O. // Microbiology. 2020. V. 89. № 1. P. 88.
- Трофимов В.А., Кадималиев Д.А., Ревин В.В., Пузанов С.Ю., Петрова Е.С. Пат. 2659175 Россия. 2018.
- Девятаева А.А., Пестов Н.А. // Материалы науч. конф. "XLVII Огарёвские чтения". Саранск, 2019. С. 12.
- Huanhuan Ge, Liming Zhang, Meng Xu, Jie Cao, Caicai Kang // Lecture Notes Electrical Eng. 2018. V. 444. P. 545.
- Ревин В.В., Лияськина Е.В. Пат. 2523606 Россия. 2014.
- Ревин В.В., Лияськина Е.В., Назаркина М.И. Пат. 2536973 Россия. 2014.
- Эльчепарова С.А. Дис. ... канд. хим. наук. Нальчик: КБГУ, 2014.
- Кадималиев Д.А., Ревин В.В., Леднева Е.В., Герасимова Л.В. Пат. 2720099 Россия. 2020.
- Роговин З.А. Химические превращения и модификация целлюлозы. М.: Химия, 2009.
- Bradford M.M. // Anal Biochem. 1976. V. 72. P. 249.
- Yin X., Koschella A., Heinz Th. // React. Functional Polym. 2009. V. 69. № 6. P. 341.
- Cook J.R. // Monograph "Amine Functionalization of Bacterial Cellulose for Targeted Delivery Applications". Canada, 2013. P. 256.
- Ciolacu D., Ciolacu F., Popu I.V. // Cellulose Chem. Technol. 2011. V. 45. № 1–2. P. 16.
- Applied Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Techniques, Analytical Application / Ed. by A.L. Smith. New York: Wiley, 1979.
- Determining the Structure of Organic Compounds / Eds. by E. Pretsch, P. Bühlmann, C. Affolter. Berlin; Heidelberg; New York: Springer-Verlag, 2006.
- Kristiansen K.A., Potthast A., Christiansen B.E. // Carbohydr. Res. 2010. V. 345. P. 1269.
- Глунова З.А., Жанситов А.А., Эльчепарова С.А., Хаширова С.Ю. // Фундаментальные исследования. Химические науки. 2012. № 11. P. 973.
- Paloma J.M., Fernandez-Lorente G., Mateo C., Ortiz C., Guisan J.M. // Enzyme Microbial Technol. 2002. V. 31. № 6. P. 781.
- House J.L., Anderson E.M., Ward W.K. // J. Diabetes Sci. Technol. 2007. V. 1. № 1. P. 23.
- Белов А.А., Филатов В.Н., Белова Е.Н., Казанская Н.Ф. // Вестн. МГУ. Сер. Химия. 2006. Т. 47. № 2. С. 88.
- Белов А.А., Рыльцев В.В., Игнатюк Т.Е. // Химико-фармацевтический журн. 1992. № 11–12. С. 102.
- Преч Э., Бюльманн Ф., Аффольтер К. ИК- и ЯМР-спектроскопия полимеров / Пер. с англ. под редакцией Г.М. Семенович. М.: Мир, 2006.