

УДК: 544.77+546.2:579.8

DOI: 10.31073/vet_biotech37-11

ЦИГАНОВИЧ О.А.^{1,2}, канд. хім. наук, e-mail: elena_tsyganov@ukr.net,**ХРОКАЛО Л.А.**², канд. біол. наук, e-mail: lkhrokalo@gmail.com,**СІРИК О.О.**^{1,3}, канд. хім. наук, e-mail: olena.siryk38@gmail.com,**ПРОКОПЕНКО В.А.**^{1,2}, д-р техн. наук, e-mail: prokop_va@ukr.net,**ЖОВНІР О.М.**³, канд. вет. наук, e-mail: Zhovnir73@ukr.net¹ Інститут біоколоїдної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України² Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»³ Інститут ветеринарної медицини НААН

НАНОРОЗМІРНІ ЧАСТИНКИ СЕЛЕНУ, СТАБІЛІЗОВАНІ ПОЛІВІНІЛПРОЛІДОНОМ, ТА ЇХ АНТИБАКТЕРІАЛЬНА АКТИВНІСТЬ

За удосконаленим протоколом синтезу при відновленні селенітної кислоти у присутності біодеградуючого полімеру – полівінілпролідону (ПВП), при різному значенні рН, одержано золь аморфного селену з середнім розміром частинок до 100 нм. Одержані нанорозмірні системи були охарактеризовані методами скануючої електронної мікроскопії (SEM), FTIR- та UV-VIS-спектроскопії та методом динамічного розсіювання світла (ДРС). Вивчено антибактеріальний вплив одержаних золів на дослідні бактеріальні культури *B. Subtilis* та *E.coli*, показано їх інгібуючий вплив на ріст вказаних мікроорганізмів.

Ключові слова: нанорозмірні частинки селену (SeNP), біологічна активність, *B. subtilis*, *E.coli*.

Вступ. Завдяки своїм унікальним фізико-хімічним властивостям наночастинки стали перспективними матеріалами у різних галузях медицини та біотехнології. Зокрема наночастинки селену (SeNP) проявляють широкий спектр властивостей, а саме: антиоксидантні, протизапальні, антиканцерогенні, антимутагенні, імуномодулюючі, гепатопротекторні та ін., які в значній мірі залежать від способу синтезу, наявності стабілізатора, розміру та форми [1, 2].

SeNP також виявляють виняткову антибактеріальну активність. Встановлено, що SeNP пригнічують ріст патогенних бактерій (*P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, *Streptococcus pyogenes*, *S. aureus*) та грибків (*Aspergillus clavatus*) [3]. Дослідники вказують на залежність антимікробної активності SeNP від способу їх синтезу [4]. Наприклад, біологічно синтезовані частинки (з використанням *B. tuscoides* та *S. maltophilia*) показали вищу антибактеріальну активність порівняно з хімічно синтезованими щодо біоплівки *P. aeruginosa* та

S. aureus. Крім того, доведено вплив розміру частинок на антимікробну активність [5]. Було показано, що антибактеріальна активність наночастинки селену розміром 81 нм максимально пригнічують ріст чутливих та стійких до метициліну штамів золотистого стафілококу.

Одним з перспективних напрямків застосування наночастинок різної природи є виготовлення вакцин, де вони використовуються в якості окремого складового компонента або як каталізатори метаболічних процесів у клітинах виробничих штамів збудників [6]. Дослідження імуногенних властивостей SeNP, кон'югованих з антигеном вірусу трансмісивного гастроентериту свиней, показали, що додавання наночастинок приводить до активації дихальної активності лімфоцитів та перитонеальних макрофагів, що напряму пов'язано з активацією продукції антитіл у морських свинок [7, 8]. Вивчено ад'ювантні властивості наночастинок селену, що містять екстрацелюлярні і внутрішньоклітинні антигени вакцинного слабовірулентного α -гемолітичного штаму *Escherichia coli* Б-5, що використовуються для імунізації тварин [9]. Імунізація тварин наночастинками селену отриманими біологічним способом приводила до зростання їх виживання до $80 \pm 10\%$ відповідно, порівняно з неімунізованим контролем ($23 \pm 6\%$).

Мета роботи. Синтез наночастинок селену в присутності полівінілпіролідону та дослідження їх впливу на ріст культур мікроорганізмів *Escherichia coli* та *Bacillus subtilis*.

Матеріали і методи досліджень. Наночастинки селену синтезовані за удосконаленою методикою в Інституті біоколоїдної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України у вигляді золів за вихідної концентрації за селеном – 0,4 ммоль/л або 31,6 мг/л. Синтез SeNP проводили шляхом відновлення селенітної кислоти аскорбіновою кислотою в присутності стабілізатора – полівінілпіролідону. Виготовляли два золі з різним значення кислотності середовища: № 1 – з рН 3,3 та № 2 – рН 4,3.

Для реєстрації інфрачервоних спектрів золів аморфного селену використовували інфрачервоний спектрометр фірми Shimadzu IRAffinity-1S, з приставкою The Quest Single Reflection ATR Accessory P/NGS10800 в діапазоні довжин хвиль $4000\text{--}400\text{ см}^{-1}$ із роздільною здатністю 4 см^{-1} (Японія). Для цього на кварцову підкладку у кожному досліді окремо наносили по 300 мкл колоїдного розчину селену, стабілізованого ПВП та розчину полімеру в присутності аскорбінової кислоти, і висушували до утворення плівки. Висновки про розмір та форму частинок було одержано за допомогою скануючого електронного мікроскопа TESCAN MIRA3. Розподіл наночастинок за розміром охарактеризовано за допомогою аналізатора Zetasizer Nano S при 25°C , що дозволяє вимірювання розміру частинок в діапазоні від 0,3 нм до 10 мкм

методом динамічного розсіювання світла (ДРС) з використанням технології неінвазійного зворотного розсіювання. Принцип методу полягає у вимірюванні та аналізі флуктуацій інтенсивності розсіяного світла, що виникають через неоднорідність середовища, в об'ємі, що містить колоїдні частинки, які перебувають у броунівському русі. За допомогою методу ДРС визначають гідродинамічний розмір частинок.

Випробування золів на антибактеріальні властивості проводили в НТУУ «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського». В дослідженні були використані грам-негативні та грам-позитивні культури мікроорганізмів *Escherichia coli* та *Bacillus subtilis*. В якості поживного середовища використано м'ясо-пептонний бульйон (МПБ), поживний агар (ПА) (ТУ 10-02-02-789-176-94) та Ендо агар. Закладено серію дослідів в пробірках на МПБ при внесенні золів без розведень (2 мл поживного середовища, 2 мл золя, 2 мл бактеріального інокуляту). В контрольні пробірки вносили: 2 мл поживного середовища, 2 мл води, 2 мл інокуляту. Щільність бактеріальних культур при внесенні становила 0,5 за шкалою МакФарланда. Повторюваність експерименту двократна. Інкубування проводили в термостаті 24 години за температури 36°C. Після доби інкубації проводили візуальний аналіз вмісту пробірок та контрольний висів штрихом на тверді середовища: діагностичне середовище Ендо (для *E. coli*) та поживний агар (для *B. subtilis*). Чашки Петрі поміщали у термостат на добу. Для точної діагностики проводили виміри оптичної густини вмісту дослідних і контрольних пробірок на фотоелектроколориметрі КФК-2.

Результати досліджень та їх обговорення. Для одержання стійкого в часі золю селену під час синтезу необхідно додавати стабілізатор. У даній роботі полімером-стабілізатором є полівінілпіролідон (ПВП), який за рахунок фізичної адсорбції, що обумовлена силами Ван-дер-Ваальса, водневими зв'язками та дипольними взаємодіями, оточує НЧ захисним колоїдом та попереджає їх агрегацію [10].

Дослідження оптичних властивостей одержаних систем SeNP проведено методом UV-VIS спектроскопії, у якості розчину порівняння використовували розчин ПВП з аскорбіною кислотою. У спектрі спостерігається широкий максимум смуги поглинання в області 300–350 нм, що свідчить саме про утворення аморфного наноселену [11].

В циклічній структурі полівінілпіролідону здатність до стабілізації наночастинок різного хімічного складу визначають наявність атому нітрогену з неподільною електронною парою та карбонільної групи C=O [12]. Дослідження впливу різних структурних груп молекул полімеру на взаємодію ПВП з наночастинами різної природи здійснювалося в роботах Y. Zhang et al. (2010) та H. Wang et al. (2005) [13, 14].

В нашій роботі за допомогою FTIR-спектроскопії експериментально досліджувалась міжмолекулярна взаємодія і механізм стабілізації у системі SeNP-ПВП. ІЧ-спектри еталонного розчину і розчину SeNP-ПВП наведені на рис. 1.

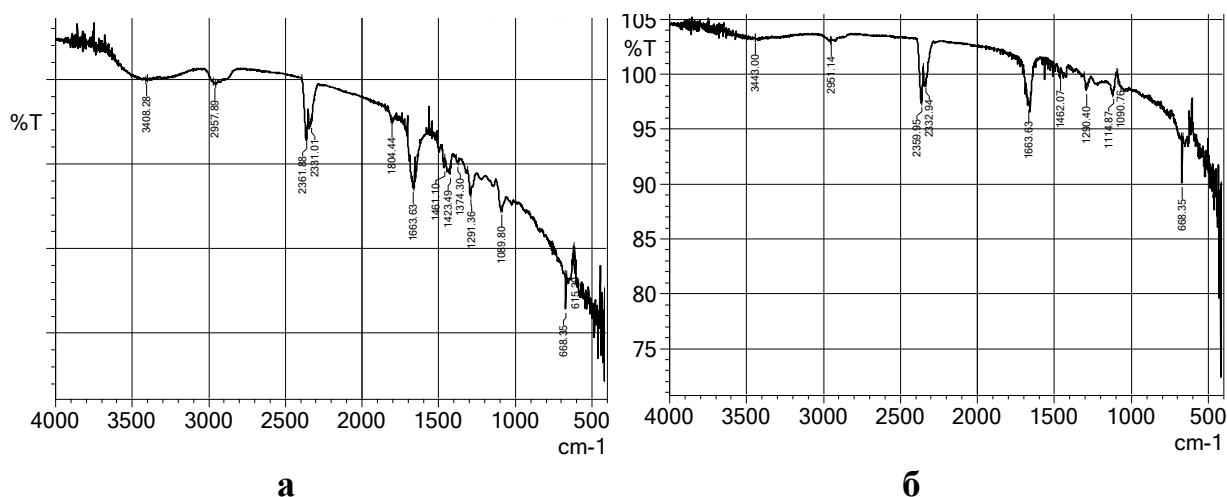


Рис. 1. Інфрачервоні спектри SeNP-ПВП(а) і ПВП (б).

Подібність наведених ІЧ-спектрів є характерною для полімерних систем [15]. ІЧ-спектр ПВП містить декілька характеристичних смуг: валентні коливання ОН-груп (водневі зв'язки) (3443 cm^{-1}), валентні коливання аліфатичної СН-групи (2951 cm^{-1}), валентні коливання карбонільної групи в лактамі $\text{C}=\text{O}$ (1663 cm^{-1}) та деформаційні коливання зв'язку CH_2 (1462 cm^{-1}). Зміщення валентних коливань ОН-групи в спектрі золю в область менших частот (3408 cm^{-1}), а також поява валентних коливань зв'язку $\text{C}-\text{O}-$ (1374 cm^{-1}) можуть свідчити про стабілізацію золю ПВП з утворенням міцного водневого зв'язку та участю у даному процесі карбонільної групи.

Для встановлення морфологічних характеристик синтезованих наночастинок селену застосовано метод скануючої електронної мікроскопії. Як видно з отриманих мікрофотографій (рис. 2), SeNP мають сферичну форму та діаметр менше 100 nm .

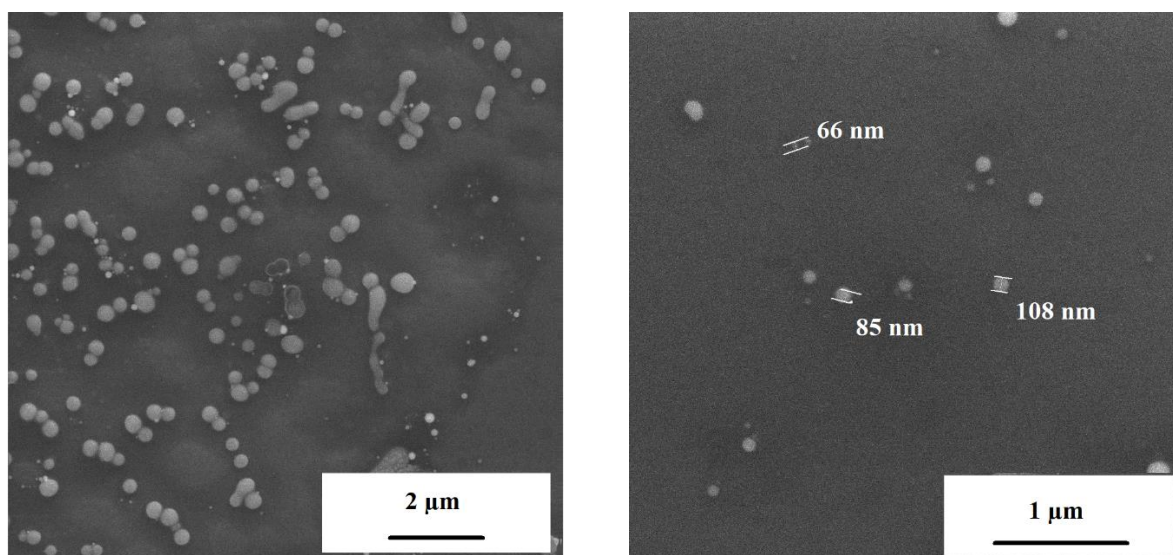


Рис. 2. SEM-зображення отриманих наночастинок селену.

На рис. 3 представлено криву розподілу наночастинок за їх кількістю, яка характеризується наявністю одного високого піка, що свідчить про вузький розподіл наночастинок за розмірами, який становить близько 60 нм. При аналізі розміру наночастинок за інтенсивністю спостерігається широка смуга та зсув піка в бік більших значень, що може бути пов'язано з досить високою концентрацією отриманої суспензії (рис. 4). Отже, за даними методу ДРС середні гідродинамічні розміри SeNP, стабілізованих полівінілпіролідом, становлять $100 \pm 0,301$ нм.

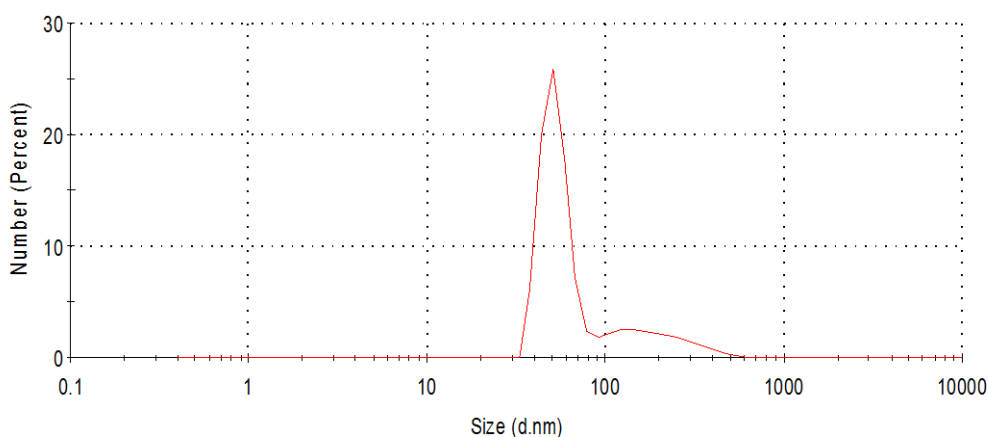


Рис. 3. Крива розподілу наночастинок Se за їх кількістю.

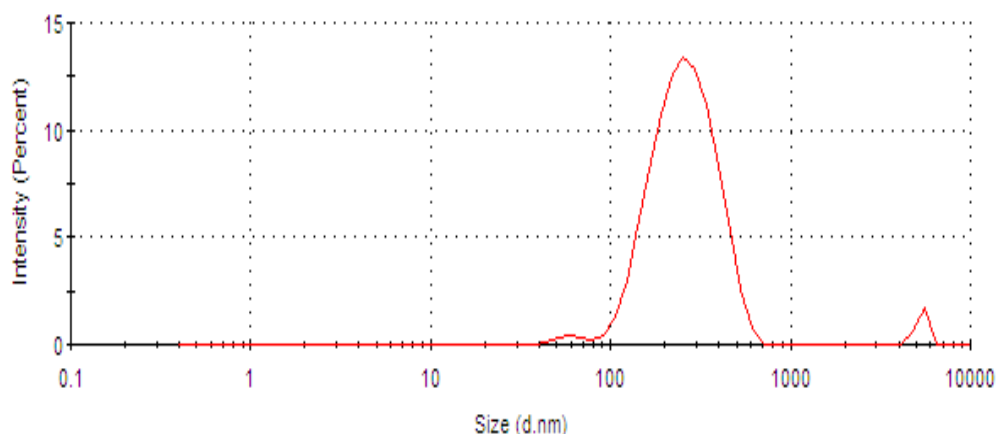


Рис. 4. Крива розподілу наночастинок Se за інтенсивністю.

Одержаний розподіл розміру частинок за інтенсивністю означає наявність агрегатів у даному зразку золю, однак, при перетворенні в об'єм або масу розподіл наночастинок показує, що агрегати присутні у низьких концентраціях, в основній масі (біля 80%) зразок складається з нанорозмірних частинок близько 60 нм.

За результатами дослідження впливу золів селену на ростову активність бактерій встановлено, що випробувані золі не мають бактерицидних властивостей, однак мають інгібуючу дію на ріст культур (табл. 1). Зокрема ріст *E. coli* при дії обох золів у середньому знижувався на 20%. Вплив золів на ріст *B. subtilis* був різноманітнішим: золь № 1 мало впливає на ріст культури (незначно підвищує), золь № 2 знизив ріст на 38%. Контрольні висіви на тверді середовища підтвердили відсутність бактерицидної дії (на кожній чашці Петрі спостерігали ріст бактерій (*B. subtilis* – ріст безбарвних колоній на поживному агарі, *E. coli* – ріст колоній з металевим блиском і почервонінням середовища Ендо під ними) (рис. 5).

Таблиця 1

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

Культура	Оптична густина		
	Контроль	№ 1	№ 2
<i>Escherichia coli</i>	0,44±0,01	0,35±0,01	0,33±0,02
<i>Bacillus subtilis</i>	0,44±0,01	0,475±0,025	0,275±0,025

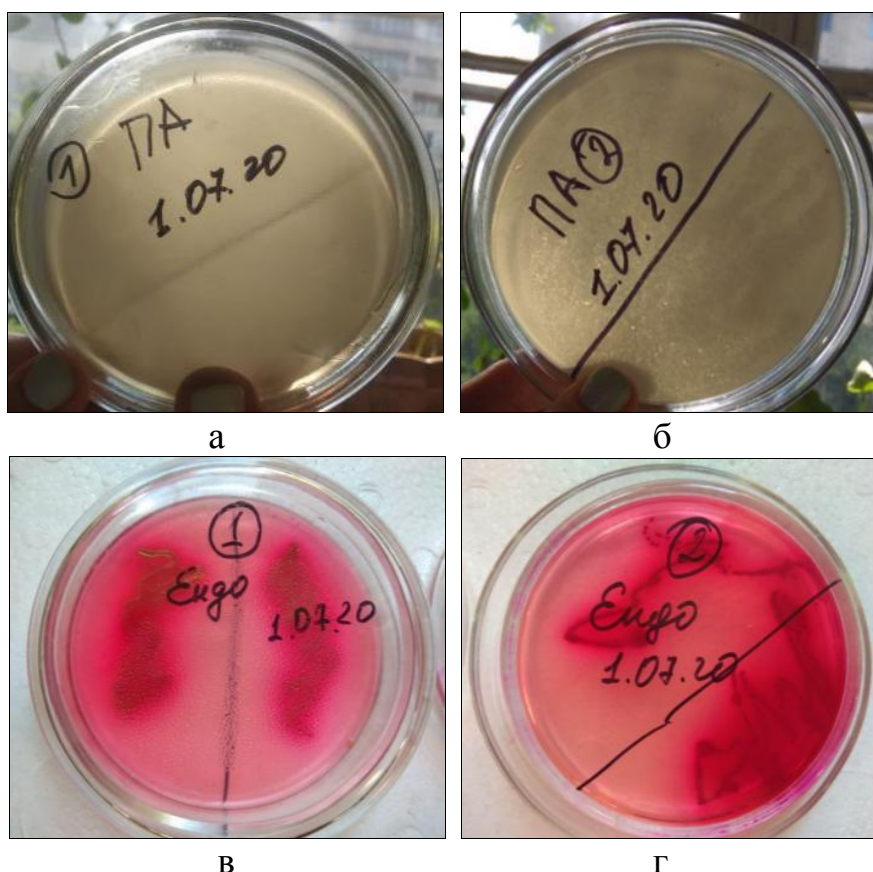


Рис. 5. Контрольні висіви штрихом на тверді середовища:
а, б – діагностичне середовище поживний агар для *B. Subtilis*;
в, г – діагностичне середовище Ендо для *E. coli*.

Додатково 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, оскільки зміни оптичної густини суспензій менше ніж 0,005 (в межах похибки 0,5%) не свідчать про ріст.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Одержання нанорозмірних систем селену підтверджено методом UV-VIS-спектроскопії за наявністю широкої смуги поглинання в області 300–350 нм. Стабілізація золю SeNP полімером відбувається, згідно даних FTIR-спектроскопії відбувається з утворенням міцного водневого зв'язку та участю карбонільної групи. Методами скануючої електронної мікроскопії та динамічного розсіювання світла встановлено, що середній розмір сферичних синтезованих наночастинок становить близько 60 нм (з вмістом 80%). Показано, що отримані золі не виявляють бактерицидної дії відносно дослідних культур *B. subtilis* та *E. coli* (не здатні повністю знищувати бактерії), однак виявляють бактериостатичну дію,

інгібуючи ріст досліджених бактеріальних культур в рідкому середовищі, що характеризує одержані наносистеми як перспективні для подальших наукових досліджень у виробництві експериментальних зразків ветеринарних імунобіологічних засобів з використанням наночастинок селену.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Nano-selenium and its nanomedicine applications: a critical review / B. Hosnedlova, M. Kepinska, S. Skalickova et al. // *International journal of nanomedicine*. – 2018. – Vol. 13. – P. 2107–2128.
2. Therapeutic applications of selenium nanoparticles / A. Khurana, S. Tekula, M.A. Saifi et al. // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2019. – Vol. 111. – P. 802–812.
3. Srivastava N. Green synthesis and structural characterization of selenium nanoparticles and assessment of their antimicrobial property / N. Srivastava, M. Mukhopadhyay // *Bioprocess and biosystems engineering*. – 2015. – № 9(38). – P. 1723–1730.
4. Antimicrobial activity of biogenically produced spherical Se-nanomaterials embedded in organic material against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* strains on hydroxyapatite-coated surfaces / E. Piacenza, A. Presentato, E. Zonaro et al. // *Microbial biotechnology*. – 2017. – № 4(10). – P. 804–818.
5. Engineering highly effective antimicrobial selenium nanoparticles through control of particle size / T. Huang, J.A. Holden, D.E. Heath et al. // *Nanoscale*. – 2019. – № 31(11). – P. 14937–14951.
6. Вплив наночастинок металів на активізацію метаболічних процесів у клітинах *S. perfringens* тип А / О.І. Горбатюк, В.О. Андріяшук, Г.Ф. Риженко та ін. // *Ветеринарна біотехнологія*. – 2017. – № 30. – С. 47–56.
7. Изучение иммуногенных свойств наночастиц селена и золота, конъюгированных с антигеном вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней / П.В. Меженный, С.А. Староверов, А.А. Волков и др. // *Современные проблемы науки и образования*. – 2015. – № 1. – 1965 с.
8. Study of transmissible gastroenteritis virus antigen-conjugated immunogenic properties of selenium nanoparticles and gold / S.A. Staroverov, A.A. Volkov, S.V. Larionov et al. // *Life Science Journal*. – 2014. – № 11(11). – P. 456–460.
9. The adjuvant effect of selenium nanoparticles, Triton X-114 detergent micelles, and lecithin liposomes for *Escherichia coli* antigens / K.P. Gabalov, M.V. Rumina, T.N. Tarasenko et al. // *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2017. – № 5(53). – P. 587–593.
10. Синтез наночастиц серебра боргидридным методом и определение их размеров фотон-корреляционной спектроскопией / В.В. Кузнецов, В.В. Смагина, А.Ф. Кривошепов и др. // *Бутлеровские сообщения*. – 2015. – № 11(44). – С. 60–65.
11. Valueva S.V. Selenium-containing nanocomplexes stabilized by various types of matrices: A study by UV-visible spectroscopy / S.V. Valueva, L.N. Borovikova, N.A. Matveeva // *Russian Journal of Applied Chemistry*. – 2011. – № 4(84). – P. 661–665.
12. Polyvinylpyrrolidone (PVP) in nanoparticle synthesis / K.M. Koczur, S. Mourdikoudis, L. Polavarapu et al. // *Dalton Transactions*. – 2015. – № 41(44) – P. 17883–17905.
13. Synthesis of PVP-coated ultra-small Fe₃O₄ nanoparticles as a MRI contrast agent / Y. Zhang, J.Y. Liu, S. Ma et al. // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2010. – № 4(21). – P. 1205–1210.

14. Mechanisms of PVP in the preparation of silver nanoparticles / H. Wang, X. Qiao, J. Chen et al. // Materials Chemistry and Physics. – 2005. – № 2–3(94). – P. 449–453.
15. ИК-спектроскопическое изучение химической структуры полимерных комплексов лекарственных веществ на основе поливинилпирролидона / О.А. Мельникова, И.А. Самкова, М.Ю. Мельников и др. // Успехи современного естествознания. – 2016. – № 8. – С. 42–49.

НАНОРАЗМЕРНЫЕ ЧАСТИЦЫ СЕЛЕНА, СТАБИЛИЗИРОВАННЫЕ ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОНОМ, И ИХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ /
Циганович Е.А., Хрокало Л.А., Сирьк Е.А., Прокопенко В.А., Жовнир А.М.

*По усовершенствованному протоколу синтеза при восстановлении селенитной кислоты в присутствии биоразлагаемого полимера - поливинилпирролидона (ПВП), при разном значении pH, получено золь аморфного селена со средним размером частиц до 100 нм. Полученные наноразмерные системы были охарактеризованы методами сканирующей электронной микроскопии (SEM), FTIR- и UV-VIS-спектроскопии и методом динамического рассеяния света (ДРС). Изучено антибактериальное действие полученных золь на бактериальные культуры *B. Subtilis* и *E. coli*, показано их ингибирующее влияние на рост указанных микроорганизмов.*

Ключевые слова: наноразмерные частицы селена (SeNP), биологическая активность, *B. Subtilis*, *E. coli*.

NANOSIZED SELENIUM PARTICLES STABILIZED BY
POLYVINYLPIRROLIDONE AND THEIR ANTIBACTERIAL ACTIVITY /
Tsyganovych O.A., Khrokalo L.A., Siryk O.O., Prokopenko V.A., Zhovnir O.M.

Introduction. *Selenium nanoparticles (SeNP) exhibit a wide range of properties, namely: antioxidant, antibacterial, anticancer, antimutagenic, immunomodulatory, hepatoprotective, etc., which largely depend on method of synthesis, presence of a stabilizer, size and shape.*

The goal of the work *was synthesis of selenium nanoparticles in the presence of polyvinylpyrrolidone and testing their effect on Escherichia coli and Bacillus subtilis growth.*

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

Results of research and discussion. *In the UV-VIS spectrum maximum absorbance was in the range of 300-350 nm, which indicates amorphous SeNPs formation. Intermolecular interaction and the mechanism of stabilization in SeNP-polyvinylpyrrolidone (PVP) system were investigated using FTIR spectroscopy. The shift of OH group valence oscillations in spectrum to region of lower frequencies (3408 cm^{-1}) and appearance of valence oscillations of the CO bond (1374 cm^{-1}) can indicate sol stabilization by formation of strong hydrogen bonds and participation of carbonyl group in this process. SEM method was used to establish the morphological characteristics of synthesized selenium nanoparticles. SEM images of SeNPs revealed that dominate spherical particles with a size less than 100 nm. Obtained particle size distribution (according to DLS method) indicates presence of SeNPs aggregates, however, the sample mainly (80%) consists of nanosized particles about 60 nm. The results of study of selenium sols effect on bacteria growth activity showed that tested sols do not have bactericidal properties, but they have an inhibitory*

effect. In particular, the growth of *E. coli* under the action of both sols decreased on average by 20%. The effect of sols on the growth of *B. subtilis* was diverse: sol with pH 3.3 had insignificant effect on the growth of the culture (slightly increased), a sol with pH 4.3 reduced the growth by 38%.

Conclusions and prospects for further research. Formation of nanoscale selenium systems was confirmed by UV-VIS spectroscopy. According to FTIR spectroscopy, stabilization of SeNP sol by the polymer occurs with the formation of a strong hydrogen bond and the participation of the carbonyl group. Using SEM and DLS methods, the presence of both individual spherical nanoparticles with a size of about 60 nm and small amount of aggregates was established. It was shown that obtained sols do not exhibit bactericidal action against of *B. Subtilis* and *E. coli*, however, they exhibit bacteriostatic action by inhibiting the growth of the studied bacterial cultures in a liquid medium, which characterizes the obtained nanosystems as promising for further scientific research in the production of experimental samples of veterinary immunobiological agents.

Keywords: nanoscale selenium particles (SeNP), biological activity, *B. Subtilis*, *E. coli*.

REFERENCES

1. Hosnedlova, B., Kepinska, M., Skalickova, S., et al. (2018). Nano-selenium and its nanomedicine applications: a critical review. *International journal of nanomedicine*, 13, 2107-2128.
2. Khurana, A., Tekula, S., Saifi, M.A., et al. (2019). Therapeutic applications of selenium nanoparticles. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 111, 802-812.
3. Srivastava, N., & Mukhopadhyay, M. (2015). Green synthesis and structural characterization of selenium nanoparticles and assessment of their antimicrobial property. *Bioprocess and biosystems engineering*, 38(9), 1723-1730.
4. Piacenza, E., Presentato, A., Zonaro, E., et al. (2017). Antimicrobial activity of biogenically produced spherical Se-nanomaterials embedded in organic material against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* strains on hydroxyapatite-coated surfaces. *Microbial biotechnology*, 10(4), 804-818.
5. Huang, T., Holden, J.A., Heath, D.E., et al. (2019). Engineering highly effective antimicrobial selenium nanoparticles through control of particle size. *Nanoscale*, 11(31), 14937-14951.
6. Gorbatiuk O.I., Andriyashuk V.A., Ryzhenko G.F., et al. (2017). Vplyv nanochastynok metaliv na aktyvizatsiiu metabolichnykh protsesiv u klitynakh *C. perfringens* typ A. [The effect of metals nanoparticles on activation of metabolic processes in cells *C. perfringens* type A]. *Veterynarna biotekhnolohiia – Veterinary biotechnology*, 30, 47-56 [in Ukrainian].
7. Mezheny, P.V., Staroverov, S.A., Volkov, A.A., et al. (2015). Izucheniye immunogennykh svoystv nanochastits seleni i zolota, konjugirovannykh s antigenom virusa transmissivnogo gastroenterita svinей [The study of the immunogenic properties of selenium and gold nanoparticles conjugated with the antigen of the transmissible gastroenteritis virus of pigs]. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya – Modern problems of science and education*, 1, 1965 [in Russian].
8. Staroverov, S.A., Volkov, A.A., Larionov, S.V., et al. (2014). Study of transmissible gastroenteritis virus antigen-conjugated immunogenic properties of selenium nanoparticles and gold. *Life Science Journal*, 11(11), 456-460.
9. Gabalov, K.P., Rumina, M.V., Tarasenko, T.N., et al. (2017). The adjuvant effect of selenium nanoparticles, Triton X-114 detergent micelles, and lecithin liposomes for *Escherichia coli* antigens. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 53(5), 587-593.
10. Kuznetsov, V.V., Smagina, V.V., Krivoschepov, A.F., et al. (2015) Sintez nanochastich serebra borgidridnym metodom i opredelenie ih razmerov foton-korreljacionnoj spektroskopiej

[Synthesis of silver nanoparticles by borohydride method and determination of they size by photon correlation spectroscopy]. *Butlerovskie soobshhenija – Butlerov Communications*, 44(11), 60-65 [in Russian].

11. Valueva, S.V., Borovikova, L.N., & Matveeva, N.A. (2011). Selenium-containing nanocomplexes stabilized by various types of matrices: A study by UV-visible spectroscopy. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 84(4), 661-665.

12. Koczur, K.M., Mourdikoudis, S., Polavarapu, L., et al. (2015). Polyvinylpyrrolidone (PVP) in nanoparticle synthesis. *Dalton Transactions*, 44(41), 17883-17905.

13. Zhang, Y., Liu, J.Y., Ma, S., et al. (2010). Synthesis of PVP-coated ultra-small Fe₃O₄ nanoparticles as a MRI contrast agent. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 21(4), 1205-1210.

14. Wang, H., Qiao, X., Chen, J., et al. (2005). Mechanisms of PVP in the preparation of silver nanoparticles. *Materials Chemistry and Physics*, 94(2-3), 449-453.

15. Melnikova O.A., Samkova I.A., Melnikov M.Ju., et al. (2016). ІК-спектроскопічне вивчення хімічної структури полімерних комплексів лікарських речовин на основі полівинілпірrolідона [IR-spectroscopic study of the chemical structure of polymer complexes of drugs based on polyvinylpyrrolidone]. *Uspehi sovremennogo estestvoznaniya – Advances in current natural sciences*, 8, 42-49 [in Russian].