

УДК: 544.77+546.2:579.8

DOI: 10.31073/vet\_biotech39-12

**ЦИГАНОВИЧ О.А.**<sup>1,2</sup>, канд. хім. наук, email: elena\_tsyganov@ukr.net,**ПРОКОПЕНКО В.А.**<sup>1,2</sup>, д-р. техн. наук, email: prokop\_va@ukr.net,**ГОРДА Р.В.**<sup>1</sup>, канд. хім. наук, email: ruslana88@ukr.net,**ГОЛОДЮК О.П.**<sup>1</sup>, email: golodyk91@ukr.net,**ХРОКАЛО Л.А.**<sup>2</sup>, канд. біол. наук, email: lkhrokalo@gmail.com,**СІРИК О.О.**<sup>1,3</sup>, канд. хім. наук, email: olena.siryk38@gmail.com<sup>1</sup> Інститут біоколоїдної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України<sup>2</sup> Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»<sup>3</sup> Інститут ветеринарної медицини НААН

## ПЕКТИН, ЯК СТАБІЛІЗАТОР НАНОРОЗМІРНИХ ЗОЛІВ (ВОДНИХ ДИСПЕРСІЙ) СЕЛЕНУ

Нанорозмірні золі селену, з розмірами частинок 80 нм, отримано шляхом відновлення селенітної кислоти аскорбіновою кислотою, з використанням в якості стабілізатора полісахариду – пектину, що біодеградується. Одержані системи охарактеризовано методами УФ спектроскопії (UV-VIS), інфрачервоної спектроскопії (FTIR), скануючої електронної мікроскопії (SEM) та динамічного розсіювання світла (DLS). Показано формування сферичних частинок аморфного наноселену та їх стабілізацію пектином за рахунок експериментально встановленого утворення водневих зв'язків між поверхневими атомами твердої фази та гідрокси- і карбоксильними (функціональними) групами стабілізатора. Досліджено антибактеріальний вплив отриманих композиційних золів на дослідні культури *B.subtilis* та *E.coli* та показано більш виражений інгібуючий вплив золю на *B. Subtilis*.

**Ключові слова:** нанорозмірні частинки селену (SeNP), пектин (Pec), антибактеріальні властивості, *B.subtilis*, *E.coli*.

**Вступ.** Кардинальна зміна властивостей речовини при переході в нанометровий діапазон дає широкі можливості для отримання матеріалів з унікальними відтворюваними властивостями для потреб різних галузей [1], зокрема нанохімії, нанобіології та наномедицини.

Особливу зацікавленість у вказаних галузях останнім часом викликають наночастинки селену [2, 3] – мікроелементу, який відіграє життєво-важливу роль у живих організмах, як складова селензалежних білків, число яких більше 20. Це глутатіон-пероксидази, тіоредоксин-редуктази, тиреоїддейодинази та ряду інших селенопротеїнів. Глутатіон-пероксидази є основними ферментами антиоксидантного захисту. Їх функцією є підтримка стабільної

внутрішньоклітинної концентрації відновленого глутатіону [4]. Як відомо, нестача селену в їжі може стати чинником розвитку міодистрофії, остеопорозу, ураження серця, печінки, підшлункової залози; велике значення надається ролі дефіциту селену в організмі у виникненні нейродегенеративних захворювань. Надзвичайно важливу роль селену відіграє у функціонуванні імунної системи, інша його важлива роль полягає у антагонізмі з важкими металами [4–6]. Також існує зворотно пропорційна залежність між вмістом селену в навколишньому середовищі і частотою ураження населення злоякісними новоутвореннями [5], а також, дефіцит селену може бути тригером в етіопатогенезі епілепсії.

Основною харчовою формою селену (як БАД) на даний момент є селенометіонін, який має значно більшу біологічну активність по відношенню до неорганічних іонних форм селену. Проте, найбільш цікавим і перспективним напрямком є розробка методик отримання і застосування нанорозмірного селену (SeNP), який, при не меншій біологічній активності, характеризується значно меншою токсичністю, порівняно з іншими формами. Це при потребі дозволяє його застосувати в підвищених дозах. При цьому, для SeNP також характерний розмірний ефект, який полягає в тому, що частинки менших розмірів більш біологічно активні та краще накопичуються в тканинах [2, 4, 6].

При онкологічних захворюваннях характерним є накопичування селену в пухлинах [5], при цьому його вміст в рази може перевищувати норму. Експериментально показано більшу селективність наночастинок селену у відношенні нормальних і ракових клітин, ніж, наприклад, Se(IV). Це може бути використано для векторної доставки лікарських препаратів, для посилення їх терапевтичної дії, а також можливого синергізму в онкотерапії [6]. Також варто відмітити пролонговану дію наночастинок металів. При цьому, з одного боку, для медицини є важливим, щоб нанооб'єкт мав розміри, що дозволяють йому проходити крізь пори стінок капілярів розміром 100–200 нм. З іншого, доцільно використовувати нанооб'єкти розмірами до 500–1000 нм, оскільки такі носії лікарської речовини не матимуть змоги проникати крізь ендотеліальні клітини капілярів нормальної тканини, проте легко проникатимуть через ендотелій злоякісної [1]. Однак, це залежить від поставлених цілей, завдань і механізмів, згідно яких передбачається впливати на ті чи інші процеси.

Оскільки нанорозмірні частинки за відсутності стабілізаторів являють собою типові ліофобні колоїди, і є нестійкими, для їх стабілізації використовують речовини, що підвищують їх стійкість. Серед них найбільше значення мають високомолекулярні сполуки [7]. В ході процесу відновлення іонів селену в розчинах полімерів проходять процеси утворення наночастинок селену з вузьким унімодальним розподілом за розмірами та адсорбція на них макромолекул, що призводить до зниження поверхневого натягу, гальмування

росту наночастинок та їх стабілізації. В результаті стабілізації, поверхня наночастинок покривається суцільним шаром сольватованих полімерних ланцюгів, і такі стабілізовані частинки складаються із ліофобного ядра та ліофільної оболонки. Утворюються сферичні наноструктури з високою молекулярною масою, значною щільністю та різноманітною морфологією [7–10]. Так, в роботах [7, 8] досліджено кінетику самоорганізації наносистем на основі полімерних матриць різної природи та наночастинок аморфного селену ( $\alpha\text{-Se}^0$ ), в ході їх отримання шляхом відновлення селенітної кислоти аскорбіновою кислотою, та встановлено, що природа полімерної матриці суттєво впливає на процес самоорганізації наноструктур та на їх розміри. Показано, що в області насичення адсорбційної ємності наночастинок селену утворюються стійкі селен-полімерні наноструктури сферичної форми. Наночастинки селену, отримані за відсутності полімерного стабілізатора, за тих же умов, характеризуються більшими розмірами з початково вузьким унімодальним розподілом за розмірами, однак протягом двох діб розподіл стає бімодальним і широким, проходить процес агрегації частинок. При використанні ж, наприклад, в якості полімерного стабілізатора полі-2-акриламід-2-метилпропансульфоїкислоти формуються частинки менших розмірів, порівняно з системою без стабілізатора, та тенденції до агрегації не спостерігається досить довгий час [7]. На основі експериментальних даних, авторами було оцінено радіус селенового ядра наночастинок, отриманих в присутності стабілізаторів полі-2-акриламід-2-метилпропансульфоїкислоти і дезоксирибонуклеїнової кислоти, що складає відповідно 9 нм і 12 нм, товщина полімерної оболонки в водному розчині складає близько 80–90 нм.

Аналогічні закономірності формування, стабілізації та подібні розмірні залежності спостерігалися у системі селенітна кислота – аскорбінова кислота у водних розчинах, в присутності оксіетилцелюлози, метилцелюлози та карбоксиметилцелюлози [11].

Одним із напрямків отримання наночастинок селену та їх стабілізації, є відновлення розчину селенітної кислоти аскорбіновою кислотою в присутності полісахаридів, таких як декстрин, глюкоманан, карбоксиметилцелюлоза, гуміарабік [6, 12]. В молекулярній структурі полісахаридів є реакційні аміно-, гідроксильні чи карбоксильні групи, які можуть суттєво впливати на процеси формування, стабілізацію та ріст наночастинок селену [6, 12].

При цьому, поєднання методів хімічного і «зеленого» синтезу, з використанням в якості відновників або стабілізаторів речовин природного походження, є багатообіцяючим для підвищення біологічної активності і рівня безпечності та, при цьому, розробки найбільш ефективних методик отримання наночастинок селену.

Так звані «зелені полімери» – полімери природного походження, які мають низьку токсичність та імуногенність, біосумісні, біодеградабельні, є гарними варіантами адсорбційних полімерів для стабілізації наночастинок. При цьому, часто вони самі мають певні фармацевтичні властивості.

S.Y. Zhang та ін. [12] було досліджено синтез наночастинок селену відновленням селенітної кислоти аскорбіновою кислотою, в присутності таких полісахаридів, як хітозан, глюкоманан конняку, гуміарабік, та карбоксиметилцелюлоза. Так, зокрема, хітозан проявляє антиракові, антибактеріальні та імуностимулюючі властивості. Отримані за кімнатної температури, в присутності вищезазначених полісахаридів, сферичні монодисперсні наночастинок селену були стійкими в розчинах мінімум шість місяців. Отримані частинки мали розміри близько 10 нм. Дозрівання цих дисперсій при 80 °С чи ультразвуковій обробці приводило до зміни форми, та утворення, зокрема, стрижнеподібних частинок. При цьому частинки, отримані в присутності суміші двох стабілізаторів – хітозану та карбоксиметилцелюлози, зберігали сферичну форму та розміри близько 10 нм, не залежно від умов дозрівання, що демонструє роль реакційних груп полісахаридів. В даному випадку - аміногруп хітозану та карбоксильних груп карбоксиметилцелюлози. Ці результати переконливо свідчать про вплив природи стабілізатора на морфологію частинок.

Сферичні наночастинок селену (20–30 нм), стабілізовані декстрином, були отримані авторами [13], шляхом відновлення натрій селеніту аскорбіновою кислотою за кімнатної температури. В роботах [14] та [15], для стабілізації наночастинок селену було використано гуміарабік та декстран, відповідно. АН. Wu зі співавторами [16] використовували грибні полісахариди для модифікування наночастинок селену.

В той же час, не настільки широко дослідженим та, водночас, цікавим виглядає використання в якості стабілізатора наночастинок селену пектину - полісахариду, що складається із залишків D-галактуронової кислоти, що мають піранозну конфігурацію, з'єднаних 1,4-L-глікозидним зв'язком, та містить гідроксильні, карбоксильні та складноефірні групи [17]. В харчовій промисловості пектин використовується в якості желюючого інгредієнту та стабілізатору харчових продуктів, а також входить до складу біологічно активних добавок в фармакології. Пектин є біосумісним, нетоксичним та широко вживаним полісахаридом, що робить його цікавим варіантом для використання в якості стабілізатора [18]. В ряді робіт пектин використовували для отримання наночастинок золота, срібла та оксиду цинку [19–22]. В роботі [22] I. Niga та ін. отримали нанокмпозит пектин-гуміарабік-оксид цинку з розміром частинок 50–70 нм, який було використано в якості імуномодулятора

для підсилення дії лімфоцитів периферичної крові на ракові клітини. Як зазначають автори, комбінація біополімерів та біомакромолекул з неорганічними матеріалами утворює нанокompозити та біокompозити, які відрізняються кращими властивостями від кожного з компонентів. Їм притаманні антиоксидантні властивості і вони можуть викликати апоптоз ракових клітин. В той же час пектин сам має імуномодулюючі властивості та може інгібувати ріст ракових клітин. W.Y. Qiu та ін. [18] було використано пектин для отримання стабілізованих наночастинок селену. Наночастинки отримували шляхом відновлення селеніту натрію аскорбіновою кислотою в присутності цитрусового пектину. Дослідження співвідношення масових концентрацій селену та пектину показало, що формування найменших за розміром (~ 41 нм) та найбільш стабільних сферичних наночастинок селену, стабілізованих пектином, відбувається при співвідношенні, відповідно, 1:2, в той час як в системі без пектину утворені наночастинок селену були нестабільними та швидко агрегували. Дослідження показало високу антиоксидантну активність та низьку цитотоксичність отриманих наночастинок стосовно деяких ракових та нормальних клітин людської крові, що дозволяє авторам вважати пектин ефективним стабілізатором наночастинок селену, для досягнення їх стабільності та покращення антиоксидантних властивостей.

Раніше [23], нами було отримано та охарактеризовано золь аморфного селену з розміром частинок до 100 нм, з використанням в якості стабілізатора біодеградуючого полімеру полівінілпіролідону. Полівінілпіролідон має дезінтоксикаційну дію, є широко вживаним у медичних цілях, зокрема, в формі фармацевтичного препарату Ентеродез, використовується в якості сорбенту при гострих інфекційних захворюваннях шлунково-кишкового тракту та інтоксикаціях іншої природи; використовується для локальної антимікробної терапії в ортопедії та травматології, для профілактики та лікування періпротезної інфекції [24].

**Метою** даної роботи є синтез наночастинок селену, з використанням яблучного пектину в якості стабілізатора та диспергуючого агенту, в редокс системі селенітна кислота - аскорбінова кислота, їх характеристика, та дослідження впливу на ріст деяких культур мікроорганізмів. Перевагою застосування саме яблучного пектину серед його інших видів, а також інших видів природних полісахаридів, є покращені комплексоутворюючі властивості через нижчий ступінь етерифікації макромолекул (зокрема, для яблучного пектину він становить 50%, для цитрусового – 63%), що сприяє посиленню здатності молекул пектину до взаємодії з колоїдними частинками золів [25]. Крім того, поєднання властивостей двох унікальних біологічно активних компонентів – природної полісахаридної матриці і наночастинок селену –

може бути особливо продуктивним для застосування в медичній практиці. Стабілізація пектином при використанні таких систем, наприклад, як біологічно активної добавки (капсулювання частинок) – це ефективний шлях доставки частинок в клітини, підвищує їх утримання, що значно знижує ризик пошкодження ДНК.

**Матеріали і методи досліджень.** Синтез наночастинок селену було виконано за удосконаленою методикою в Інституті біоколоїдної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України у вигляді золів за вихідної концентрації за селеном – 0,4 г/л. Синтез SeNP проводили шляхом відновлення селенітної кислоти аскорбіновою кислотою в присутності стабілізатора – яблучного пектину (Pec).

Дослідження оптичних властивостей одержаних систем проводили методом ультрафіолетового абсорбційного спектрального аналізу (UV-VIS), у якості розчину порівняння використовували розчин пектину з аскорбіновою кислотою. Аналіз складу та будови одержаних наночастинок проводили з використанням *інфрачервоного Фур'є-спектрометра* IRAffinity-1S (Shimadzu, Японія) з приставкою порушеного повного внутрішнього відбивання Quest Single Reflection ATR Accessory P/N GS10800 у ближньому інфрачервоному діапазоні та діапазоні видимого спектра в інтервалі частот в області 4000–400 см<sup>-1</sup>. Електронні мікрофотографії отримували з використанням скануючого електронного мікроскопу TESCAN MIRA3. Інформацію щодо розподілу частинок розміром одержували методом динамічного розсіювання світла на аналізаторі Zetasizer Nano S при 25<sup>0</sup>С.

Дослідження впливу золів селену на ростову активність бактерій *E. coli* та *B. subtilis*, проводили в НТУУ «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» наступним чином: у флакони вносили 2 мл м'ясо-пептонного бульйону (МПБ), 2 мл бактеріального інокуляту та 2 мл золю або води (в контрольні флакони). Контрольні та дослідні флакони з культурами та наночастинами селену, культивували при температурі 36<sup>0</sup>С упродовж 24 годин. Після інкубації проводили візуальний контроль вмісту флаконів та визначали оптичну густину при 540 нм на фотоелектроколориметрі КФК-2. В якості контролю проводили висів культур на тверді середовища (діагностичне середовище Ендо та поживний агар (ТУ 10-02-02-789-176-94)).

**Результати досліджень та їх обговорення.** В ході експериментальної роботи було отримано наночастинок селену методом хімічного синтезу, із застосуванням «зелених» прекурсорів. Частинок отримували шляхом відновлення селенітної кислоти аскорбіновою кислотою з використанням яблучного пектину в якості стабілізуючого агента. Аскорбінова кислота, в свою чергу, є важливим вітаміном, що володіє антиоксидантними властивостями, та

бере участь у ряді метаболічних процесів в організмі. Також часто використовується в якості додаткового компоненту до продуктів харчування чи фармацевтичних препаратів.

UV-VIS спектр забарвленого в цегляно-червоний колір одержаного колоїдного розчину демонструє широкий максимум смуги поглинання в області 300-350 нм, що свідчить про утворення аморфного наноселену [26].

В ряді досліджень [18, 27, 28] показано, що стабілізуюча дія полісахаридів на наночастинки селену, яка результується в утворенні стабільних золів високої дисперсності, реалізується за рахунок взаємодії між гідроксильними групами полісахариду та наночастинками селену.

Методом FTIR-спектроскопії проводились аналіз складу і будови отриманих наночастинок селену стабілізованих пектином (SeNP-Рес), оцінка міжмолекулярних взаємодій та вірогідного механізму стабілізації у системі SeNP-Рес. Інфрачервоні спектри еталонного розчину пектину і розчину SeNP-Рес наведені на рис. 1.

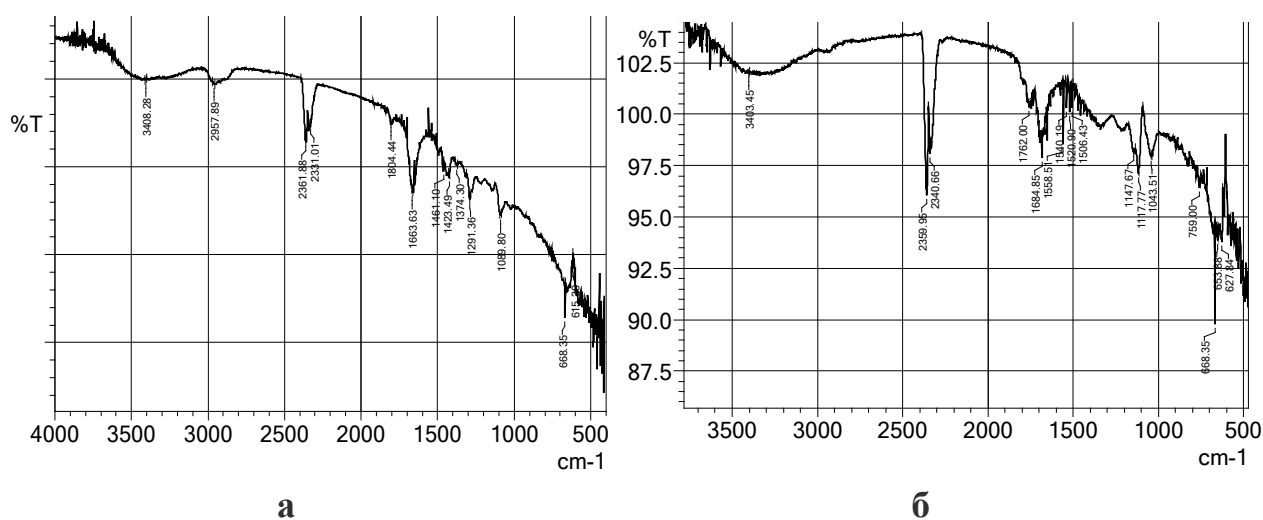
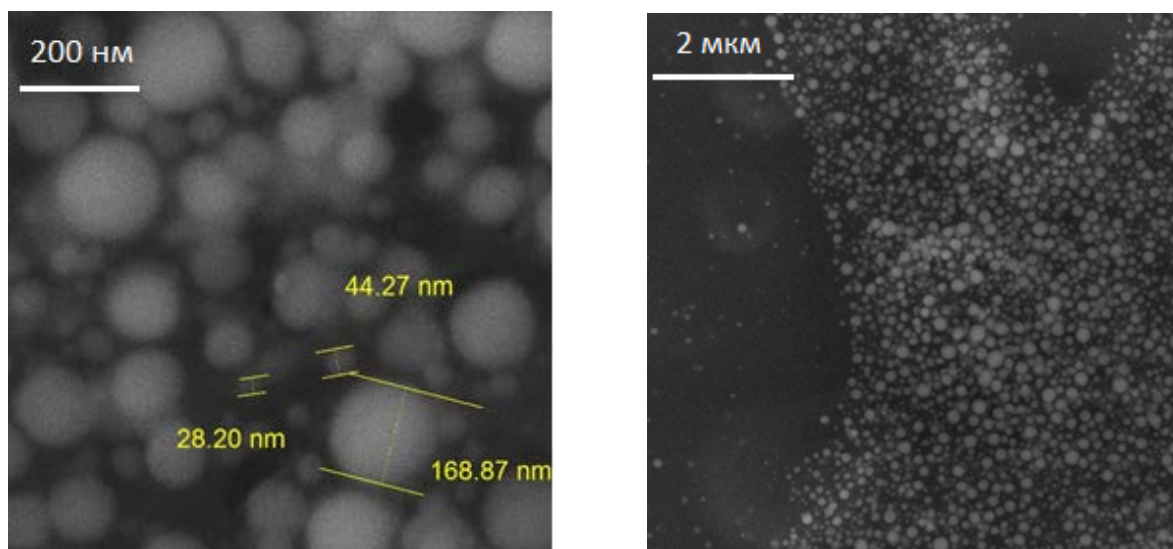


Рис. 1. Інфрачервоні спектри Рес (а) і SeNP-Рес (б).

В ІЧ-спектрі пектину наявна смуга поглинання в області  $2350\text{ cm}^{-1}$  – характерна для коливань ОН димерів карбонових кислот,  $1760\text{ cm}^{-1}$  – для недисоційованих і метильованих карбоксильних груп, смуга поглинання в області  $1680\text{ cm}^{-1}$  відповідає коливанням іонізованих карбоксильних груп, а в області  $1115\text{ cm}^{-1}$  – коливанням піранозних циклів пектинових полісахаридів [17, 29, 30]. В ІЧ-спектрі SeNP-Рес (рис. 1б) отримані подібні смуги поглинання в області  $3403\text{ cm}^{-1}$  (валентні коливання ОН-груп мономерів карбонових кислот),  $2360\text{--}2340\text{ cm}^{-1}$ ,  $1762\text{ cm}^{-1}$ ,  $1650\text{--}1550\text{ cm}^{-1}$  та  $1150\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ , що свідчить про формування наночастинок селену стабілізованих пектином. Згідно даних [30] молекула пектину містить ланки галактуронової кислоти в неіонізованій

формі у вигляді метилового ефіру, всі гідроксильні і карбоксильні групи утворюють єдину систему водневих зв'язків, найбільш міцний зв'язок утворюють іонізовані карбоксильні групи. Неіонізовані карбоксилі взаємодіють між собою по типу димерів карбонових кислот. Основна маса метильних груп у зразках пектину – складноефірні. При цьому, інтенсивна широка асиметрична смуга гідроксильних груп пектинових речовин (в спектрі SeNP-Рес область  $3460-3300\text{ см}^{-1}$ ), які зміщені в низькочастотну область, порівняно з гідроксильними групами води, пояснюється участю гідроксильних груп в системі Н-зв'язків. Також, як видно з рис. 1(б), відповідно до інтенсивності смуг поглинання, переважаючою у структурі SeNP-Рес є кількість іонізованих карбоксильних груп (область  $1680-1650\text{ см}^{-1}$ ), порівняно з неіонізованими ( $1762\text{ см}^{-1}$ ). При порівнянні спектрів Рес та SeNP-Рес видно появу характеристичної смуги поглинання  $3403\text{ см}^{-1}$ , обумовленої коливанням гідроксильних груп, що означає виникнення міцного водневого зв'язку між гідроксильними групами пектину та наночастинками селену. Таким чином, можна зробити висновок, що процес стабілізації наночастинок селену проходить за рахунок утворення водневих зв'язків за участю гідроксильних та карбоксильних груп молекул пектину.

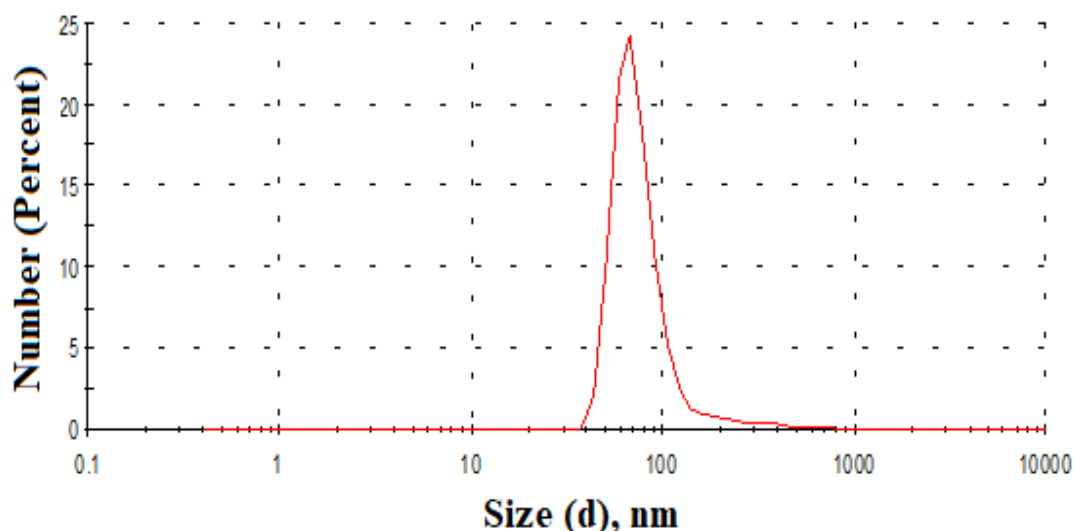
На рис. 2 показано фотографії наночастинок селену, отримані методом скануючої електронної мікроскопії. Частинки мають сферичну форму та розміри близько 100 нм.



**Рис. 2. SEM-зображення отриманих наночастинок селену.**



Розмір частинок SeNP-Рес було підтверджено методом динамічного аналізу розсіяного світла. Криву розподілу наночастинок селену, стабілізованих пектином, за їх кількістю, показано на рис. 3. Крива характеризується наявністю одного високого піка, що свідчить про вузький розподіл наночастинок за розмірами, який становить близько 80 нм відповідно.



**Рис. 3. Крива розподілу наночастинок Se за їх кількістю.**

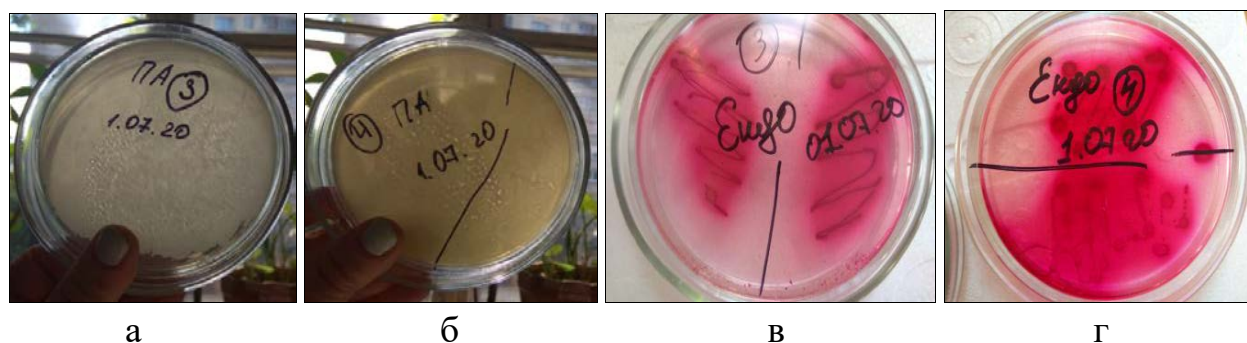
Дослідження впливу золів селену (за вихідної концентрації за селеном – 0,4 г/дм<sup>3</sup>), стабілізованих пектином, на ростову активність бактерій *E. coli* та *B. subtilis*, показало, що випробувані золі не проявляють бактерицидних властивостей, однак проявляють інгібуючу дію на ріст культур. При цьому, ріст *E. coli* при дії обох золів у середньому знижувався на 20%, в той час як ріст *B. subtilis* золь № 3 знизив на 60%, а золь № 4 на 39%.

Таблиця 1

**Оптична густина зразків та контрольних пробірок,  $\lambda = 540$  нм,  $l = 5$  мм**

Культура	Оптична густина		
	Контроль	№ 3	№ 4
<i>Escherichia coli</i>	0,44±0,01	0,32±0,01	0,375±0,025
<i>Bacillus subtilis</i>	0,44±0,01	0,17±0,01	0,27±0,01

Контрольні висіви на тверді середовища (рис. 4) підтвердили відсутність бактерицидної дії (на кожній чашці Петрі спостерігали ріст бактерій (*B. Subtilis* – ріст безбарвних колоній на МПА; *E. coli* – ріст колоній з металевим блиском і почервонінням середовища Ендо під ними)).



**Рис. 4. Контрольні висіви штрихом на тверді середовища: діагностичне середовище поживний агар (для *B. subtilis*) (а, б) та Ендо (для *E. coli*) (в, г).**

Також було перевірено можливість росту культур бактерій на золях за відсутності поживних середовищ. Для цього в пробірки з 5 мл золів вносили по 2 петлі (діаметр 3 мм) рідкої культури кожної з бактерій. Інкубували серію пробірок разом з контрольними (по 5 мл золів) за 36°C протягом 24 годин. Результати показали, що в чистих золях ріст бактерій не відбувається.

Вірогідно, можна провести аналогію отриманих даних з рядом досліджень цитотоксичності [18], де припускається залежність цитотоксичності від форми, розмірів та поверхневої модифікації наночастинок селену. Зокрема, в роботі [31] частинки кубічної форми, стабілізовані комбінацією фолієва кислота-галієва кислота-N,N,N-триметил хітозан проявили гарну антиканцерну ефективність та поглинання хворими клітинами, і, при цьому, низьку токсичність по відношенню до здорових клітин, в той час як наночастинок селену сферичної форми, стабілізовані пектином чи бета-лактоглобуліном, чи наночастинок селену біогенного походження проявляли порівняно низьку цитотоксичність як до хворих, так і до здорових клітин [18]. По аналогії, можна говорити про те, що модифікація пектином, та наявність за рахунок цього на поверхні частинок гідроксильних та карбоксильних груп, обумовлює низькі бактерицидні властивості отриманих золів.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** Запропоновано метод хімічного синтезу наночастинок селену у вигляді агрегативно стійких водних золів з використанням «зелених» прекурсорів. В його основі полягає відновлення селенітної кислоти аскорбіновою кислотою. Як агент, що функціоналізує одержані наночастинок і стабілізує утворені дисперсії, використано яблучний пектин – полісахарид, з підвищеними комплексоутворюючими властивостями. Показано, що взаємодія його молекул з поверхнею частинок забезпечується за рахунок утворення водневих зв'язків. Розмір одержаних сферичних наночастинок з аморфною структурою, модифікованих біомолекулами пектину, складає 80–100 нм.

Капсулювання наночастинок селену макромолекулами пектину визначило особливості їх взаємодії з бактеріальним середовищем. Показано, що одержані дисперсії наночастинок не проявляють бактерицидної дії відносно досліджених культур *B. subtilis* та *E. coli*, проте інгібують їх ріст і рідкому середовищі, при цьому більш виражений інгібуючий вплив золю було виявлено на сінну паличку *B. Subtilis*.

Разом з тим, літературні та експериментальні дані дозволяють зробити висновок про низьку загальну токсичність одержаних наночастинок селену такого складу, розмірів і структури. Цей факт може бути корисним при подальшому використанні цих дисперсій для створення харчових добавок або імунобіологічних препаратів.

Використання біодеградуючих природних макромолекул типу пектинів в якості модифікуючих агентів з одержанням функціоналізованих наночастинок селену можуть бути використані в спробах поєднання двох процесів: запобігання агрегування частинок, що формуються, і спрямованого використання біофункціональних систем. Цей новий напрямок і самі системи привернули увагу дослідників порівняно недавно і можуть знайти широке застосування.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Микитюк М.В. Наночастинки та перспективи їх застосування в біології і медицині / М.В. Микитюк // Проблеми екології та медицини. – 2011. – Т. 15. – № 5-6. – С. 41–49.
2. Сучасний стан досліджень з формування наночастинок селену та їх використання в медицині / З.Р. Ульберг, В.А. Прокопенко, О.А. Циганович [та ін.] // Хімія, фізика та технологія поверхні. – 2020. – Т. 11. – № 3. – С. 347–367. <https://doi.org/10.15407/hftp11.03.347>.
3. Нанорозмірні частинки селену – перспективний терапевтичний агент з широким спектром дії для потреб ветеринарії (оглядова стаття) / О.О. Сірик, О.А. Циганович, В.А. Прокопенко [та ін.] // Ветеринарна біотехнологія. – 2020. – Вип. 36. – С. 155–165. [https://doi.org/10.31073/vet\\_biotech36-16](https://doi.org/10.31073/vet_biotech36-16).
4. Громова О.А. Селен – впечатляющие итоги и перспективы применения / О.А. Громова, И.В. Гоголева // Трудный пациент. – 2007. – № 14. – Т. 5. – С. 25–30.
5. Селен. Некоторые аспекты химии, экологии и участия в развитии патологии. (Обзор) / В.В. Вапиров., М.Э. Шубина, Н.В. Вапирова [и др.] // Рукопись депонирована в ВИНТИ (ГЦМНБ). – 2002. – № Д-26993. – 74 с.
6. Nano-selenium and its nanomedicine applications: a critical review / В. Hosnedlova, М.Керпінська, S. Skalickova [et al.] // International journal of nanomedicine. – 2018. – Vol. 13. – P. 2107–2128. <https://doi.org/10.2147/IJN.S157541>.
7. Валуева С.В. Самоорганизация, морфология и термодинамические характеристики селенсодержащих наноструктур на основе сильных поликислот / С.В. Валуева, Л.Н. Боровикова // Бутлеровские сообщения. – 2010. – Т.20. – №5. – С. 52–61.

8. Самоорганизация и структура селенсодержащих биологически активных наносистем / С.В. Валуева, Т.Е. Суханова, Л.Н. Боровикова [и др.] // Структура и динамика молекулярных систем. – 2011. – №10. – С. 3–11.

9. Влияние молекулярной массы полимерной матрицы на морфологические характеристики селенсодержащих наноструктур и на их устойчивость к воздействию гидродинамического поля / С.В. Валуева, А.И. Киппер, В.В. Копейкин [и др.] // Высокомолекулярные соединения, Серия А. – 2005. – Т. 47. – № 3. – С. 438–443.

10. Самоорганизация молекул поли-2-акриламидо-2-метилпропансульфонокислоты и додецилсульфата натрия на наночастицах нульвалентного селена / В.В. Копейкин, С.В. Валуева, А.И. Киппер [и др.] // Высокомолекулярные соединения, Серия А. – 2003. – Т. 45. – № 6. – С. 963–969.

11. Изучение процессов формирования и морфологических характеристик селенсодержащих наноструктур на основе жесткоцепных молекул производных целлюлозы / С.В. Валуева, А.И. Киппер, В.В. Копейкин [и др.] // Высокомолекулярные соединения, Серия А. – 2006. – Т. 48. – № 8. – С. 1403–1409.

12. Synthesis of selenium nanoparticles in the presence of polysaccharides / S.Y. Zhang, J. Zhang, H.Y. Wang [et al.] // Mater Lett. – 2004. – 58(21). – P. 2590–2594. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2004.03.031>.

13. Malhotra S. A superficial synthesis of selenium nanospheres using wet chemical approach / S. Malhotra, N. Jha, K. Desai // Int. J. Nanotechnol. Appl. – 2014. – Vol. 3 – P. 7–14.

14. Synthesis and antioxidant properties of gum arabic-stabilized selenium nanoparticles / H. Kong, J. Yang, Y. Zhang [et al.] // Int. J. Biol. Macromol. – 2014. – Vol. 65. – P. 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.01.011>.

15. Synthesis of dextran/Se nanocomposites for nanomedicine application / Y. Shen, X. Wang, A. Xie [et al.] // Mater .Chem. Phys. – 2008. –Vol. 109. – P. 534–540. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2008.01.016>.

16. Surface decoration of selenium nanoparticles by mushroom polysaccharides–protein complexes to achieve enhanced cellular uptake and antiproliferative activity / H. Wu, X. Li, W. Liu [et al.] // J. Mater. Chem. – 2012. – Vol. 22. – P. 9602–9610. <https://doi.org/10.1039/C2JM16828F>.

17. Исследование функциональных свойств облепихового пектина / А.М. Золотарева, Т.Ф. Чиркина, Д.Ц. Цыбикова [и др.] // Химия растительного сырья. – 1998. – №1. – С. 29–32.

18. Construction, stability, and enhanced antioxidant activity of pectindecorated selenium nanoparticles / W.Y. Qiu, Y.Y. Wang, M. Wang [et al.] // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2018. – Vol. 170. – P. 692–700. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.07.003>.

19. Ahmed H.B. Heatless synthesis of well dispersible Au nanoparticles using pectin biopolymer / H.B. Ahmed, M.K. Zahran, H.E. Emam // International Journal of Biological Macromolecules. – 2016. – V. 91. – P. 208–219. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.05.060>.

20. Shi L. Preparation of Pectin-ZnO Nanocomposite / L. Shi, S. Gunasekaran // Nanoscale Res. Lett. –2008. – Vol. 3. – P. 491–495. <https://doi.org/10.1007/s11671-008-9185-6>.

21. Zahran M.K. Facile size-regulated synthesis of silver nanoparticles using pectin / M.K. Zahran, H.B. Ahmed, M.H. El-Rafie // Carbohydr. Polym. – 2014. – Vol. 111. – P. 971–978. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.05.028>.

22. Pectin-guar gum-zinc oxide nanocomposite enhances human lymphocytes cytotoxicity towards lung and breast carcinomas / I. Hira, A. Kumar, R. Kumari [et al.] // Materials Science and

Engineering: Materials for Biological Applications. – 2018. – № 1. – Vol. 90. – P. 494–503. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.04.085>.

23. Нанорозмірні частинки селену, стабілізовані полівінілпіролідом та їх антибактеріальна активність / О.А. Циганович, Л.А. Хрокало, О.О. Сірик [та ін.] // Ветеринарна біотехнологія. – 2020. – Вип. 37. – С. 108–118. [https://doi.org/10.31073/vet\\_biotech37-11](https://doi.org/10.31073/vet_biotech37-11).

24. Свойства поливинилпирролидоновых гелей после стерилизующих воздействий / О.А. Легонькова, В.Г. Васильев, С.А. Божкова [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2019. – Т. 22. – № 11. – С. 19–24. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-11-03>.

25. Панова Э.П. Наноконпозиты на основе серебра и пектиновых веществ / Э.П. Панова, Г.Н. Кацева // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского, Серия «Биология, химия». – 2012. – Т. 25 (64). – № 3. – С. 309–315.

26. Структурно-морфологические и биологические свойства наночастиц селена, стабилизированных бычьим сывороточным альбумином / С.В. Валуева, Л.Н. Боровикова, В.В. Коренева [и др.] // Журнал физической химии. – 2007. – Т. 81. – № 7. – С. 1329–1333.

27. Zhang Y. Creation of highly stable selenium nanoparticles capped with hyperbranched polysaccharide in water / Y. Zhang, J. Wang, L. Zhang // Langmuir. – 2010. – Vol. 26(22). – P. 17617–17623. <https://doi.org/10.1021/la1033959>.

28. Construction of a Cordyceps sinensis exopolysaccharide-conjugated selenium nanoparticles and enhancement of their antioxidant activities / Y. Xiao, Q. Huang, Z. Zheng [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. – 2017. – Vol. 99. – P. 483–491. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.016>.

29. Исследование ИК-Фурье спектров пектина тыквы / С.Р. Усманова, А.С. Джонмуродов, Х.И. Назирова [и др.] // Материалы 12 Нумановские чтения посвящ. 55 летию со дня рождения д.х.н., профессора Куканиева М.А. – Душанбе. – 2015. – С. 143–145.

30. Хатко З.Н. Инфракрасные спектры свекловичного пектина / З.Н. Хатко // Новые технологии. – 2008. – Вып. 5. – С. 39–46.

31. Luesakul U. Shape-controlled synthesis of cubic-like selenium nanoparticles via the self-assembly method / U. Luesakul, S. Komenek, S. Puthong, N. Muangsin // Carbohydr. Polym. – 2016. – 153. – P. 435–444. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.08.004>.

**ПЕКТИН, КАК СТАБИЛИЗАТОР НАНОРАЗМЕРНЫХ ЗОЛЕЙ (ВОДНЫХ ДИСПЕРСИЙ) СЕЛЕНА** / Циганович Е.А., Прокопенко В.А., Горда Р.В., Голодюк А.П., Хрокало Л.А., Сирьк Е.А.

*Наноразмерные золи селена, с размерами частиц 80 нм, получено путем восстановления селенитной кислоты аскорбиновой кислотой, с использованием в качестве стабилизатора полисахарида – пектина, который биodeградирует. Полученные системы охарактеризованы методами УФ спектроскопии (UV-VIS), инфракрасной спектроскопии (FTIR), сканирующей электронной микроскопии (SEM) и динамического рассеяния света (DLS). Показано формирование сферических частиц аморфного наноселена и их стабилизации пектином за счет образования водородных связей между поверхностными атомами твердой фазы и гидроксид-, и карбоксильными (функциональными) группами стабилизатора. Исследована антибактериальное воздействие полученных композиционных*

золей на исследовательские культуры *B. subtilis* и *E. coli* и показано более выраженный ингибирующее влияние золя на *B. subtilis*.

**Ключевые слова:** наноразмерные частицы селена (SeNP), пектин (Pec), антибактериальные свойства, *B. subtilis*, *E. coli*.

**PECTIN AS A STABILIZER OF NANOSIZED SOLS (AQUEOUS DISPERSIONS) OF SELENIUM** / Tsyganovych O.A., Prokopenko V.A., Horda R.V., Holodiuk O.P., Khrokalo L.A., Siryk O.O.

**Introduction.** The radical change in the properties of the substance during the transition to the nanometer range provides ample opportunities to obtain materials with unique reproducible properties for the needs of various industries. Of particular interest in these areas have recently been nanoparticles of selenium - a trace element that plays a vital role in living organisms, as a component of selenium-dependent proteins.

**The goal of the work** is the synthesis of selenium nanoparticles, using apple pectin (Pec) as a stabilizer and dispersant, in the redox system selenic acid - ascorbic acid, their characteristics, and the study of the effect on the growth of some cultures of microorganisms.

**Materials and methods.** SeNPs were characterized by SEM, FTIR, UV-VIS, and DLS methods. Studies of sols antibacterial properties were performed by measuring optical density.

**Results of research and discussion.** The UV-VIS spectrum of the colloidal solution obtained in brick-red color shows a wide maximum of the absorption band in the region of 300-350 nm, which indicates the formation of amorphous nanoselenium. A comparison of the Pec and SeNP-Pec FTIR-spectra shows the appearance of the characteristic absorption band  $3403\text{ cm}^{-1}$  due to the oscillations of the hydroxyl groups, which means the emergence of a strong hydrogen bond between the hydroxyl groups of pectin and selenium nanoparticles. Thus, we can conclude that the process of stabilization of selenium nanoparticles takes place due to the formation of hydrogen bonds with the participation of hydroxyl and carboxyl groups of pectin molecules.

Photographs of selenium nanoparticles obtained by scanning electron microscopy show that the particles have a spherical shape and a size of about 100 nm. The particle size of SeNP-Pec was confirmed by the method of dynamic analysis of scattered light. The curve of distribution is characterized by the presence of one high peak, which indicates a narrow size distribution of nanoparticles, which is about 80 nm.

The study of the effect of selenium sols, stabilized with pectin, on the growth activity of *E. coli* and *B. subtilis*, showed that the tested sols do not show bactericidal properties, but have an inhibitory effect on growth cultures. In this case, the growth of *E. coli* under the action of sol decreased by 20%, while the growth of *B. subtilis* sol decreased by 60%.

**Conclusions and prospects for further research.** A method of chemical synthesis of selenium nanoparticles in the form of aggregatively stable aqueous sols using "green" precursors is proposed. It is based on the reduction of selenic acid with ascorbic acid and using apple pectin (Pec) as a stabilizer. It is shown that the interaction of its molecules with the surface of particles is ensured by the formation of hydrogen bonds. The size of the obtained spherical nanoparticles with amorphous structure, modified with pectin biomolecules, is 80-100 nm. It is shown that the obtained dispersions of nanoparticles do not show bactericidal action against the studied cultures of *B. subtilis* and *E. coli*, but inhibit their growth in the liquid medium, a more pronounced inhibitory effect of the sol was found on *B. subtilis*.

**Keywords:** nanosized selenium particles (SeNP), pectin (Pec), antibacterial properties, *B. subtilis*, *E. coli*.

## REFERENCES

1. Mykytiuk, M.V. (2011). Nanochastynky ta perspektyvy yikh zastosuvannia v biologii i medytsyni [Nanoparticles and prospects for their application in biology and medicine]. *Problemy ekologii ta medytsyny – Problems of ecology and medicine*, 15, 5-6, 41-49 [in Ukrainian].
2. Ulberh, Z.R., Prokopenko, V.A., Tsyhanovych, O.A., & Horda, R.V. (2020). Suchasnyi stan doslidzhen z formuvannia nanochastynok selenu ta yikh vykorystannia v medytsyni [The current state of research on the formation of selenium nanoparticles and their use in medicine]. *Khimiia, fizyka ta tekhnolohiia poverkhni – Chemistry, physics and surface technology*, 11, 3, 347-367 [in Ukrainian].
3. Siryk, O.O., Tsyhanovych, O.A., Prokopenko, V.A., Zhovnir, O.M., & Tiutiun, S.M. (2020). Nanorozmirni chastynky selenu – perspektyvnyi terapevtychnyi ahent z shyrokym spektrom dii dlia potreb veterynarii (ohliadova stattia) [Nanosized particles of selenium – a promising therapeutic agent with a broad spectrum of action for the needs of veterinary medicine (review article)]. *Veterynarna biotekhnolohiia – Veterinary Biotechnology*, 36, 155-165. [https://doi.org/10.31073/vet\\_biotech36-16](https://doi.org/10.31073/vet_biotech36-16) [in Ukrainian].
4. Gromova, O.A., & Gogoleva, I.V. (2007). Selen – vpechatljajushhie itogi i perspektyvy primenenija [Selenium – impressive results and application prospects]. *Trudnyj pacient – Difficult patient*, 14, 5, 25-30 [in Russian].
5. Vapirov, V.V., Shubina, M.Je., Vapirova, N.V., Belichenk, V.I., & Shubin, I.V. (2002). Nekotorye aspekty himii, jekologii i uchastija v razvitii patologii (Obzor) [Selenium. Some aspects of chemistry, ecology and participation in the development of pathology (review)]. *VINITI (GCMNB) – VINITI (SCNLS)*, D-26993, 74 [in Russian].
6. Hosnedlova, B., Kepinska, M., Skalickova, S., Fernandez, C., Ruttkay-Nedecky, B., Peng, Q., et al. (2018). Nano-selenium and its nanomedicine applications: a critical review. *International journal of nanomedicine*, 13, 2107-2128. <https://doi.org/10.2147/IJN.S157541>.
7. Valueva, S.V., & Borovikova, L.N. (2010). Samoorganizacija, morfologija i termodinamicheskie harakteristiki selensoderzhashhij nanostruktur na osnove sil'nyh polikislot [Self-organization, morphology and thermodynamic characteristics of selenium-containing nanostructures based on strong polyacids]. *Butlerovskie soobshhenija – Butlerov Communications*, 20, 5, 52-61 [in Russian].
8. Valueva, S.V., Suhanova, T.E., Borovikova, L.N., et al. (2011). Samoorganizacija i struktura selensoderzhashhij biologicheski aktivnyh nanosistem [Self-organization and structure of selenium-containing biologically active nanosystems]. *Struktura i dinamika molekulyarnykh sistem – Structure and dynamics of molecular system*, 10, 3-11 [in Russian].
9. Valueva, S.V., Kipper, A.I., Kopejkin, V.V., et al. (2005). Vlijanie molekulyarnoj massy polimernoj matricy na morfologicheskie harakteristiki selensoderzhashhij nanostruktur i na ih ustojchivost' k vozdeystviyu gidrodinamicheskogo polja [Influence of the molecular weight of a polymer matrix on the morphological characteristics of selenium-containing nanostructures and on their resistance to the influence of a hydrodynamic field]. *Vysokomolekuljarnye soedinenija, Serija A – High-molecular compounds, Series A*, 47, 3, 438-443 [in Russian].
10. Kopejkin, V.V., Valueva, S.V., Kipper, A.I., Kalynyna, N.A., Sylynskaia, Y.H., Khlebosolova, E.N., et al. (2003). Samoorganizacija molekulyarnykh poli-2-akrilamido-2-metilpropansul'fokisloty i dodecilsul'fata natrija na nanochastichah nul'valentnogo selena [Self-organization of molecules of poly-2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic acid and sodium dodecyl

sulfate on nanoparticles of zero-valent selenium]. *Vysokomolekuljarnye soedinenija, Serija A – High-molecular compounds, Series A*, 45, 6, 963-969 [in Russian].

11. Valueva, S.V., Kipper, A.I., Kopejkin, V.V., Borovykova, L.N., Lavrentev, V.K., Ivanov, D.A., et al. (2006). Izuchenie processov formirovanija i morfologicheskikh harakteristik selensoderzhashhih nanostruktur na osnove zhestkocepnyh molekul proizvodnyh celljulozy [Study of the formation processes and morphological characteristics of selenium-containing nanostructures based on rigid-chain molecules of cellulose derivatives]. *Vysokomolekuljarnye soedinenija, Serija A – High-molecular compounds, Series A*, 48, 8, 1403-1409 [in Russian].

12. Zhang, S.Y., Zhang, J., Wang, H.Y., Chen, H.Y., & Zhang, S.Y. (2004). Synthesis of selenium nanoparticles in the presence of polysaccharides. *Mater Lett*, 58(21), 2590-2594. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2004.03.031>.

13. Malhotra, S., Jha, N., & Desai, K. (2014). A superficial synthesis of selenium nanospheres using wet chemical approach. *Int. J. Nanotechnol. Appl*, 3, 7-14.

14. Kong, H., Yang, J., Zhang, Y., Fang, Y., Nishinaria, K., & Phillipsac, G.O. (2014). Synthesis and antioxidant properties of gum arabic-stabilized selenium nanoparticles. *Int. J. Biol. Macromol*, 65, 155-162. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.01.011>.

15. Shen, Y., Wang, X., Xie, A., Huang, L., Zhu, J., & Chen, L. (2008). Synthesis of dextran/Se nanocomposites for nanomedicine application. *Mater .Chem. Phys.*, 109, 534-540. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2008.01.016>.

16. Wu, H., Li, X., Liu, W., Chen, T., Li, Y., Zheng, W., et al. (2012). Surface decoration of selenium nanoparticles by mushroom polysaccharides-protein complexes to achieve enhanced cellular uptake and antiproliferative activity. *Journal of Materials Chemistry*, 22, 9602-9610. <https://doi.org/10.1039/C2JM16828F>.

17. Zolotareva, A.M., Chirkina, T.F., Cybikova, D.C., & Babueva, C.M. (1998). Issledovanie funkcional'nyh svojstv oblepivovogo pektina [Research of functional properties of sea buckthorn pectin]. *Himija rastitel'nogo syr'ja – Chemistry of vegetable raw materials*, 1, 29-32 [in Russian].

18. Qiu, W.Y., Wang, Y.Y., Wang, M., & Yan, J.K. (2018). Construction, stability, and enhanced antioxidant activity of pectin-decorated selenium nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 170, 692-700. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.07.003>

19. Ahmed, H.B., Zahran, M.K., & Emam, H.E. (2016). Heatless synthesis of well dispersible Au nanoparticles using pectin biopolymer. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 208-219. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.05.060>.

20. Shi, L., & Gunasekaran, S. (2008). Preparation of Pectin-ZnO nanocomposite. *Nanoscale Res. Lett.*, 3, 491-495. <https://doi.org/10.1007/s11671-008-9185-6>.

21. Zahran, M.K., Ahmed, H.B., & El-Rafie, M.H. (2014). Facile size-regulated synthesis of silver nanoparticles using pectin. *Carbohydrate Polymers*, 111, 971-978. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.05.028>.

22. Hira, I., Kumar, A., Kumari, R., Saini, A.K., & Saini, R.V. (2018). Pectin-guar gum-zinc oxide nanocomposite enhances human lymphocytes cytotoxicity towards lung and breast carcinomas. *Mater Sci Eng C. Mater Biol Appl*, 1, 90, 494-503. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.04.085>.

23. Tsyhanovych, O.A., Khrokalo, L.A., Siryk, O.O., Prokopenko, V.A., & Zhovnir, O.M. (2020). Nanorozmirni chastynky selenu, stabilizovani polivinilpirolidonom ta yikh antybakterialna aktyvnist [Nano-sized selenium particles stabilized with polyvinylpyrrolidone and their antibacterial



activity]. *Veterynarna biotekhnolohiia – Veterinary Biotechnology*, 37, 108-118 [in Ukrainian]. [https://doi.org/10.31073/vet\\_biotech37-11](https://doi.org/10.31073/vet_biotech37-11).

24. Legonkova, O.A., Vasilev, V.G., Bozhkova, S.A., Terekhova, R.P., Ovhanisyan, A.S., Grigoriev, M.M., et al. (2019). Svoystva polivinilpyrrolidonovyh gelej posle sterilizujushhih vozdeystvij [Properties of polyvinylpyrrolidone gels after sterilizing effects]. *Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii – Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry*, 22, 11, 19-24. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-11-03> [in Russian].

25. Panova, Je.P., & Kaceva, G.N. (2012). Nanokompozity na osnove serebra i pektinovyh veshhestv [Nanocomposites based on silver and pectin substances]. *Uchenye zapiski Tavricheskogo nacional'nogo universiteta im. V. I. Vernadskogo, Serija «Biologija, himija» – Scientific notes of the Tauride National University. VI Vernadsky, Series "Biology, Chemistry"*, 25(64), 3, 30-315 [in Russian].

26. Valueva, S.V., Borovikova, L.N., Koreneva, V.V., Nazarkina, Ya.I., Kipper, A.I., & Kopeikin, V.V. (2007). Strukturno-morfologicheskie i biologicheskie svoystva nanochastich selena, stabilizirovannyh bych'im syvorotochnym al'buminom [Structural-morphological and biological properties of selenium nanoparticles stabilized by bovine serum albumin]. *Zhurnal fizicheskoy himii – Journal of physical chemistry*, 81, 7, 1329-1333 [in Russian].

27. Zhang, Y., Wang, J., & Zhang, L. (2010). Creation of highly stable selenium nanoparticles capped with hyperbranched polysaccharide in water. *Langmuir*, 26(22), 17617-17623. <https://doi.org/10.1021/la1033959>.

28. Xiao, Y., Huang, Q., Zheng, Z., Guan, H., & Liu, S. (2017). Construction of a Cordyceps sinensis exopolysaccharide-conjugated selenium nanoparticles and enhancement of their antioxidant activities. *Int. J. Biol. Macromol.*, 99, 483-491. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.016>.

29. Usmanova, S.R., Dzhonmurodov, A.S., Nazirova, H.I., et al. (2015). Issledovanie IK-Fur'e spektrov pektina tykvy [Investigation of IR-Fourier spectra of pumpkin pectin]. *Materialy 12 Numanovskie chtenija posvjashh. 55 letiju so dnja rozhdenija d.h.n., professora Kukanieva M.A. – Materials 12 Numanov readings dedicated 55th anniversary of the birth of Dr. Kukaniev M.A.*, Dushanbe, 143-145 [in Russian].

30. Hatko, Z.N. (2008). Infrakrasnye spektry sveklovichnogo pektina [Infrared spectra of beet pectin]. *Novye tehnologii – New technologies*, 5, 39-46 [in Russian].

31. Luesakul, U., Komenek, S., Puthong, S., & Muangsin, N. (2016). Shape-controlled synthesis of cubic-like selenium nanoparticles via the self-assembly method. *Carbohydr. Polym.*, 153, 435-444. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.08.004>.