

МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ЭКСТРАКТАХ БИОМАССЫ ЛИСТЬЕВ *ARCTIUM LAPPA L.*

Р.Г. Хайбуллин

аспирант, кафедра «Химия и биотехнология»,
Пермский национальный исследовательский политехнический университет (г. Пермь, Россия)
E-mail: ruslan.khaibullin@yandex.ru

Е.Ю. Тумилович

к.фарм.н., доцент, кафедра токсикологической химии,
Пермская государственная фармацевтическая академия (г. Пермь, Россия)
E-mail: e.tumilovich@gmail.com

Л.В. Волкова

д.м.н., профессор, кафедра «Химия и биотехнология»,
Пермский национальный исследовательский политехнический университет (г. Пермь, Россия)
E-mail: wolkowalw@mail.ru

Т.Л. Малкова

д.фарм.н., профессор, кафедра токсикологической химии,
Пермская государственная фармацевтическая академия (г. Пермь, Россия)
E-mail: malkova-tl@pfa.ru

Актуальность. Ферментация биомассы листьев *Arctium lappa L.* (лопуха большого) при помощи микроорганизмов *Lactobacillus plantarum* позволяет получать биологически активные продукты, содержащие в своем составе спектр соединений, обусловленный как составом используемого растительного сырья, так и синтезируемыми бактериальными метаболитами, одними из которых являются короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), играющие важную роль в поддержании здоровья человека. В совокупности с имеющимся в составе листьев *A. lappa L.* полисахаридом инулином, наличие в конечном продукте КЦЖК будет оказывать комплексное, в том числе пребиотическое и метабиотическое действие на организм, что позволит использовать ферментированную биомассу в качестве фармацевтической субстанции для дальнейшего получения препаратов с целью профилактики и вспомогательной терапии метаболических нарушений.

Цель исследования – разработка методик определения КЦЖК в водных экстрактах образцов биомассы листьев *A. lappa L.* Оценка эффективности использования микробной ферментации для получения биологически активных субстанций.

Материал и методы. Объект исследования – водные экстракты (1:10) образцов биомассы листьев *A. lappa L.*, полученных методами высушивания, традиционной ферментации и микробной ферментации при помощи микроорганизмов *L. plantarum* 8P-A3. Методы исследования – газожидкостная и высокоэффективная жидкостная хроматография.

Результаты. Разработана методика определения некоторых КЦЖК в растительных экстрактах. Установлено, что содержание кислот-метаболитов в образце микробно-ферментированной биомассы листьев *A. lappa L.*, превышает содержание кислот в образцах, полученных методом высушивания и традиционной ферментации.

Выводы. Разработанные условия определения уксусной, масляной и молочной кислот в растительных экстрактах методом газожидкостной и высокоэффективной жидкостной хроматографии могут применяться для анализа аналогичной продукции из растительного сырья, а также в создании методик определения всего спектра КЦЖК. Ферментация растительного сырья при помощи микроорганизмов *L. plantarum* позволяет получать субстанции, обогащенные КЦЖК, которые в дальнейшем могут использоваться для получения лечебно-профилактических препаратов.

Ключевые слова: *Arctium lappa L.*, микробная ферментация, *Lactobacillus plantarum*, кислоты-метаболиты, газожидкостная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-селективным детектированием.

Для цитирования: Хайбуллин Р.Г., Тумилович Е.Ю., Волкова Л.В., Малкова Т.Л. Методики количественного определения короткоцепочечных жирных кислот в экстрактах биомассы листьев *Arctium lappa L.* Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022;25(11):16–22. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-11-03>

Микробная ферментация биомассы листьев *A. lappa L.* при помощи пробиотических микроорганизмов рода *Lactobacillus* позволяет получать биологически активные субстанции для профилактики и

коррекции метаболических нарушений, содержащие в своем составе полисахарид инулин, а также продукты метаболизма лактобактерий, в том числе короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК) [1, 2].

Короткоцепочечные жирные кислоты – это ряд предельных одноосновных карбоновых кислот, представляющих собой подмножество жирных кислот, которые вырабатываются микробиотой кишечника и имеющих в алифатической цепи не более шести атомов углерода [3]. К КЦЖК исследователи относят уксусную, пропионовую, масляную, валериановую, изовалериановую, капроновую, изокапроновую и молочную кислоты [4, 5].

В организме человека КЦЖК проявляют противомикробную активность, поддерживают водно-электролитный баланс в просвете толстой кишки, являются питательными веществами нормальной микробиоты, регулируют моторику кишечника и

стимулируют пролиферацию кишечного эпителия [6]. В настоящий момент на рынке наблюдается увеличение роста ферментированных растительных продуктов, таким образом разработка методики определения КЦЖК в ферментированных субстанциях является актуальной задачей исследования.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я – разработка методики определения КЦЖК в экстрактах биомассы листьев *Arctium lappa* L.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали водные экстракты (1:10), полученные из образцов растительных субстанций (табл. 1).

Таблица 1. Анализируемые на содержание КЦЖК образцы

№ образца	Состав
1	Высушенная биомасса листьев <i>A. lappa</i> L. (сушка в сушилке конвекционного типа при 100 °С в течение 1,5 ч)
2	Традиционно-ферментированная биомасса листьев <i>A. lappa</i> L. (ферментирование при 25 °С в течение 24 ч)
3	Микробно-ферментированная биомасса листьев <i>A. lappa</i> L. (ферментирование при помощи <i>L. plantarum</i> по разработанной ранее технологии [7])

В образцах устанавливали содержание уксусной, масляной и молочной кислот. Определение уксусной и масляной кислот проводили методом высокоэффективной газожидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на газовом хроматографе Кристалл 5000.2 (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия) с пламенно-ионизационным детектором и автодозатором ДАЖ-2М. Разделение выполняли на капиллярной колонке HP-FFAP 50м×0,32мм×0,52мкм (Agilent-Technologies, США). Содержание молочной кислоты определяли обращенно-фазовым вариантом ВЭЖХ на хроматомасс-спектрометре Shimadzu LC/MS-8050 с тройным квадруполем (Shimadzu, Япония). Для разделения применяли хроматографическую колонку Luna 3μ 100A 150×3 мм с фазой C18 (Phenomenex, США). Ионизацию выполняли методом «электроспрей» (ESI, Electrospray-ionization) в термостатированном источнике ESI в режиме регистрации отрицательных ионов.

В работе использовались следующие реактивы: кислота молочная (Sigma-Aldrich, США), кислота уксусная ледяная (хч, ЗАО «База №1 Химреактивов», Россия), вода для хроматографии (ГФ 14), очищенная системой Simplicity UV (Merck Millipore, США), кислота муравьиная 98% (Sigma-Aldrich, США), этилацетат (х.ч., ЗАО «Вектон», Россия), ацетонитрил (сорт 0, «Криохром», Россия).

Определение уксусной и масляной кислот методом газожидкостной хроматографии. Стандартные растворы уксусной и масляной кислот в концентрации 80 мкг/мл готовили массовым способом растворения в воде для хроматографии. Для проведения анализа по 2,0 мл стандартного раствора и исследуемой пробы помещали в полимерные центрифужные пробирки вместимостью 5 мл, добавляли 200 мкл 10%-ной муравьиной кислоты и 1,0 мл этилацетата. Встряхивали на вортексе пробирочном Biosan MSV-3500 (Biosan, Латвия) в течение 10 мин с интенсивностью 1500 об/мин. Образовавшуюся эмульсию разрушали центрифугированием в течение 5 мин со скоростью 5000 об/мин на центрифуге ELMi CM-50 (ELMI, Латвия). Органический слой отбирали и помещали в хроматографическую вialу. Хроматографирование проводили при следующих условиях:

- температура испарителя – 210 °С;
- температура детектора – 240 °С;
- температура колонки – 80 °С (начальная, выдержка 5 мин, подъем со скоростью 13 °С/мин) до 205 °С (до завершения анализа);
- давление газа-носителя – 70,0 кПа;
- деление потока – 1:10;
- объемная скорость водорода – 45 мл/мин;

объемная скорость воздуха – 450 мл/мин;
 время анализа – 25 мин;
 объем вводимой пробы – 1 мкл.

Также для экстракции КЦЖК апробировали метилтретбутиловый эфир и изобутанол. Однако данные растворители показали меньшую эффективность экстракции целевых компонентов. К тому же они осложняли процесс экстракции из-за высокой летучести (метилтретбутиловый эфир) и трудоемкого отделения от водной фазы (изобутанол).

Определение молочной кислоты методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-селективным детектированием. Из-за низкой летучести молочной кислоты прямое определение ее методом газовой хроматографии затруднительно, поэтому анализ проводили методом ВЭЖХ. Стандартные растворы молочной кислоты в концентрации 40 мкг/мл готовили массо-объемным способом растворением в воде для хроматографии. Для подготовки проб исследуемых экстрактов к анализу 5,0 мл экстракта пропускали через шпри-

цевой мембранный фильтр из регенерированной целлюлозы Chromafil Xtra RC-45/13 (Macherey-Nagel, Германия) с размером пор 0,45 мкм. Затем 1,0 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл (для образца № 1 (табл. 1)) или 100 мл (для образцов №№ 2 и 3 (табл. 1)), доводили водой до метки и перемешивали. Полученный раствор помещали в хроматографическую виалу и затем вводили в хроматограф.

Следует отметить, что разведение водой было необходимо даже для экстрактов с низким содержанием молочной кислоты поскольку при введении чистых неразведенных проб наблюдался сильный матричный эффект со значительным угнетением аналитического сигнала.

Детектирование молочной кислоты проводили в режиме мониторинга множественных реакций (MRM). Использовали переход 89,0→43,0 [8] (энергия соударений 10 В).

Подобранные для хроматографирования условия сведены в табл. 2 [9–12].

Таблица 2. Параметры хроматографирования молочной кислоты

Параметр	Значение		
<i>Жидкостная часть</i>			
Подвижная фаза	0,1%-ная кислота муравьиная-ацетонитрил		
Режим элюирования	Градиентный		
Режим градиента	Время, мин	Элюент А (0,1%-ная кислотата муравьиная), %	Элюент В (ацетонитрил), %
	0,0	80	20
	3,0	80	20
	3,5	40	60
	5,5	40	60
	10,0	80	20
Скорость потока подвижной фазы	0,25 мл/мин		
Температура колонки	40 °С		
Объем вводимой пробы	2 мкл		
Время анализа	10 мин		
<i>Детектор</i>			
Скорость потока газа-распылителя (N ₂)	2 л/мин		
Скорость потока осушающего газа (N ₂)	10 л/мин		
Скорость потока нагревающего газа (воздух)	10 л/мин		
Температура интерфейса	300 °С		
Температура линии десольватации	225 °С		
Температура нагревательного блока	400 °С		

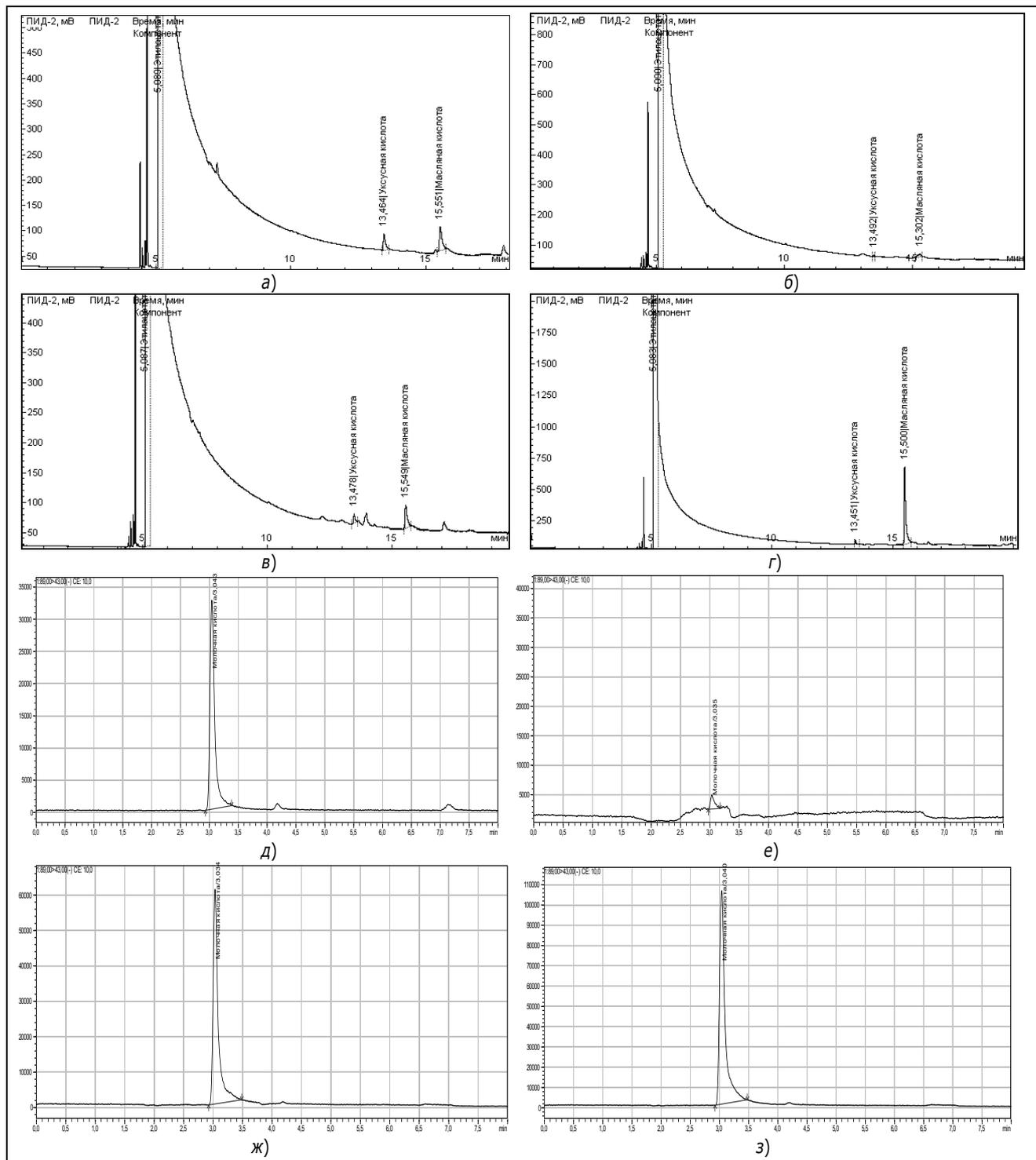


Рисунок. Хроматограммы КЦЖК в разработанных условиях. Уксусная, масляная к-та: а – стандартные растворы, б – проба № 1, в – проба № 2, г – проба № 3; молочная к-та: д – стандартный раствор, е – проба № 1, ж – проба №2, з – проба № 3

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В разработанных условиях проанализировали образцы субстанций из биомассы листьев *A. larra* L. (табл. 3). Время удерживания уксусной и масля-

ной кислот в указанных условиях составило $13,45 \pm 0,06$ и $15,50 \pm 0,2$ мин соответственно, время удерживания молочной кислоты – $3,04 \pm 0,02$ мин (рисунок).

Таблица 3. Содержание КЦЖК в анализируемых образцах

Проба	С _{ср} пика (n=2)	Концентрация в экстракте, мкг/мл	Концентрация в сухом образце, мг/г
<i>Уксусная кислота</i>			
1	11	5,5	0,055
2	127	63,9	0,639
3	115	57,8	0,578
<i>Масляная кислота</i>			
1	45	11,7	0,117
2	246	64,1	0,641
3	2684	699,4	6,994
<i>Молочная кислота</i>			
1	4732	6,1	0,061
2	547659	7058,0	70,580
3	1414288	18233,0	182,330

Из полученных результатов (табл. 3, рисунок) видно, что в экстракте из образца, полученного микробной ферментацией, количество КЦЖК, а именно молочной и масляной, существенно возросло по сравнению с экстрактами из образцов, полученных методом высушивания и традиционной ферментации. Этот факт подтверждает эффективность применения микроорганизмов *L. plantarum* для модернизации процесса традиционной ферментации и получения продуктов с биологически активными свойствами, содержащих пробиотические метаболиты. Следует отметить, что в экстракте из традиционно ферментированного образца также наблюдалось небольшое увеличение количества исследуемых кислот, что можно объяснить присутствием в сырье аборигенной микрофлоры, также участвующей в процессе ферментации.

ВЫВОДЫ

Разработаны условия хроматографирования для количественного определения уксусной, масляной и молочной кислот в образцах экстрактов растительного сырья. Изучено содержание КЦЖК в трех образцах экстрактов биомассы *A. lappa* L., полученной методом высушивания, традиционной ферментации и ферментации при помощи *L. plantarum*.

Результаты хроматографического анализа подтверждают наличие кислот-метаболитов в микробно-ферментированной субстанции биомассы листьев *A. lappa* L., которая может использоваться для получения лечебно-профилактических препаратов. Разработанные условия определения уксусной, масляной и молочной кислот в расти-

тельных экстрактах методом газожидкостной и высокоэффективной жидкостной хроматографии в дальнейшем могут применяться для анализа аналогичной продукции из растительного сырья, а также в разработке методик определения всего спектра КЦЖК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хайбуллин Р.Г., Волкова Л.В. Перспективы получения биологически активных субстанций из биомассы растений методом микробной ферментации (обзор). Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021; 24(4): 3–12.
2. Хайбуллин Р.Г., Волкова Л.В. Математическое моделирование накопления полисахаридов в биомассе листьев *A. lappa* L. в процессе микробной ферментации. Междунациональный научно-исследовательский журнал. 2022; 4(118): 178–183.
3. Tan J., McKenzie C., Potamitis M., Thorburn A.N., Mackay Ch.R., Macia L. The role of short-chain fatty acids in health and disease. Adv. Immunol. 2014; 121: 91–119.
4. Ардатская М.Д., Минушкин О.Н. Современные принципы диагностики и фармакологической коррекции. Гастроэнтерология, приложение к журналу Consilium Medicum. 2006; 8(2).
5. Минушкин О.Н. Сочетанные функциональные расстройства ЖКТ. Их диагностика и лечебные подходы. Медицинский совет. 2015; 13: 20–25.
6. Акоюн А.Н. Диагностика и лечение функциональных нарушений моторики органов пищеварения у детей: Дисс.... канд. мед. наук. РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, 2015.
7. Волкова Л.В., Хайбуллин Р.Г. Патент РФ на изобретение № 2733141 от 29.09.2020 г. Способ получения фитокомпозиции. RU 2019 119 049 А.
8. Al Kadhi O., Melchini A., Mithen R., Saha Sh. Development of a LC-MS/MS method for the simultaneous detection of tri-

- carboxylic acid cycle intermediates in a range of biological matrices. *Journal of analytical methods in chemistry*. 2017. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5624170/>.
9. Крутась Д.С., Зиновьев А.Л., Заманова М.К. Анализ олигомера молочной кислоты и лактида-сырца методом ОФ ВЭЖХ. Материалы XIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Перспективы развития фундаментальных наук». Томск. 2016; 235–237.
 10. Kishore G., Karthik A., Gopal Sh.V., Kumar A.R., Bhat M., Udupa N. Development of RP-HPLC method for simultaneous estimation of lactic acid and glycolic acid. *Der pharmaceutica*. 2013; 5(4): 335–340.
 11. Martinez F.A.C., Balciunas E.M., Salgado J.M., González J.M.D., Converti A., de Souza Oliveira R.P. Lactic acid properties, applications and production: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2013; 30(1): 70–83.
 12. Zamanova M.K., Glotova V.N., Izhenbina T.N., Krutas D.S., Novikov V.T. Simultaneous HPLC-UV determination of lactic acid, glycolic acid, glycolide, lactide and ethyl acetate in monomers for producing biodegradable polymers. *Procedia chemistry*. 2014; 10: 244–251.

Поступила 29 мая 2022 г.

SHORT-CHAIN FATTY ACIDS QUANTITATIVE DETERMINATION METHODS IN *ARCTIUM LAPPA* L. LEAVES BIOMASS EXTRACTS

© Authors, 2022

R.G. Khaibullin

Post-graduate Student, Department of Chemistry and Biotechnology, Perm National Research Polytechnic University (Perm, Russian Federation)
E-mail: ruslan.khaibullin@yandex.ru

E.Y. Tumilovich

Ph.D. (Pharm.), Associate Professor, Department of Toxicological Chemistry, Perm State Pharmaceutical Academy (Perm, Russian Federation)
E-mail: e.tumilovich@gmail.com

L.V. Volkova

Dr.Sc. (Med.), Professor, Department of Chemistry and Biotechnology, Perm National Research Polytechnic University (Perm, Russian Federation)
E-mail: wolkowalw@mail.ru

T.L. Malkova

Dr.Sc. (Pharm.), Professor, Department of Toxicological Chemistry, Perm State Pharmaceutical Academy (Perm, Russian Federation)
E-mail: malkova-tl@pfa.ru

Relevance. Fermentation of *Arctium lappa* L. (burdock) leaves with the *Lactobacillus plantarum* microorganisms makes it possible to obtain biologically active substances containing a range of compounds in its composition. These compounds determined by the used plant material composition and synthesized bacterial metabolites, one of which are short-chain fatty acids (SCFA) that play important role in maintaining human health. In combination with the polysaccharide inulin, present in the leaves of *A. lappa* L, SCFA in the fermented product will have a complex effect, including prebiotic and metabiotic activity. This fermented biomass can be used as a pharmaceutical substance in a drugs production for the prevention and concomitant therapy of metabolic disorders.

Aim of the research - Development of SCFAs determination methods in *A. lappa* L. leaf biomass samples aqueous extracts. Evaluation of the using microbial fermentation effectiveness to obtain biologically active substances.

Material and methods. The objects of study - aqueous extracts (1:10) of *A. lappa* L. leaf biomass samples, obtained by drying, traditional fermentation, and microbial fermentation by *L. plantarum* 8P-A3 microorganisms. Research methods - gas-liquid and high-performance liquid chromatography

Results. As a result, a method of some SCFA determination in plant extracts was developed. It has been established, that the acids-metabolites content in microbial-fermented *A. lappa* L. leaves biomass sample is higher than the acids content in samples obtained by drying and traditional fermentation.

Conclusion. The developed conditions of acetic, butyric and lactic acids determination in plant extracts by gas-liquid and high-performance liquid chromatography can be used to analyze analogous products, as well as to develop determining the entire spectrum of SCFA methods. Plant raw materials fermentation by *L. plantarum* microorganisms makes it possible to obtain SCFA-enriched substances, which can be used to produce therapeutic and prophylactic drugs.

Key words: *Arctium lappa* L., microbial fermentation, *Lactobacillus plantarum*, acids-metabolites, gas-liquid chromatography, high performance liquid chromatography with mass-selective detection.

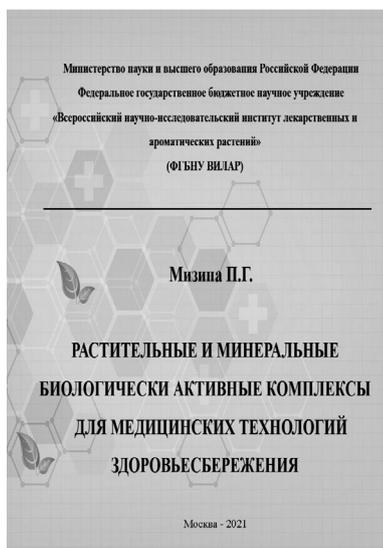
For citation: Khaibullin R.G., Tumilovich E.Y., Volkova L.V., Malkova T.L. Short-chain fatty acids quantitative determination methods in *Arctium lappa* L. leaves biomass extracts. *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2022;25(11):16–22. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-11-03>

REFERENCES

- Hajbullin R.G., Volkova L.V. Perspektivy poluchenija biologicheskij aktivnyh substancij iz biomassy raste-nij metodom mikrobnij fermentacii (obzor). Voprosy biologicheskij, medicinskij i farmaceuticheskij himii. 2021; 24(4): 3–12.
- Hajbullin R.G., Volkova L.V. Matematicheskoe modeli-rovanie nakoplenija polisaharidov v biomasse list'ev A. lappa L. v processe mikrobnij fermentacii. Mezhduna-rodnyj nauchno-issledovatel'skij zhurnal. 2022; 4(118): 178–183.
- Tan J., McKenzie C., Potamitis M., Thorburn A.N., Mackay Ch.R., Macia L. The role of short-chain fatty acids in health and disease. Adv. Immunol. 2014; 121: 91–119.
- Ardatskaja M.D., Minushkin O.N. Sovremennye principy diagnostiki i farmakologicheskij korrekcii. Gastrojen-terologija, prilozhenie k zhurnalu Consilium Medicum. 2006; 8(2).
- Minushkin O.N. Sochetannye funkcional'nye ras-strojstva ZhKT. Ih diagnostika i lecebnyje podhody. Medicinskij sovet. 2015; 13: 20–25.
- Akopjan A.N. Diagnostika i lechenie funkcional'nyh narushenij motoriki organov pishhevarenija u detej: Diss.... kand. med. nauk. RNIMU im. N.I. Pirogova, Moskva, 2015.
- Volkova L.V., Hajbullin R.G. Patent RF na izobretenie № 2733141 ot 29.09.2020 g. Sposob poluchenija fitokompozicii. RU 2019 119 049 A.
- Al Kadhi O., Melchini A., Mithen R., Saha Sh. Development of a LC-MS/MS method for the simultaneous detection of tricarboxylic acid cycle intermediates in a range of biological matrices. Journal of analytical methods in chemistry. 2017. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/artic-les/pmc5624170/>.
- Krutas' D.S., Zinov'ev A.L., Zamanova M.K. Analiz oligomera molochnoj kisloty i laktida-syrca metodom OF VJeZhH. Materialy XIII Mezhdunarodnoj konferencii studentov, aspirantov i molodyh uchenyh «Perspek-tivy razvitija fundamental'nyh nauk». Tomsk.2016; 235–237.
- Kishore G., Karthik A., Gopal Sh.V., Kumar A.R., Bhat M., Udupa N. Development of RP-HPLC method for simultaneous estimation of lactic acid and glycolic acid. Der pharma chemica. 2013; 5(4): 335–340.
- Martinez F.A.C., Balciunas E.M., Salgado J.M., González J.M.D., Converti A., de Souza Oliveira R.P. Lactic acid properties, applications and production: A review. Trends in Food Science & Technology. 2013; 30(1): 70–83.
- Zamanova M.K., Glotova V.N., Izhennina T.N., Krutas D.S., Novikov V.T. Simultaneous HPLC-UV determination of lactic acid, glycolic acid, glycolide, lactide and ethyl acetate in monomers for producing biodegradable polymers. Procedia chemistry. 2014; 10: 244–251.



ИЗДАНИЯ ФГБНУ ВИЛАР



**РАСТИТЕЛЬНЫЕ И МИНЕРАЛЬНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ КОМПЛЕКСЫ
ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ**

Автор: Мизина П.Г.

Монография содержит краткую информацию об использовании в нашей стране некоторых природных компонентов в оздоровлении человека. Обобщены материалы литературных данных и результаты собственных исследований по различным природным компонентам растительного и минерального происхождения, которые используются в медицинских технологиях здоровьесбережения. Материал данной монографии ни в коей мере не является справочником по терапии тех или иных патологий с применением природных биологически активных компонентов, поэтому в ней не содержатся конкретные рецепты и рекомендации по их использованию.

Целью краткого обобщения имеющейся информации по некоторым природным биологически активным комплексам является необходимость снова и снова обратить внимание специалистов и всех интересующихся вопросами здоровьесбережения на то, что в природе заложены огромные запасы оздоровительных компонентов, которые можно успешно использовать, но (!) при условии наличия глубоких знаний и профессиональных умений по их назначению и применению.

Монография рассчитана на специалистов в области медицинских технологий здоровьесбережения, научных работников, аспирантов, магистров, бакалавров, студентов и ни в коей мере не является рекламой тех или иных природных компонентов.

Материал данной работы может быть интересен и широкому кругу читателей.

**По вопросам приобретения книг и монографий обращаться в ФГБНУ ВИЛАР:
117216, г. Москва, ул. Грина, д. 7; +7 (495) 338-11-09; e-mail: vilarnii@mail.ru
<http://vilarnii.ru/institute/our-publications/>**