

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ УКРАЇНСЬКОГО БУРШТИНУ

Міронов О.Л.¹, Качалова Н.М.^{1,2}, Дзюба О.І.^{1,3}, Левчик Н.Я.³, Богза С.Л.⁴

¹Інститут Фізико-Органічної Хімії і Вуглехімії ім. Л.М. Литвиненка НАН України, Відділ хімії гетероциклічних сполук, м. Київ, Україна, e-mail: mirracll@gmail.com

²Інститут Фізики НАН України, Відділ когерентної і квантової оптики, м. Київ, Україна, e-mail: kachalova@nas.gov.ua

³Національний Ботанічний Сад імені Н.Н. Гришка НАН України, Відділ алелопатії та відділ культурної флори, м. Київ, Україна, e-mail: levchyk.n@ukr.net

⁴Інститут Органічної Хімії НАН України, Відділ хімії органічних сполук сірки, м. Київ, Україна, e-mail: serge-bogza@yandex.ua

У статті розглядаються результати досліджень біологічної активності зразків бурштину з різних регіонів України. Методом ІЧ-спектроскопії у твердій фазі та розробленої методики аналізу різних фрагментів бурштину було встановлено їх ідентичність як сукцинитів Дніпровсько-Балтійського бурштинового поясу. В якості зразків досліджувались змелені до фракцій 50-500 мкм фрагменти бурштину у водній дисперсії та надкритичні CO₂ екстракти. Досліджено біологічну активність продуктів бурштину (алелопатичну, цитостатичну, антиоксидантну, активуючу та регулюючу дію на рослини, активуючу процеси обміну речовин у тварин, геріатричну дію на людей похилого віку). Також встановлено різницю в біологічній дії фрагментів бурштину з різних регіонів України.

Ключові слова: бурштин, біологічна дія, хімічний склад

RESEARCH OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF UKRAINIAN AMBER

Mironov O.L.¹, Kachalova N.M.^{1,2}, Dzyuba O.I.^{1,3}, Levchyk N.Ya.³, Bogza S.L.⁴

¹L.M. Litvinenko Institute of Physical-Organic Chemistry and Coal Chemistry of the NAS of Ukraine, Department of Heterocyclic Compounds, Kyiv, Ukraine, e-mail: mirracll@gmail.com

²Institute of Physics of the NAS of Ukraine, Department of Coherent and Quantum optics, Kyiv, Ukraine, e-mail: kachalova@nas.gov.ua

³M.M.Gryshko National Botanical Garden of the NAS of Ukraine, Department of Allelopathy and Department of Cultivated Flora, Kyiv, Ukraine, e-mail: levchyk.n@ukr.net

⁴Institute of Organic Chemistry of the NAS of Ukraine, Department of Chemistry organic Sulfur Compounds, Kyiv, Ukraine, e-mail: serge-bogza@yandex.ua

The article exaes the results of studies on the biological activity of amber samples from different regions of Ukraine. The method of IR spectroscopy in the solid phase and the developed method of analysis of various fragments of amber have established their identity as succinites of the Dnipro-Baltic amber belt. Assamples, smeared to fractions of 50-500 μm amber fragments in aqueous dispersion and super critical CO₂ extracts were investigated. The biological activity of amber products (allelopathic, cytostatic, antioxidant, activating and regulating effects on plants, activating metabolic processes in animals, heriary effect on elderly people) was investigated. There is also a difference in the biological effect of amber fragments from different regions of Ukraine.

Keywords: amber, biologicalaction, chemicalcomposition

Бурштин-сукциніт – це найцінніший і найпоширеніший різновид смол рослинного походження. В Україні встановлені значні розміри потенційно перспективних площ (понад 10000 км²), які дають змогу прогнозувати значні ресурси якісного бурштину.

Відкриття та розробка низки родовищ розсипного бурштину в останні два десятиріччя виявили комплекс невирішених науково-теоретичних та практичних проблем використання бурштину окрім ювелірної промисловості також в косметичній, медичній та оздоровчій сфері застосування.

У працях [1, 2] досить повно розглянуті різні фізичні та фізико-хімічні засоби дослідження, які дозволяють відносити бурштин до мінералів органічного походження з брутто формулою C₁₀H₁₆O₄, вмістом бурштинової кислоти та її похідних.

Поширення геологічної розвідки та видобування бурштину в різних регіонах України за останні роки потребує комплексного науково-технічного дослідження, спрямованого на вивчення його хімічного складу та структури. Також актуальним є створення новітніх технологій переробки первинної сировини з метою залучення потужностей місцевих виробництв та інноваційних компаній до процесу створення національних продуктів та розробок.

Мета дослідження: розробка методики ідентифікації бурштину за аналізом хімічної структури; отримання зразків бурштину у вигляді екстрактів та водних дисперсій без термодеструкції молекулярної структури та дослідження їх біологічної активності за стандартними методиками.

Переважає більшість досліджень виконана на вищих рослинах, також є попередні результати дослідження дії комплексу сполук бурштину на тваринах та людей похилого віку для встановлення їх біостимулюючого ефекту.

Матеріали та методи дослідження:

1. Зразки бурштину-сирцю, які нами досліджувалися, мали діапазон розмірів від 2-3 мм до 15-20 мм та були забруднені, ми їх попередньо відмивали у проточній воді, а потім у 10% водному розчині хлористого натрію. Щільність бурштину за попередніми даними [1] може коливатися в діапазоні 1,00 – 1,07, тому він спливає на поверхню у розчині хлористого натрію, а більш тверді домішки інших мінералів та породи залишаються на дні посуду.

2. Далі зразки бурштину відмивалися від залишків хлористого натрію та сушили при кімнатній температурі декілька днів або у шафі з температурою 40-50⁰С. Зразки за розміром більше 20 мм відбиралися для подальших випробувань, а решта розмелювалась на контрольовані фракції.

3. Для деяких випробувань зразки бурштину диференціювали за кольором на 4 групи: - більш темні, непрозорі/прозорі, коричневатого чи темно-янтарного кольору (зразки

Б1), світліші, жовтуваті, лимонного кольору, світло-янтарного полупрозорі та прозорі (зразки Б2), зразки темно-червоного чи вишневого кольору прозорі та полупрозорі (Б3) та механічна суміш усіх попередніх зразків (Б4). Найбільша численна маса зразків бурштину різних родовищ України була з групи Б1 та Б2.

4. Оскільки при механічному розмеленні зразків бурштину особливо до дрібних фракцій менш ніж 100 мкм відбувався нагрів вихідного матеріалу, що призводило до деструкції природних складових бурштину, зразки попередньо охолоджувались рідким азотом.

Було досліджено зразки бурштину з різних регіонів України (Житомирська обл., Олевський район та Рівненська область – родовища Клесово і Володимирець-Східний). Фрагменти українського бурштину подрібнювалися в масі на лабораторному млині Kinematica AG модель Polymix® PX-MFC 90 D.

Розмелений бурштин у подальшому було використано для приготування водних, водно-спиртових та CO₂-екстрактів, а також для експериментів по дослідженню біологічної активності.

Методи досліджень – ІЧ-спектроскопія з Фур'є перетворенням; ВЕР-хроматографія; а також стандартні методики на біологічні активності за: А.М. Гродзінським, Б.Г. Івановим, В.І. Білаєм; антиоксидантну активність досліджували методом Фоліна–Чоколтеу та реакції зі стабільним радикалом дифеніл пікрілгідразилом (DPPH). Також використовувались стандартні тести на вестибулярний апарат та тести на пам'ять.

Результати дослідження

Ідентифікація зразків бурштину

Інфрачервона спектроскопія є потужним і експресним методом діагностики та ідентифікації бурштину. Можливість отримання спектра відбиття дозволяє вивчати і діагностувати камені навіть у закріпці. Як і будь-яка органічна речовина, бурштин має власний унікальний ІЧ-спектр поглинання, що дозволяє відрізнити його від синтетичних імітацій. Нами були проведені дослідження спектральних характеристик зразків бурштину методом ІЧ-спектроскопії з метою виявлення характерних особливостей. На рис. 1, 2 наведено ІЧ-спектри дрібних фрагментів бурштину різних географічних районів України: Житомирська обл. (Олевський р-н), Рівненська обл. (Клесово).

Отже, при використанні Фур'є-спектроскопії (ФС) спектральна роздільність фактично визначається вже не якістю використаної апаратури, а природою досліджуваних об'єктів. Завдяки високій роздільній здатності, а також можливості вимірювань спектрів значної протяжності ФС забезпечує істотне просування в дослідженні коливально-обертальних спектрів. Значне співвідношення сигнал-шум дозволяє також ефективно працювати з

малопрозорими об'єктами, що є актуальним для бурштинів та інших природних смол.

Проведені дослідження дозволили виявити специфічну конфігурацію інфрачервоних спектрів сукциніту, зумовлену поєднанням основних смуг поглинання та близьким до постійного співвідношенням їх інтенсивності. Смуги поглинання, розташовані у короткохвильовій частині спектра між 1270 cm^{-1} і 1120 cm^{-1} , саме для сукциніту є діагностичними, оскільки унікальною характеристикою цього виду смол є наявність широкого горизонтального «плеча» в діапазоні $1250\text{--}1195\text{ cm}^{-1}$ («балтійське плече») в поєднанні з гострим піком, так званим «балтійським зубцем» – $1250\text{--}1160\text{ cm}^{-1}$, що досягає максимальної інтенсивності близько $1170\text{--}1160\text{ cm}^{-1}$, після чого поглинання зменшується дуже швидко.

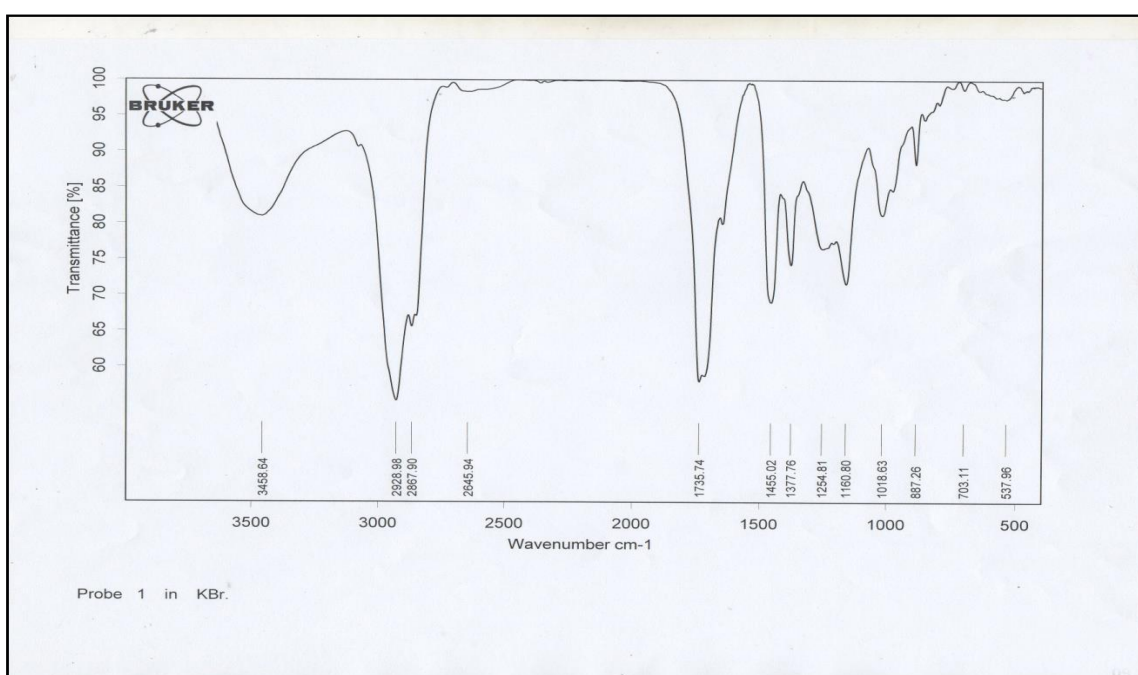


Рисунок 1. ІЧ-спектр усереднених 20 дрібних фрагментів з Житомирської обл. (Олевський р-н).

В інфрачервоній області використання Фур'є-перетворення (FT-IR) дозволяє отримати спектри з максимальною роздільною здатністю - відношенням сигнал-шум $R > 100$. Отже, при використанні Фур'є-спектроскопії спектральна роздільність фактично визначається вже не якістю використаної апаратури, а природою досліджуваних об'єктів. Завдяки високій роздільній здатності, а також можливості вимірювань спектрів значної протяжності ФС забезпечує істотне просування в дослідженні коливально-обертальних спектрів. Значне співвідношення сигнал-шум дозволяє також ефективно працювати з малопрозорими об'єктами, що є актуальним для бурштинів та інших природних смол.

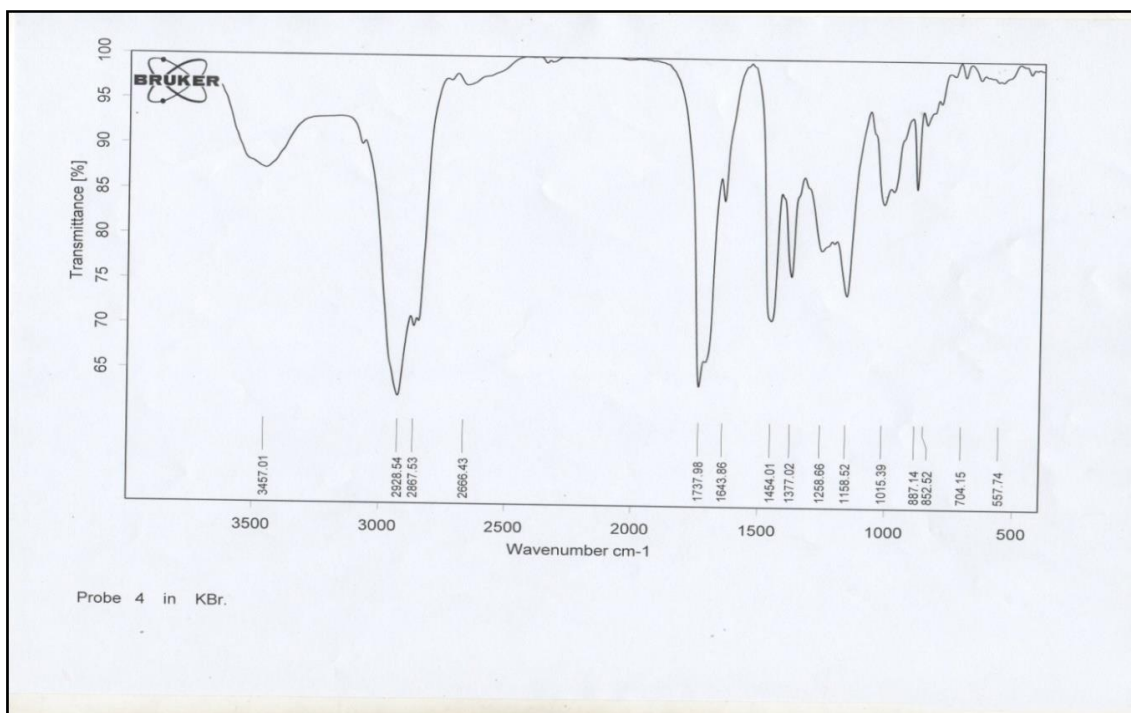


Рисунок 2. ІЧ-спектр усереднених 20 дрібних фрагментів з Рівенської обл. (Клесово).

Проведені дослідження дозволили виявити специфічну конфігурацію інфрачервоних спектрів сукциніту, зумовлену поєднанням основних смуг поглинання та близьким до постійного співвідношенням їх інтенсивності. Смуги поглинання, розташовані у короткохвильовій частині спектра між 1270 см^{-1} і 1120 см^{-1} , саме для сукциніту є діагностичними, оскільки унікальною характеристикою цього виду смол є наявність широкого горизонтального «плеча» в діапазоні $1250\text{--}1195\text{ см}^{-1}$ («балтійське плече») в поєднанні з гострим піком, так званим «балтійським зубцем» – $1250 < 1160\text{ см}^{-1}$, що досягає максимальної інтенсивності близько $1170\text{--}1160\text{ см}^{-1}$, після чого поглинання зменшується дуже швидко.

ВЕР – хроматографія екстрактів бурштину.

Кількісний вміст бурштинової кислоти при екстракції з твердої фази бурштину може коливатись у широкому діапазоні. У всіх екстрактах присутня бурштинова кислота, що надає їм високу біологічну активність. На рис. 3 наведено хроматограми водних та органорозчинних екстрактів бурштину.

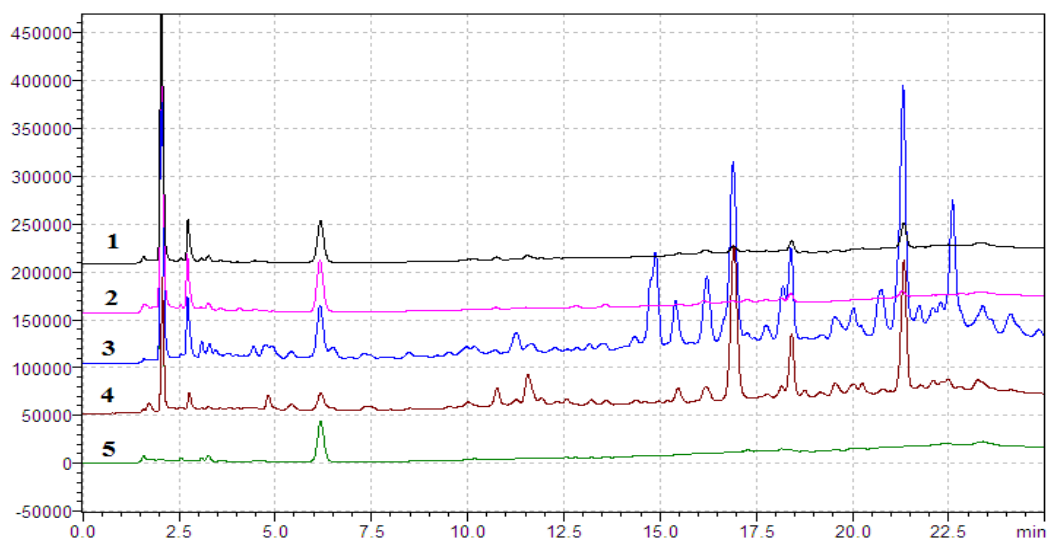


Рисунок 3. Хроматограми: (1) - водно-етанольний екстракт бурштину; (2)- екстракт бурштину у солкіталю (3) - CO₂ екстракт; (4) – етанольний екстракт (5) - розчин порівняння бурштинової кислоти.

Було проведено ідентифікацію основного піку на хроматограмі випробовуваного розчину зразка «екстракту CO₂». Ідентифікацію проводили за часом утримання і по співвідношенню значень оптичних одиниць поглинання на довжинах хвиль $\lambda = 220$ нм і $\lambda = 254$ нм. В результаті було встановлено, що:

- усі екстракти незалежно від розчинника мають вміст бурштинової кислоти;
- пік з часом утримання близько 22,5 хв відповідає абієтиновій кислоті (максимальне поглинання на $\lambda = 241$ нм);
- кількісний вміст усіх речовин, які мають піки з часом утримання більше 15 хв, складає близько 18 % в перерахунку на бурштинову кислоту;

а також, визначено складні спирти абієтол, борнеол та складні ефіри [3].

Дослідження біологічної активності на вищих рослинах.

Алелопатична та цитостатична активності. До компонентів бурштину, які виявляють біологічну активність, насамперед відносять бурштинову кислоту і її солі, які беруть участь в процесах енергообміну клітини, підвищують стійкість до стресів і стимулюють клітинний розподіл. У різних концентраціях також присутні мікроелементи, смоляні кислоти їх спирти і складні ефіри, дитерпени впливають на мітоз та алелопатичну активність.

Проведено біотести в двох повторах за методикою А.М. Гродзинського [4] на добових і 3-х добових проростках огірків сорту «Конкурент» використовуючи різні концентрації водних розчинів бурштину, див.табл.1.

Таблиця 1. Показники приросту проростків огірків в залежності від часу експозиції на зразках бурштину (Б1, Б2, Б3, Б4) у різних концентраціях.

Концентрація бурштину, г/л	Сира маса, г		Суха маса, г		Приріст маси, %	
	Надземна частина	Корінь	Надземна частина	Корінь	Надземна частина	Корінь
Зразок Б1						
Контроль	0,193±0,017	0,180±0,020	0,026±0,009	0,006±0,001	100	100
0,1	0,216±0,014	0,172±0,022	0,015±0,001	0,006±0,001	120	95
0,5	0,215±0,011	0,170±0,018	0,017±0,002	0,007±0,001	118	93
1,0	0,225±0,006	0,165±0,024	0,022±0,004	0,007±0,001	121	90
Зразок Б2						
Контроль	0,199±0,010	0,157±0,016	0,014±0,001	0,006±0,001	100	100
0,1	0,222±0,011	0,156±0,006	0,031±0,003	0,036±0,016	103	79,4
0,5	0,218±0,011	0,140±0,013	0,026±0,004	0,009±0,001	103	86,7
1,0	0,206±0,005	0,156±0,011	0,026±0,003	0,008±0,001	97,2	98
Зразок Б3						
Контроль	0,209±0,013	0,169±0,014	0,020±0,002	0,009±0,001	100	100
0,1	0,150±0,011	0,127±0,009	0,012±0,001	0,008±0,001	73	74
0,5	0,170±0,011	0,163±0,016	0,014±0,001	0,008±0,001	82	96
1,0	0,201±0,017	0,173±0,016	0,015±0,001	0,008±0,001	98	103
Зразок Б4						
Контроль	0,175±0,009	0,176±0,013	0,018±0,003	0,026±0,016	100	100
0,1	0,180±0,007	0,166±0,008	0,016±0,002	0,010±0,001	104	104
0,5	0,197±0,010	0,178±0,016	0,023±0,005	0,016±0,001	110	108
1,0	0,190±0,012	0,157±0,015	0,016±0,001	0,009±0,001	110	98

Нами показано [5], що водні суспензії бурштину, незалежно від походження та ступеню дисперсності, виявляють алелопатичну активність та мають властивості регулятора росту рослин, здійснюючи вплив як на підземну, так і надземну їх частину. Встановлено також [6], що суспензії бурштину здійснюють цитостатичну активність.

Біостимулююча активність. Актуальним також є пошук ефективних фізіологічно активних речовин, здатних стимулювати процеси обкорінення живців. В зв'язку з цим, було проведено дослідження з вивчення біологічних особливостей та можливостей застосування бурштину в якості природного ефективного та безпечного фіторегулятора рослин культурної флори.

Для укорінення живців при вегетативному розмноженні брали здерев'янілі живці чоловічих особин рослин *A. Arguta* сорту «Дон Жуан», обробляли їх водним 2 г/л розчином

бурштину зразка Б4 та 100 мг/л стимулятором росту рослин гетероауксином (ІОК - β-індолілоцтова кислота). Експозиція обробки становила приблизно 12-годин. Контролем слугувала вода. Потім визначали відсоток обкорінення живців та довжину приросту їх надземної та підземної частини. В табл. 2 наведені результати експериментів по окоріненню живців.

Таблиця 2. Вплив ІОК та бурштину на обкорінення здерев'янілих живців актинїдії (*A. arguta*).

Варіант	Обкорінення, %	Довжин а пагонів, см	Кількіст ь пагонів, шт	Довжин а коренів, см	Кількість коренів, шт
Контроль	100,0	12,0±10, 1	1,4±0,9	19,2±8.7	7,0±4,5
ІОК, 100 мг/л	125,5	14,6±6,8	1,8±0,8	23,9±6,9	8,2±2.6
Бурштин, 2г/л	130,0	17,1±11, 0	1,6±0,6	23,9±9,5	12,3±3,5

В результаті було відмічено збільшення довжини пагонів рослин *A. arguta* у порівнянні із контролем на 42% і у порівнянні з впливом ІОК - на 17%. Довжина коренів виявилась більшою по відношенню до контролю майже на 25% як при обробці бурштином, так і ІОК. Найбільша кількість новоутворених коренів 12,3 шт. утворилась після обробки рослин *A. arguta* бурштином, що на 75% більше порівняно із контролем і на 50% - із обробленими ІОК.

Біотехнологічні дослідження. Пошук нових біотехнологій, які впливатимуть на процеси проростання рідкісних та важкорозмножуваних рослин також є актуальним напрямком. Було проведено дослідження впливу монтморилонітової глини та бурштину у складі поживного середовища на фізіологічні процеси живців під час мікроклонального розмноження рослин в умовах *in vitro*.

Монтморилонітові глини (бентоніти) вітчизняних, зокрема Дашуківського та Кудринського родовищ містять в своєму складі макро- і мікроелементи (такі як: кальцій, сірка, магній, залізо, мідь, цинк, марганець та інші) в легкодоступних засвоюваних формах, можуть бути використані у сільському господарстві. Бентоніт має високу адсорбційну, іонообмінну, каталітичну активність, сполучні колоїдальні, дисперсійні, водопоглинаючі властивості. Бентоніт активно застосовують у землеробстві при меліорації ґрунту. Та, на жаль, повний природний ресурс бентонітів не використовується повною мірою.

Під час роботи в данному напрямку проводилось тестування нової композиції поживного середовища на основі MS із додаванням модифікованої певним чином бентонітової глини 1,5 г/л та бурштину 1,5 г/л, див. рис. 4. Тест культурою було обрано огірки сорту «Конкурент».



Рисунок 4. Фото 6-ти тижневі проростки огірків на різних композиціях поживного середовища: 1 – контроль на MS; 2 – MS+1,5 г/л бентоніт; 3 – MS+1,5 г/л бентоніт+1,5 г/л бурштин.

Попередні лабораторні експерименти дали можливість зробити перші висновки про те, що бентонітова глина та бурштин в складі поживних середовищ при культивуванні рослин в умовах *in vitro* здійснюють стимулюючу дію на проростки огірків.

Антиоксидантна активність. Нами також досліджувалась антиоксиданта (антирадикальна) активність водних та спиртових екстрактів бурштину. На рис. 5 наведено порівняльні результати антирадикальної активності екстрактів різних зразків бурштину.

Різниця в активності для водних екстрактів спостерігалася через 24 години після початку реакції: екстракт водний 1 > екстракт водний 4 > екстракт водний 3 > екстракт водний 2.

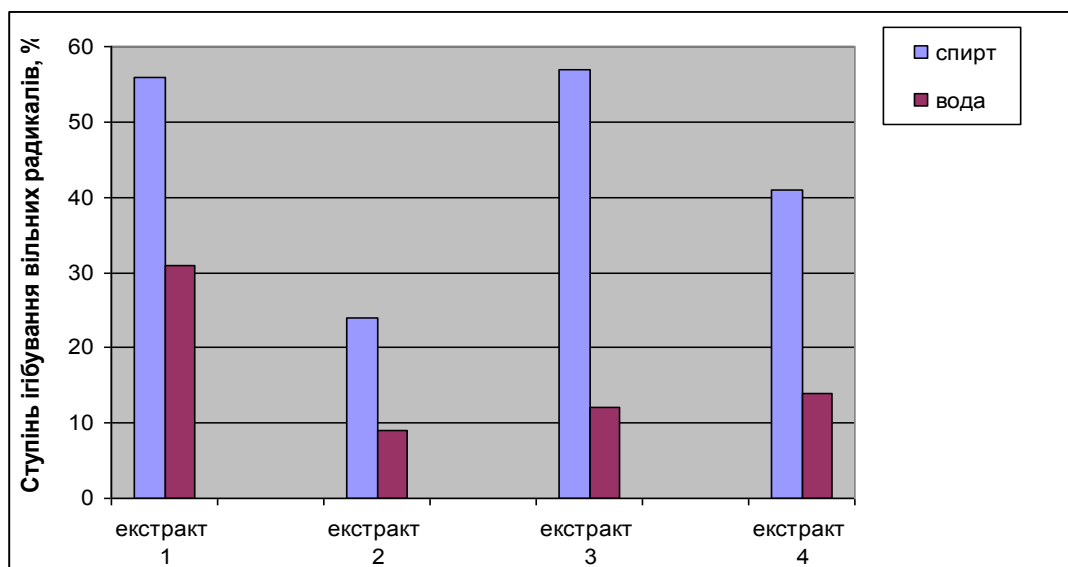


Рисунок 5. Антирадикальні властивості екстрактів через 24 години після початку реакції.

Таким чином, спиртові екстракти 1, 3, 4 та водний екстракт 1 проявляють помітну антирадикальну активність в реакції зі стабільним радикалом дифенілпікрилгідразилом. Активність спиртових екстрактів 1, 3, 4 в умовах стандартного DPPH-30 тесту відповідає активності розчину аскорбінової кислоти з концентрацією ~ 5 мкмоль/л.

Попередні дослідження біологічної активності водних екстрактів бурштину на домашніх тваринах та у групі людей похилого віку

Вплив бурштинової кислоти на енергообмін людини підтверджено класичною наукою - відкриття циклу Кребса.

Наразі у біологічних експериментах більшість досліджень спрямовано на вивчення дії синтетичної бурштинової кислоти. Синтетична бурштинова кислота використовується при виготовленні різноманітних фармакологічних препаратів. Наші роботи виключно спрямовані на дослідження впливу бурштинової кислоти природної конфігурації.

У роботах [5, 6] доведено покращення показників енергообміну та дихання на тест-рослинах. В літературі є достатня кількість досліджень, які вказують на стабілізуючий вплив природного бурштину на процеси обміну речовин та серцево-судинну систему щурів. Нами також було проведено попередні дослідження на невеликій групі котів та сотні собак, які у період 2 тижнів вживали воду з додаванням водного екстракту бурштину у кількості 100-200 мл, в залежності від маси тіла. Практично в 100 % тварин спостерігалось поліпшення апетиту і стан вовни, яке опосередковано відображає вплив на обмін речовин і енергообмін.

Також нами були проведені попередні дослідження в групі (8 осіб) людей похилого віку (більш 60 років), які на протязі 10 діб вживали питну воду з додаванням водного екстракту бурштину (500 – 700 мл). Попередньо в цій групі були проведені стандартні тести на

утримання рівноваги з закритими очима (вестибулярна система) і на пам'ять зі стандартним набором слів. В досліджуваній групі спостерігалось збільшення часу утримання рівноваги до 10-12 секунд в порівнянні з контрольною групою 7-8 секунд, також поліпшувалися когнітивні функції та пам'ять. Слід враховувати, що окрім бурштинової кислоти та її солей в водних та водно-спиртових екстрактах природного бурштину також присутні ефірні олії, мікроелементи, складні ефіри та кислоти, які також можуть приймати участь у поліпшенні стану людей похилого віку.

Висновки:

1. Природний бурштин з різних регіонів України має схожу фізико-хімічну структуру за даними ІЧ-спектроскопії та відноситься до групи сукцинітів Балтійсько-Дніпровського басейну, наразі може бути використаний як однотипний матеріал для подальшої переробки в різних галузях промисловості.

2. Бурштин-сукциніт та його продукти (кріо-подрібнена пудра, водні, водно-спиртові екстракти та суспензії, СО₂-екстракти) показують різноманітний спектр біологічно активного впливу на вищі рослини, що може бути ефективно використано у сільськогосподарському виробництві, декоративному озелененні, вирощуванні саджанців рідкісних рослин та біологічних експериментах.

3. Водні екстракти бурштину підвищують рівень енергообміну та поліпшують обмін речовин у домашніх тварин, що є патентоспроможним результатом.

4. Водні екстракти бурштину поліпшують стан людей похилого віку, впливають на вестибулярні функції, когнітивні функції та пам'ять, що може бути корисно у розробці геріатричних препаратів та оздоровчих процедур.

Список літератури.

1. Сребродольский Б.И. Мир янтаря / Б.И. Сребродольский – К.: Наук. думка, 1988. – 144 с.
2. Abduriyim A. Green Amber – characteristics and Treatments // A. Abduriyim. In Color. – 2009. – № 12. – Р. 26–31.
3. Патент на корисну модель 117346 UA, МПК C11B 1/10 (2006.01), C11B 9/00, C11B 9/02 (2006.01) Спосіб вироблення ефірно-олійного екстракту з бурштину / О.Л. Миронов, Н.М. Качалова, О.І. Дзюба, С.Л. Богза; заявник Інститут фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л.М.Литвиненка НАН України. - № u201613504; заявл. 28.12.2016; опубл. 26.06.2017, Бюл. № 12, 2017 р.
4. Биопробы и биотесты (незаконченные рукописи академика А.М. Гродзинского). Под ред.

В.П. Грахов, Е.Н. Бойко, Н.В. Заименко – Киев: «Золотые ворота», 2011. – 364 с.

5. Миронов О.Л. Исследование влияния природных компонентов янтаря балтийско-днепровского бассейна на клеточный рост и активацию высших растений / О.Л. Миронов, Н.М. Качалова, Н.Я. Левчик, А.В. Любинская, О.И. Дзюба //Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: материалы Международной научной конференции и Двенадцатого съезда Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков, Минск, 28—30 июня 2016 г. / ред. кол.: И. Д. Волотовский [и др.]. - В 2 ч. Ч. 2. - Минск: Изд. центр БГУ, 2016. - С. 123-126.
6. Levchyk N.Ya. Biological activity of aqueous solution of amber./ N.Ya. Levchyk, O.I. Dziuba, N.M. Kachalova, O.L. Mironov // *Biotechnologia acta*. -2017. - V. 10, No 6. - P. 53-60.