

НАНО- И СУБМИКРОМЕТРОВЫЕ ЧАСТИЦЫ ПЕКТИНАТА КАЛЬЦИЯ В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЕЙ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА РАСТЕНИЙ

© А. Н. Красковский¹, В. И. Куликовская¹, К. С. Гилевская¹, Ж. Н. Калацкая²,
Е. Л. Недведь², Н. А. Ламан², В. Е. Агабеков¹

¹ Институт химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси,
220141, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Ф. Скорины, д. 36

² Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича

Национальной академии наук Беларуси,

220072, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Академическая, д. 27

E-mail: aleks.kraskovsky@gmail.com

Поступила в Редакцию 6 сентября 2019 г.

После доработки 14 ноября 2019 г.

Принята к публикации 14 декабря 2019 г.

Методом ионотропного гелеобразования синтезированы гидрогелевые частицы пектината кальция со средним диаметром 100.0 ± 50.0 нм. Показана возможность включения в них до 56.3 мас% регулятора роста растений транс-коричной кислоты. Полученные частицы пектината кальция, в том числе содержащие регулятор роста растений, охарактеризованы с помощью просвечивающей электронной, атомно-силовой микроскопии, ИК-спектроскопии. Показано, что частицы пектината кальция, содержащие транс-коричную кислоту, способствуют накоплению фотосинтетических пигментов при обработке семян кукурузы.

Ключевые слова: пектин; ионотропное гелеобразование; коричная кислота; пектинат кальция; прорастание; фотосинтетические пигменты

DOI: 10.31857/S0044461820040040

В качестве носителей различных биологически активных соединений (лекарственных веществ, пептидов, белков, антиоксидантов и др.) широко используются материалы на основе пектинов [1], в частности, в качестве контейнеров, позволяющих регулировать кинетику высвобождения включенного вещества, используют гидрогелевые пектинатные нано- и микрочастицы [2–4].

Полисахаридные гидрогелевые частицы также являются перспективными материалами для создания новых средств доставки регуляторов роста растений [5, 6]. Следует отметить, что в таких системах полисахариды могут не только выступать как носители ак-

тивных компонентов, но и участвовать в протекании физиолого-биохимических процессов в растениях, в частности использоваться для синтеза различных органических соединений, необходимых для быстрого получения доступных запасов энергии, при этом они также обладают широким спектром собственного биологического действия [7–9]. Так, авторы [7] сообщают о влиянии растительных полисахаридов, относящихся к классу пектинов, на скорость прорастания семян *Lycopersicon esculentum* и *Cucumis sativus* L. Также известно о стимулирующем действии пектинов на всхожесть и скорость прорастания семян, рост корней и проростков *Triticum aestivum* L. и *Secale*

cereale L. [10]. Ранее [11] было показано, что частицы пектината кальция стимулируют рост суспензии клеток растений рода *Vinca*.

Таким образом, сочетание уникальных физико-химических свойств нано- и субмикрометровых частиц (большая удельная поверхность, особенности поступления и метаболизма), с одной стороны, и физиологического действия пектинов на биометрические показатели семян сельскохозяйственных культур — с другой, возможно, позволит создать принципиально новые средства доставки регуляторов роста растений.

Одним из актуальных направлений фундаментальных и прикладных исследований в растениеводстве является искусственное регулирование роста и развития растений. Эндогенные регуляторы роста растений (фитогормоны) в чрезвычайно низких концентрациях могут вызывать и контролировать различные изменения в растениях, в том числе влиять на стадии роста и развития (от прорастания до репродуктивной фазы), усиливать их сопротивляемость к неблагоприятным воздействиям окружающей среды, способствуя тем самым повышению продуктивности растений [12, 13]. К негормональным соединениям, оказывающим рострегулирующее действие и способным повышать адаптационные свойства растений к неблагоприятным факторам среды, непосредственно включающимся в метаболизм растений, относятся многие фенилпропаноиды, которые предотвращают разрушение или иммобилизацию регуляторных соединений. Соединения фенилпропанового ряда с помощью гидроксилирующих и метоксилирующих ферментов синтезируются из *транс*-коричной кислоты — эта реакция является ключевой в биосинтезе фенольных соединений, поскольку с нее начинается образование большинства полифенолов в тканях растений. Однако сведения о физиологическом действии экзогенно применяемой *транс*-коричной кислоты на растения немногочисленны [14–17].

Цель работы — получение гидрогелевых частиц пектината кальция, содержащих *транс*-коричную кислоту, и изучение их влияния на прорастание семян кукурузы гибрид Полесский 212 СВ и накопление фотосинтетических пигментов в листьях проростков.

Экспериментальная часть

В работе были использованы следующие реактивы и материалы: пектин низкоэтерифицированный со степенью этерификации 37.5%, $M_v \sim 8.9 \cdot 10^4$ (Herbstreith&Fox, Германия), безводный хлорид кальция «чистый» («Белреахим», Беларусь), *транс*-коричная кислота («Реахим», Россия).

Частицы пектината кальция синтезировали методом ионотропного гелеобразования путем сшивки макромолекул пектина катионами кальция, массовое соотношение пектин:CaCl₂ составляло 1:10 [2]. В эти частицы включали *транс*-коричную кислоту путем ее сорбции из спиртовых (96%) растворов. Концентрацию кислоты варьировали от 0.01 до 25 мг·мл⁻¹. Эффективность включения (ЭВ) и массовую долю (ω) *транс*-коричной кислоты в частицах пектината кальция рассчитывали по формулам

$$\text{ЭВ} = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \cdot 100\%,$$

$$\omega = \frac{m_0 - m_1}{m_{\text{ч}}} \cdot 100\%,$$

где m_1 — масса кислоты в супернатанте (мг), m_0 — исходная масса кислоты в растворе до сорбции (мг), $m_{\text{ч}}$ — масса лиофильного порошка наночастиц пектината кальция с *транс*-коричной кислотой (мг).

Концентрацию *транс*-коричной кислоты в исходном растворе и супернатанте определяли спектрофотометрически по предварительно построенному калибровочному графику $A_{\lambda=270} = f(c)$, регистрируя интенсивность поглощения при длине волны 270 нм на спектрофлуориметре Solar (Беларусь). Порошки частиц получали на лиофильной сушилке Freezone 1.0 (Labconco, США) при -47.0°C в течение 8 ч и давлении 0.04 мбар.

Величину ζ -потенциала частиц пектината кальция определяли по их электрофоретической подвижности на анализаторе Zetasizer Nano-ZS (Malvern, Великобритания).

Морфологию частиц изучали методами атомно-силовой (АСМ) и просвечивающей электронной (ПЭМ) микроскопии. АСМ-изображения частиц, адсорбированных на слое полиэтиленimina, получали на сканирующем зондовом микроскопе MultiMode III (Veeco, США). Условия сканирования: кантилевер из нитрида кремния с константой жесткости $0.12 \text{ Н} \cdot \text{м}^{-1}$, скорость сканирования 3–5 Гц. Изображения обрабатывали, используя программное обеспечение Nanoscope 5.31r1. ПЭМ-изображения частиц получали на просвечивающем электронном микроскопе JEM-100 CX (Jeol, Япония). Для этого частицы пектината кальция адсорбировали из водных растворов на подслое поливинилформала, нанесенного на медную сетку, и сушили при комнатной температуре.

ИК-спектры частиц пектината кальция, в том числе содержащих *транс*-коричную кислоту, записывали в диапазоне $400\text{--}4000 \text{ см}^{-1}$ на ИК-Фурье-спектрометре Tensor-27 (Bruker, Германия).

При изучении кинетики высвобождения активного компонента из полисахаридного носителя в диализную трубку с размером пор 14 кДа (Sigma D9652-100FT) помещали влажный осадок частиц с *транс*-коричной кислотой, погружали ее в пробирку с дистиллированной водой и инкубировали при 24.0°C в нагревательной бане ИКА НВ 10 digital (Германия). Для спектрофотометрического определения количества высвободившейся кислоты в течение всего процесса инкубации отбирали аликвоту (1 мл) среды, заменяя ее эквивалентным объемом свежего раствора, и записывали спектр поглощения на спектрофлуориметре Solar (Беларусь).

Для изучения влияния частиц пектината кальция, в том числе содержащих *транс*-коричную кислоту, на процессы прорастания семян кукурузы проводили инкрустацию семян (30 г) полученными растворами (500 мкл) в соответствии с рекомендациями [18]. В качестве контролей использовали воду, частицы пектината кальция и *транс*-коричную кислоту (в концентрации 1.0 и 2.0 мг·мл⁻¹). При обработке семян кислотой, включенной в пектинатные частицы, ее концентрация в рабочем растворе составляла 2.0 мг·мл⁻¹. Определение всхожести семян проводили по стандартной методике,* содержание фотосинтетических пигментов измеряли по методике, изложенной в [19].

Обсуждение результатов

Для создания носителей на основе пектина для *транс*-коричной кислоты был выбран метод иотропного гелеобразования [20–24], который позволяет формировать нано- и субмикрочастицы пектината кальция, представляющие собой физические гели, пространственная структурная сетка которых закреплена за счет переплетения макромолекул, а также ионных и водородных связей и гидрофобных взаимодействий [2, 20, 25, 26], которые могут быть разрушены при изменении ионной силы и pH среды. С целью разработки средств пролонгированного действия в состав таких частиц могут быть включены как высоко-, так и низкомолекулярные биологически активные соединения.

Синтезированные гидрогелевые частицы пектината кальция заряжены отрицательно [ξ -потенциал = $-(11.8 \pm 1.6)$ мВ], имеют сферическую форму и диаметр 100.0 ± 50.0 нм (рис. 1).

Образование частиц пектината кальция подтверждено ИК-спектроскопией. На ИК-спектре исходного пектина (рис. 2) присутствуют характеристические полосы: пик при 1745 см⁻¹ относится к валентным колебаниям $\nu(\text{C}=\text{O})$ эфирной (COOCH_3) или недиссоциированной карбоксильной группы, а полоса при 1623 см⁻¹ соответствует валентным колебаниям диссоциированной карбоксильной (COO^-) группы [27–29]. В ИК-спектре исходного пектина также присутствует широкая полоса при 3410 см⁻¹, которая относится к валентным колебаниям $\nu(\text{OH})$ (рис. 2). Основные изменения в ИК-спектре пектина после сшивки его макромолекул катионами кальция и образования гидрогелевых частиц происходили в области 1600–1800 см⁻¹ и были обусловлены образованием связей между Ca^{2+} и двумя карбоксильными группами одной или двух молекул полисахарида. Так, после образования пектината кальция наблюдалось значительное увеличение интенсивности и сдвиг максимума до 1630 см⁻¹ полосы асимметричных валентных колебаний $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$ ионизированной карбоксильной группы (рис. 2). Для частиц пектината кальция отмечается сдвиг максимума полосы валентных колебаний $\nu(\text{C}=\text{O})$ эфирной или недиссоциированной карбоксильной группы до 1734 см⁻¹. Кроме того, в длинноволновой области ИК-спектра частиц пектината кальция по сравнению со спектром исходного пектина наблюдается смещение полосы поглощения с 3410 до 3423 см⁻¹, а также значительное увеличение ее интенсивности и расширение (рис. 2). Эта полоса относится к валентным колебаниям свободных гидроксильных групп и может также свидетельствовать об образовании внутри- и межмолекулярных водородных связей. Увеличение интенсивности данной полосы, вероятно, свидетельствует об увеличении прочности водородных связей в пектинате кальция по сравнению с пектином [27].

Синтезированные частицы пектината кальция использовали в качестве контейнеров для *транс*-коричной кислоты. При сорбции *транс*-коричной кислоты из разбавленного раствора (0.1 мг·мл⁻¹) эффективность включения составляла 14.7%. Повышение ее концентрации на один порядок приводило к незначительному увеличению эффективности включения (до 24.3%), и в интервале 1.0–15.0 мг·мл⁻¹ этот параметр составлял 21.0–28.0% (рис. 3). При этом массовая доля *транс*-коричной кислоты в частицах увеличивалась с 1.4 до 56.3 мас% (рис. 3). Дальнейшее повышение содержания кислоты в растворе до 25.0 мг·мл⁻¹ приводит к падению эффективности включения в ~1.7 раза (рис. 3). Низкие значения (<30%) эффективности включения обусловлены тем, что в дан-

* ГОСТ 12038–84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести.

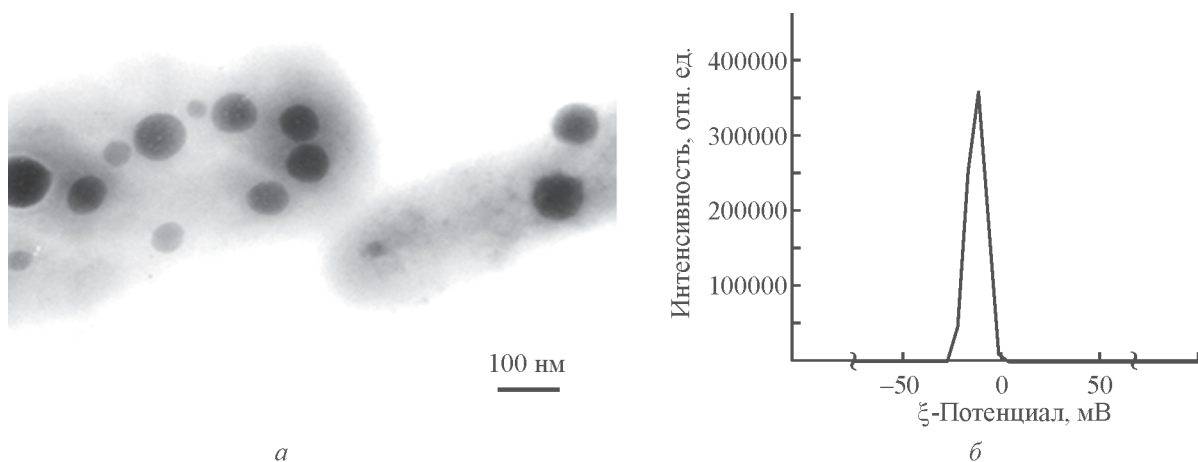


Рис. 1. Электронная микрофотография (а) и ξ-потенциал (б) частиц пектината кальция.

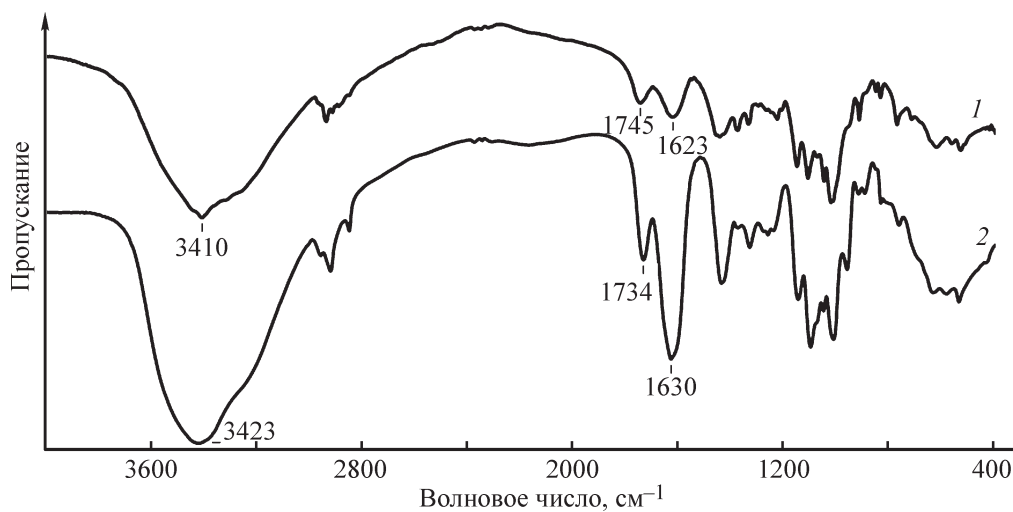


Рис. 2. ИК-спектры пектина (1) и частиц пектината кальция (2).

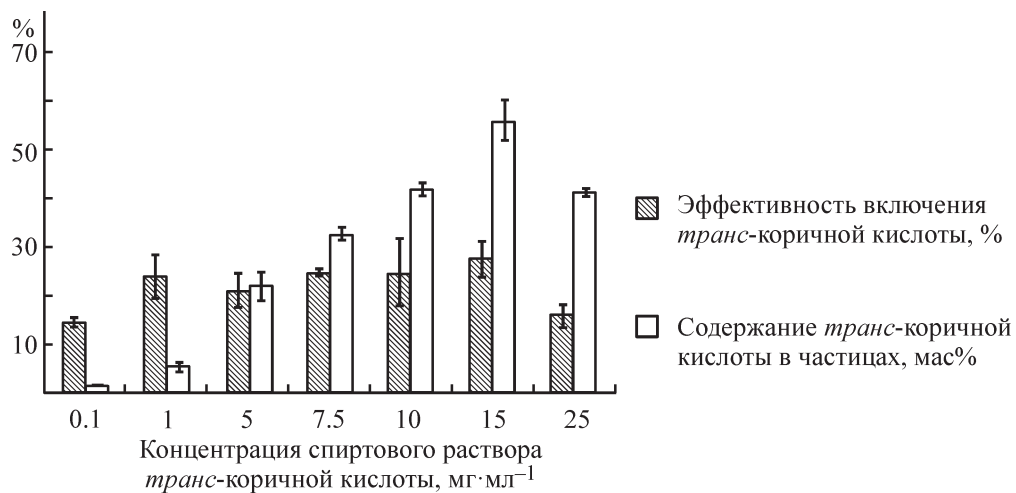


Рис. 3. Содержание транс-коричной кислоты в частицах пектината кальция.

ном случае основной движущей силой является не электростатическое взаимодействие, а физическое внедрение молекул активного компонента в гидрогелевую матрицу частиц, так как и *транс*-коричная кислота, и частицы пектината кальция заряжены отрицательно.

Особенности взаимодействия матрицы-носителя с активным компонентом также оценены с помощью ИК-спектроскопии (рис. 4). Так, в ИК-спектре исходной *транс*-коричной кислоты присутствуют характерные полосы при 1679 и 1628 см^{-1} , обусловленные валентными колебаниями $\nu(\text{C}=\text{O})$ и $\nu(\text{C}=\text{C})$ соответственно [30, 31]. В диапазоне 1400–1600 см^{-1} имеется группа полос при 1576, 1494 и 1449 см^{-1} , соответствующая валентным колебаниям бензольного кольца. Широкая полоса при 3442 см^{-1} относится к валентным колебаниям $\nu(\text{OH})$ гидроксильной группы. В ИК-спектре частиц пектината кальция, содержа-

щих *транс*-коричную кислоту, присутствуют полосы, характерные как для исходных частиц, так и для активного компонента, при этом существенного сдвига полос не наблюдается (рис. 4). Эти данные также позволяют сделать вывод о физическом включении *транс*-коричной кислоты в гидрогелевую структуру матрицы.

Включение *транс*-коричной кислоты в частицы пектината кальция не оказывает существенного влияния на их физико-химические свойства. Так, частицы пектината кальция, содержащие регулятор роста, сохраняют сферическую форму и отрицательный заряд (рис. 5). Следует отметить, что размер частиц, по данным АСМ, находится в интервале 60–160 нм, а их гидродинамический диаметр составляет ~200–700 нм (рис. 5), что обусловлено набуханием гидрогелевых частиц в воде. Включение *транс*-коричной кислоты в частицы пектината кальция практически не изменяет

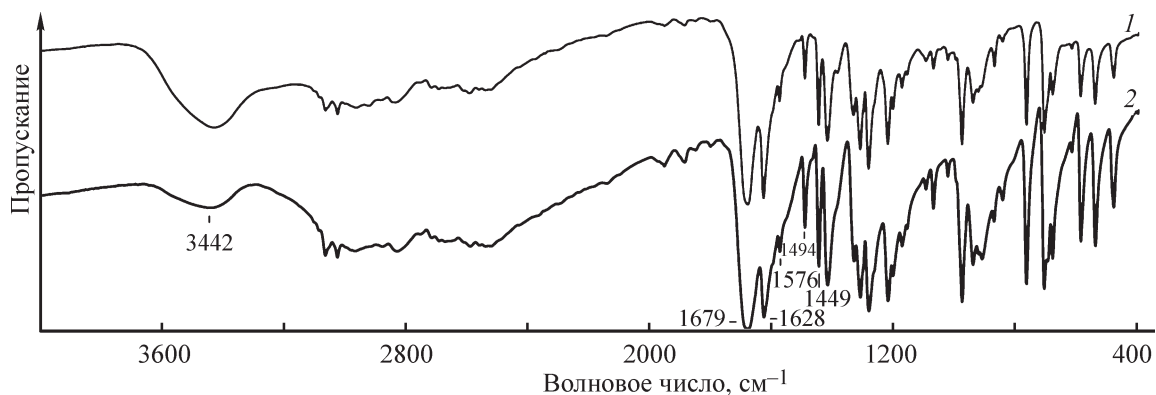


Рис. 4. ИК-спектры частиц пектината кальция, содержащих *транс*-коричную кислоту (1), и свободной *транс*-коричной кислоты (2).

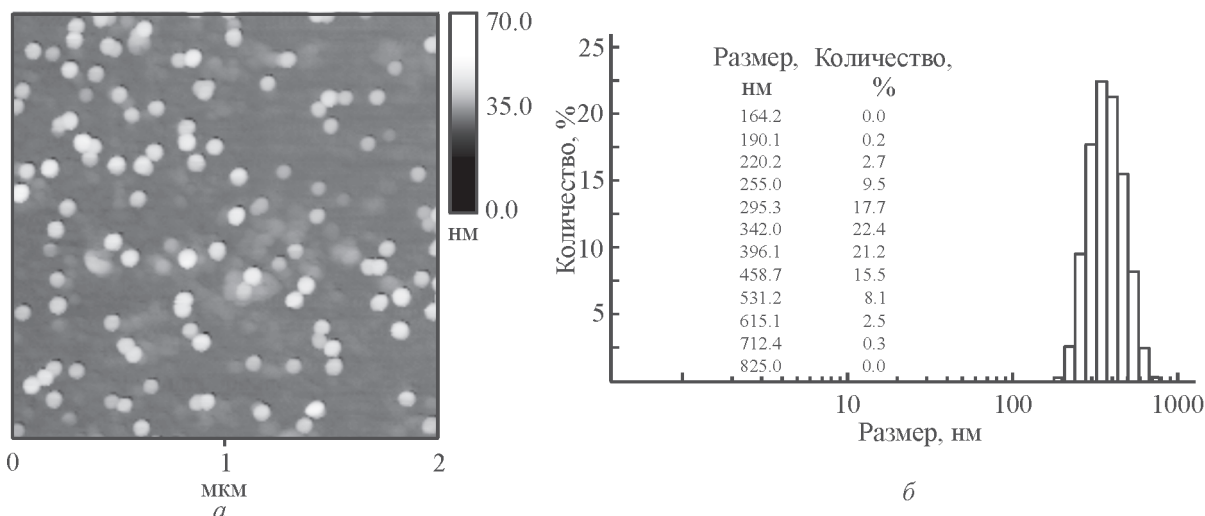


Рис. 5. Изображение, полученное методом атомно-силовой микроскопии (а), и распределение по гидродинамическому диаметру (б) частиц пектината кальция, содержащих *транс*-коричную кислоту.

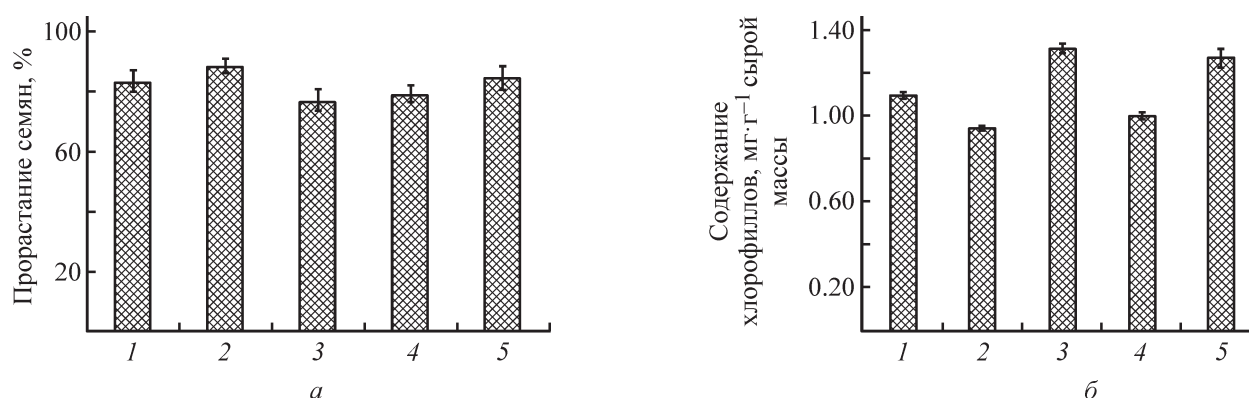


Рис. 6. Количество проросших семян (а) и содержание суммы хлорофиллов в листьях проростков (б) при обработке: водой (1), раствором *транс*-коричной кислоты 1.0 мг·мл⁻¹ (2), раствором *транс*-коричной кислоты 2.0 мг·мл⁻¹ (3), частицами пектината кальция (4), частицами пектината кальция, содержащими *транс*-коричную кислоту 2.0 мг·мл⁻¹ (5).

абсолютное значение ζ -потенциала. Так, дзета-потенциал исходных частиц пектината кальция составляет $-(11.8 \pm 1.6)$ мВ, а содержащих 42.0 мас% *транс*-коричной кислоты — $-(9.6 \pm 2.1)$ мВ.

Для практического использования частиц пектината кальция с *транс*-коричной кислотой для обработки семян важно знать количество свободной и капсулированной кислоты. Установлено, что доля *транс*-коричной кислоты, высвобождающаяся из частиц, зависит от ее массового содержания в частицах. Так, из частиц пектината кальция, содержащих 5.0 мас% кислоты, через 3 сут выдерживания в дистиллированной воде доля высвободившегося вещества составляет ~50–60%. В то же время из частиц, содержащих на порядок больше *транс*-коричной кислоты (55.0 мас%), выход активного компонента через 3 сут достигает 25% от включенного. Следует отметить, что в обоих случаях количество высвободившейся кислоты не изменяется при дальнейшем (до 7 сут) выдерживании образцов в воде.

В сельскохозяйственной практике существуют различные технологии применения регуляторов роста растений синтетического и природного происхождения. Одной из них является обработка семян в пленкообразующем полимере, способствующем адгезии активного соединения на поверхности семени [32]. Полученные частицы пектината кальция, содержащие *транс*-коричную кислоту, были использованы для обработки (инкрустации) семян кукурузы. Использование растворов *транс*-коричной кислоты концентрацией 1.0 мг·мл⁻¹ и пектината кальция, содержащего *транс*-коричную кислоту, при обработке семян кукурузы не оказывало влияния на всхожесть семян (рис. 6, а). Более высокая концентрация кислоты (2.0 мг·мл⁻¹) и частицы пектината кальция оказывали небольшое ингибирующее дей-

ствие на всхожесть семян (рис. 6, а). В то же время отмечено увеличение накопления фотосинтетических пигментов при использовании раствора *транс*-коричной кислоты (2.0 мг·мл⁻¹) и частиц пектината кальция с кислотой на 20.3 и 16.7% соответственно (рис. 6, б).

Выводы

Разработана методика получения частиц пектината кальция, содержащих заданное количество (до 56.3 мас%) *транс*-коричной кислоты, в виде гидрозолей и лиофилизированных порошков. Показано, что частицы пектината кальция, содержащие *транс*-коричную кислоту, не снижают всхожесть семян кукурузы после обработки по сравнению с чистой *транс*-коричной кислотой в той же концентрации и способствуют накоплению фотосинтетических пигментов.

Финансирование работы

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект № Б19-020).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Информация об авторах

Красковский Александр Николаевич, н.с., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4626-4533>

Куликовская Виктория Игоревна, к.х.н., доцент, зав. лаб., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6505-3929>

Гилевская Ксения Сергеевна, к.х.н., доцент, с.н.с.,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3121-0014>

Калацкая Жанна Николаевна, к.б.н., в.н.с., ORCID:
<https://orcid.org/0000-0001-6395-0757>

Недведь Елена Леонардовна, к.б.н., с.н.с., ORCID:
<https://orcid.org/0000-0002-9973-6549>

Ламан Николай Афанасьевич, д.б.н., проф., акад.,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1067-4936>

Агабеков Владимир Енокович, д.х.н., проф., акад.,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7218-3649>

Список литературы

- [1] Mishra R. K., Vanthia A., Majeed A. B. A. Pectin based formulations for biomedical applications: A review // Asian J. Pharmaceutical Clinical Res. 2012. V. 5. N 4. P. 1–7. <https://doi.org/10.1002/9781118301234.ch1>
- [2] Красковский А. Н., Гилевская К. С., Куликовская В. И., Агабеков В. Е. Получение и свойства наночастиц пектината кальция // Изв. НАН Беларуси. Сер. хим. наук. 2014. № 1. С. 51–56.
- [3] Opanasopit P., Apirakaramwong A., Ngawhirunpat T., Rojanarata T., Ruktanonchai U. Development and characterization of pectinate micro/nanoparticles for gene delivery // AAPS PharmSciTech. 2008. V. 9. N 1. P. 67–74. <https://doi.org/10.1208/s12249-007-9007-7>
- [4] Куликовская В. И., Егоров Д. И., Агабеков В. Е. Получение и свойства микрочастиц пектината кальция, содержащих мирамистин // Докл. НАН Беларуси. 2015. Т. 59. № 6. С. 62–66.
- [5] Pereira A. E. S., Silva P. M. M., Oliveira J. L., Oliveira H. C., Fraceto L. F. Chitosan nanoparticles as carrier systems for the plant growth hormone gibberellic acid // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2017. V. 150. P. 141–152. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.11.027>
- [6] Li M., Tshabalala M. A., Buschle-Diller G. Formulation and characterization of polysaccharide beads for controlled release of plant growth regulators // J. Mater. Sci. 2016. V. 51. N 9. P. 4609–4617. <https://doi.org/10.1007/s10853-016-9775-0>
- [7] Елькина Е. А., Шубаков А. А., Оводов Ю. С. Влияние растительных полисахаридов на скорость прорастания семян *Lycopersicon esculentum* и *Cucumis sativus* L. // Химия раст. сырья. 2002. № 2. С. 105–109.
- [8] Оводов Ю. С. Полисахариды цветковых растений: структура и физиологическая активность // Биоорган. химия. 1998. Т. 24. № 7. С. 483–501.
- [9] Анисимов М. М., Петрова О. М., Логачев В. В., Донец Е. А., Горовой П. Г. Влияние водно-этанольного экстракта из *Caulophyllum robustum Maxim.* на рост корня проростков *Cucumis sativus* L. // Раст. ресурсы. 2000. № 4. С. 100–105.
- [10] Елькина Е. А., Шубаков А. А., Оводов Ю. С. Влияние пектинов на рост злаковых культур // Химия раст. сырья. 2005. № 4. С. 53–56.
- [11] Молчан О. В., Драгун П. А., Юрин В. М. Влияние пектиновых нано- и субмикронных частиц на физиолого-биохимические показатели суспензионных культур *Vinca sp. in vitro* // Тр. БГУ. 2016. Т. 11. № 1. С. 267–272.
- [12] du Jardin P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation // Sci. Hortic. 2015. V. 196. P. 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
- [13] Yakhin O. I., Lubyantsev A. A., Yakhin I. A., Brown P. H. Biostimulants in plant science: A global perspective // Front Plant Sci. 2017. V. 7. 2049. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02049>
- [14] Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты / Под ред. Н. В. Загоскиной, Е. Б. Бурлаковой. М.: Науч. мир, 2010. С. 267–273.
- [15] Cheynier V., Comte G., Davis K. M., Lattanzio V., Martens S. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology // Plant Physiol. Biochem. 2013. V. 72. P. 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.05.009>
- [16] Lattanzio V., Kroon P. A., Quideau S., Treutter D. Plant phenolics — secondary metabolites with diverse functions // Recent Advances in Polyphenol. 2008. V. 1. P. 1–35.
- [17] Vogt T. Phenylpropanoid biosynthesis // Molecular Plant. 2010. V. 3. N 1. P. 2–20. <https://doi.org/10.1093/mp/ssp106>
- [18] Протравливание семян сельскохозяйственных культур пленкообразующими составами и препаратами. М.: Агропромиздат, 1988. С. 16–19.
- [19] Шлык А. А. Определение хлорофилла и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений / Под ред. О. А. Павлиновой. М.: Наука, 1971. С. 154–170.
- [20] Burey P., Bhandari B. R., Howes T., Gidley M. J. Hydrocolloid gel particles: Formation, characterization, and application // Critical Rev. in Food Sci. and Nutrition. 2008. V. 48. N 5. P. 361–377. <https://doi.org/10.1080/10408390701347801>
- [21] Vauthier C., Bouchemal K. Methods for the preparation and manufacture of polymeric nanoparticles // Pharm. Res. 2009. V. 26. N 5. P. 1025–1058. <https://doi.org/10.1007/s11095-008-9800-3>
- [22] Racovita S., Vaciliu S., Popa M., Luca C. Polysaccharides based on micro- and nanoparticles obtained by ionic gelation and their applications as drug delivery systems // Revue Roumaine de Chimie. 2009. V. 54. N 9. P. 709–718.
- [23] Patil P., Chavanke D., Wagh M. A. A review on ionotropic gelation method: Novel approach for controlled gastroretentive gelispheres // Int. J.

- Pharmacy and Pharmaceutical Sci. 2012. V. 4. P. 27–32.
- [24] *Sriamornsak P., Nunthanid J.* Calcium pectinate gel beads for controlled release drug delivery: I. Preparation and in vitro release studies // *Int. J. Pharmaceutics*. 1998. V. 160. P. 207–212. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(97\)00310-4](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(97)00310-4)
- [25] *Gawkowska D., Cybulska J., Zdunek A.* Structure-related gelling of pectins and linking with other natural compounds: A review // *Polymers*. 2018. V. 10. N 7. 762. <https://doi.org/10.3390/polym10070762>
- [26] *Axelos M. A. V., Thibault J.-F.* The chemistry and technology of pectin. Acad. Press, San Diego, 1991. P. 109–118. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-092644-5.50011-X>
- [27] *Филиппов М. П.* Инфракрасные спектры пектиновых веществ. Кишинев: Штиинца, 1978. С. 14–22.
- [28] *Седакова В. А., Громова Е. С.* Исследование качественного состава сопутствующих сахаров в пектине различного происхождения // *Вестн. фармации*. 2011. № 4 (54). С. 17–23.
- [29] *Алеева С. В., Кокушаров С. А.* Особенности биохимической мацерации отечественного и импортного льняного сырья: сопоставительный анализ химического строения пектиновых веществ // *Химия раст. сырья*. 2010. № 3. С. 11–16.
- [30] *Vinod K. S., Periandy S., Govindarajan M.* Spectroscopic analysis of cinnamic acid using quantum chemical calculations // *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectroscopy*. 2015. V. 136. Part B. P. 808–817. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.09.098>
- [31] *Ravindran B., Mariappan M., Madhurambal G., Ambikavathy S.* Synthesis and characterization of sodium cinnamate // *Int. J. Chem. Pharmaceutical Sci*. 2017. V. 8. N 3. P. 25–28. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.28758.50245>
- [32] *Абеленцев В. И., Жесткова Т. Я.* Инкрустирование — прогрессивный способ протравливания семян // *Защита и карантин растений*. 1998. № 4. С. 51–53.
-