

УДК 547.728.23:582.29(476.2)
AGRI: F60

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЯ УСНИНОВОЙ КИСЛОТЫ ИЗ ЛИШАЙНИКОВ БЕЛОРУССКОГО ПОЛЕСЬЯ

©Храмченкова О. М., канд. биол. наук, Гомельский государственный университет им.
Франциска Скорины, г. Гомель, Республика Беларусь, hramchenkova@gsu.by

©Новиков Р. И., Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси,
г. Гомель, Республика Беларусь, novikovr86@mail.ru

EXTRACTION EFFICIENCY ANALYSIS OF USNIC ACID FROM LICHENS OF BELARUSIAN POLESIE

©Khramchankova V., Ph.D., Francisk Skorina Gomel State University,
Gomel, Republic of Belarus, hramchenkova@gsu.by

©Novikau R., Institute of radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus,
Gomel, Republic of Belarus, novikovr86@mail.ru

Аннотация. Для трех видов лишайников — *Evernia prunastri*, *Ramalina pollinaria* и *Cladonia arbuscula* оценивали эффективность извлечения ацетоном, этанолом и бензолом усниновой кислоты из биомассы методами холодной мацерации биомассы соответствующим растворителем и экстракции в аппарате Сокслета — напрямую и с предварительной холодной мацерацией биомассы гексаном.

Эффективность извлечения усниновой кислоты из биомассы *Evernia prunastri* и *Ramalina pollinaria* была наибольшей в случае использования метода холодной мацерации гексаном на протяжении 7 суток с последующей экстракцией этанолом в аппарате Сокслета — до 0,43% и 1,81% воздушно-сухой массы лишайника, соответственно. Из биомассы *Cladonia arbuscula* наиболее эффективно усниновая кислота извлекалась методом холодной мацерации ацетоном — до 2,54% воздушно-сухой массы лишайника.

Abstract. The extraction efficiency of usnic acid by acetone, ethanol and benzene from lichens *Evernia prunastri*, *Ramalina pollinaria* and *Cladonia arbuscula* was investigated. The methods of cold maceration of biomass with the appropriate solvent and extraction in the Soxhlet apparatus — directly and with preliminary cold maceration of the biomass with hexane were used.

The extraction efficiency of usnic acid from the biomass *Evernia prunastri* and *Ramalina pollinaria* was greatest when using the method of cold maceration with hexane for 7 days, followed by extraction with ethanol in the Soxhlet apparatus — up to 0,43% and 1,81% of the air-dry mass of the lichen, respectively. From *Cladonia arbuscula* biomass, usnic acid was most efficiently recovered by the method of cold maceration with acetone — up to 2,54% of the air-dry mass of the lichen.

Ключевые слова: лишайники, вторичные метаболиты, усниновая кислота, экстракция, методы, химический выход, ВЭЖХ, концентрация усниновой кислоты.

Keywords: lichens, secondary metabolites, usnic acid, extraction, methods, chemical yield, HPLC, usnic acid concentration.

Усниновая кислота — желтое кристаллическое вещество, производное дибензофурана — один из наиболее известных и изученных вторичных метаболитов лишайников. Название дано по наименованию рода Уснея — одного из наиболее типичных продуцентов усниновой кислоты. Впервые усниновую кислоту выделил в 1844 году Вильгельм Кноп из лишайников родов *Unea* и *Ramalina*. В начале XX столетия была установлена структура молекулы, в 1933–1937 гг. А. Robertson и Ф. Н. Curd впервые синтезировали усниновую кислоту [1, 2]. В настоящее время присутствие усниновой кислоты установлено в талломах множества родов лишайников, в том числе — *Alectoria*, *Cladonia*, *Evernia*, *Flavoparmelia*, *Hypogymnia*, *Lecanora*, *Lepraria*, *Parmeliopsis*, *Vulpicida* и др. [3].

Усниновая кислота, как и другие вторичные метаболиты лишайников, продуцируется гифами микобионта, и откладывается на поверхности их оболочек [4]. Для большинства упомянутых выше родов лишайников усниновая кислота является кортикальным метаболитом — ее присутствие обнаруживается в коровом слое слоевища [3]. Считается, что усниновая кислота выполняет фотозащитную функцию — поглощает ближний ультрафиолет, губительно действующий на фотосинтетический аппарат фотобионта [4, 5]. Содержание усниновой кислоты в талломах разных видов лишайников в пересчете на сухую массу колеблется от долей процента до нескольких процентов, испытывая при этом сезонные колебания [6].

В природе усниновая кислота существует в виде двух энантиомеров — оптически активных стереоизомеров. Стандартным лишайником для (+)-усниновой кислоты является *Evernia prunastri* (L.) Ach.; для (–)-усниновой кислоты — *Cladonia stellaris* (Ach.) Pouzar et Vezda [1]. Усниновая кислота не растворяется в воде, слабо растворяется в этаноле, диэтиловом и петролейном эфирах, хорошо растворяется в бензоле, хлороформе и амиловом спирте [7, 8].

При извлечении вторичных метаболитов из биомассы лишайников используют органические растворители — ацетон, этанол, бензол, метанол, хлороформ, гексан, этилацетат и многие другие. Проблема заключается в том, что в слоевищах лишайников, как правило, содержится набор вторичных метаболитов, один, или несколько из которых присутствуют в наибольшем количестве, остальные — в существенно меньшем. В качестве примера можно привести работу [9], посвященную составу вторичных метаболитов *Hypogymnia physodes*. Используемый при экстракции растворитель извлекает только растворимые в нем вторичные метаболиты, а также, попутно, все другие вещества. Составы экстрактов, полученных из одного и того же вида лишайников, но с использованием различных органических растворителей, отличаются. Соответственно, отличаются и величины выхода экстрактов.

Целью настоящего исследования была оценка эффективности извлечения усниновой кислоты ацетоном, этанолом и бензолом из лишайников *Evernia prunastri* (L.) Ach., *Ramalina pollinaria* (Westr.) Ach. и *Cladonia arbuscula* (Wallr.) Flot. при различных режимах экстракции.

Методы исследований

Выбор объектов исследования был связан с их распространенностью на юго-востоке Беларуси [10, 11], наличием описаний состава вторичных метаболитов в слоевищах [12–17].

Биомассу лишайников отбирали на территории Государственного лесохозяйственного учреждения «Гомельский лесхоз» на типичных для каждого вида субстратах. Слоевища

эпифитных видов (*Evernia prunastri* и *Ramalina pollinaria*) отбирали вместе с фрагментом субстрата (корки березы повислой и дуба черешчатого, соответственно); эпигейный вид *Cladonia arbuscula* собирали на почве в сухом средневозрастном сосняке. Массу лишайников отделяли от субстрата, у *Cladonia arbuscula* – отбрасывали нижнюю часть подцеиев, — около 5 мм, сушили до воздушно-сухого состояния, измельчали. В таблице приведены описания режимов экстракции биомассы лишайников и величины выхода экстрактов — в процентах от воздушно-сухой массы.

Экстракты из лишайников (20 мг) растворяли в 2 мл диметилсульфоксида (ДМСО), центрифугировали (10 мин., 21000 g, 15°C). Растворы разводили в 60, 80 и 100 раз в 40% растворе ацетонитрила в 0,1% водном растворе уксусной кислоты, фильтровали через шприцевые фильтры Econofilters (размер пор 20 мкм), анализировали методом ВЭЖХ на микроколоночном хроматографе Agilent Technologies 1100 (USA) с последующей компьютерной обработкой результатов исследования программой ChemStation.

Таблица

СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ЛИШАЙНИКОВ

Вид лишайника	Экстрагент	Условия экстракции	Выход экстракта
<i>Evernia prunastri</i>	ацетон	аппарат Сокслета, t = 56 °С	11,0
<i>Ramalina pollinaria</i>	ацетон		11,3
<i>Evernia prunastri</i>	этанол	аппарат Сокслета, t = 78,3 °С	14,7
<i>Ramalina pollinaria</i>	этанол		16,5
<i>Cladonia arbuscula</i>	ацетон	холодная мацерация на протяжении	2,9
<i>Evernia prunastri</i>	ацетон	14 суток, t = 25 °С	9,6
<i>Ramalina pollinaria</i>	ацетон		12,0
<i>Cladonia arbuscula</i>	бензол		1,3
<i>Ramalina pollinaria</i>	бензол		1,6
<i>Cladonia arbuscula</i>	этанол		2,8
<i>Evernia prunastri</i>	этанол		10,1
<i>Ramalina pollinaria</i>	этанол		7,6
<i>Evernia prunastri</i>	ацетон	предварительно: холодная мацерация гексаном	11,6
<i>Ramalina pollinaria</i>	ацетон	на протяжении 7 суток, затем экстракция в аппарате Сокслета, t = 56 °С	14,9
<i>Evernia prunastri</i>	этанол	предварительно: холодная мацерация гексаном	14,4
<i>Ramalina pollinaria</i>	этанол	на протяжении 7 суток, затем экстракция в аппарате Сокслета, t = 78,3 °С	19,3

Разделение проводили на обращено-фазовой колонке Zorbax размером 4,6 x 150 мм, с использованием сорбента 300SB-C18, зернистостью 3,5 мкм. Элюировали в градиентном режиме с увеличением доли ацетонитрила от 40% до 90% в течении 20 минут при скорости потока 1 мл/мин. В качестве подвижных фаз (элюент) использовали: А — ацетонитрил, В — 0,1% водный раствор уксусной кислоты. Детектирование осуществляли с помощью сканера с диодной матрицей при длинах волн 230 и 280 нм, объем вводимого образца — 10 мкл [18].

Концентрацию усниновой кислоты в анализируемых образцах определяли по калибровочной кривой зависимости площади пика от концентрации стандарта в диапазоне 0,4÷180 мкг/мл. Время удерживания для усниновой кислоты — 12,1 мин.

Измерения были выполнены в трех повторностях. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программных продуктов STATISTICA 7.0, GraphPadPrism 5.02, Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение

Выбор экстрагента и режима экстрагирования не однозначно влияли на полноту извлечения усниновой кислоты из биомассы лишайников. На Рисунке 1 представлены результаты определения усниновой кислоты в ацетоновых и этанольных экстрактах из *Evernia prunastri* и *Ramalina pollinaria*.

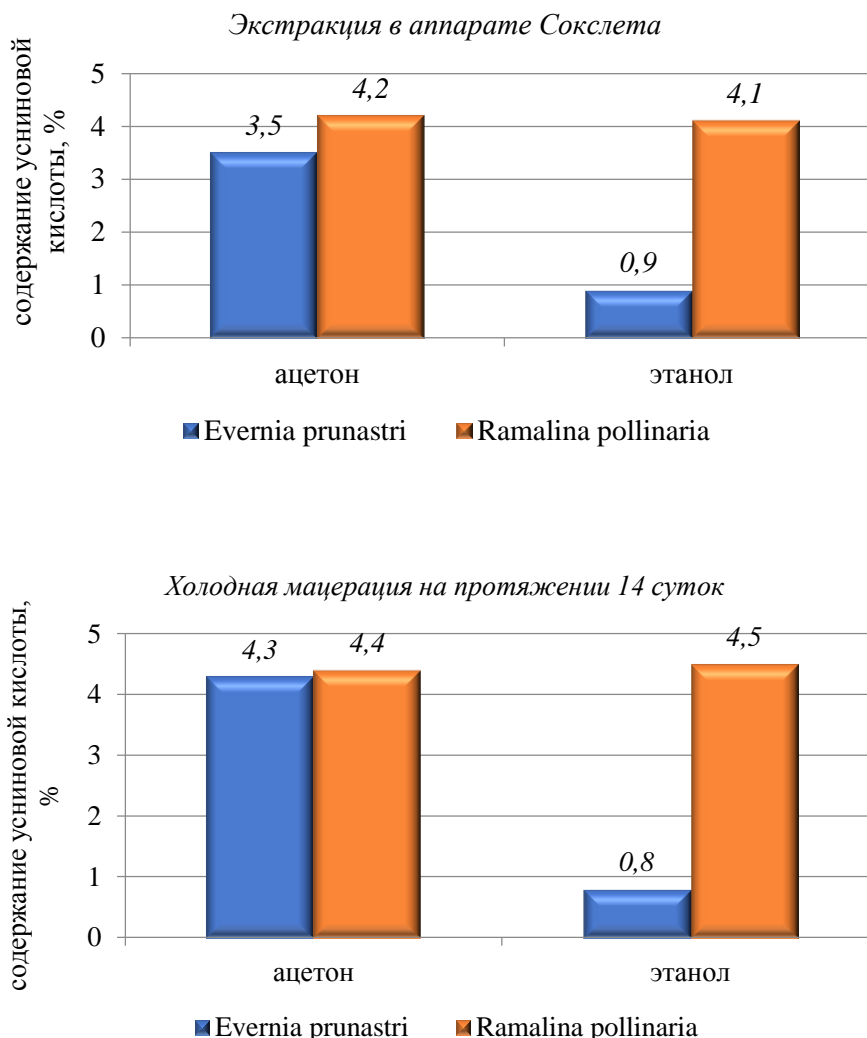


Рисунок 1. Эффективность извлечения усниновой кислоты из биомассы лишайников при различных способах экстракции

Содержание усниновой кислоты в ацетоновых экстрактах из биомассы *Ramalina pollinaria* варьировало в пределах $4,2 \pm 0,21\% \div 4,4 \pm 0,07\%$; в этанольных — $4,1 \pm 0,06\% \div 4,5 \pm 0,07\%$, то есть не отличалось. В ацетоновых экстрактах из *Evernia prunastri* содержание усниновой кислоты составляло от $3,5 \pm 0,05\%$ до $4,3 \pm 0,12\%$; в этанольных — около $0,9 \pm 0,06\%$. В пересчете на воздушно-сухую массу лишайника содержание усниновой кислоты составило: для *Ramalina pollinaria* — $0,34-0,67\%$; для *Evernia prunastri* — $0,08-0,41\%$.

Известен способ повышения химического выхода экстрактивных веществ из *Evernia prunastri*, когда перед экстракцией этанолом проводят исчерпывающую экстракцию гексаном [19]. По мнению авторов патента, гексан разрушает клеточную структуру, удаляет смолистые и воскоподобные вещества, что открывает доступ к веществам, диспергированным внутри

клеток, дальнейшая экстракция этиловым спиртом истощенного сырья позволяет извлечь необходимые лишайниковые кислоты. Нами была выполнена предварительная холодная мацерация гексаном биомассы *Evernia prunastri* и *Ramalina pollinaria*, после чего произведено экстрагирование ацетоном и этанолом в аппарате Сокслета. На Рисунке 2 представлены результаты определения усниновой кислоты в ацетоновых и этанольных экстрактах.

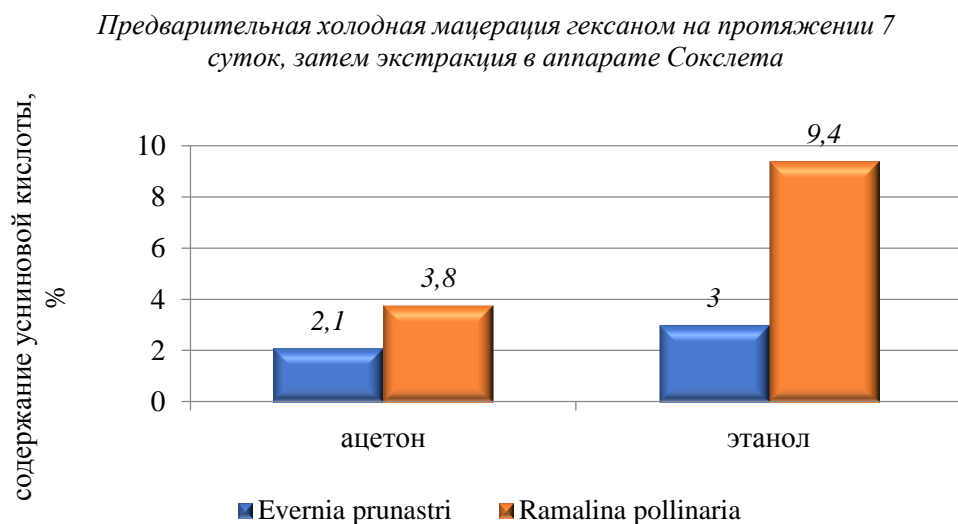


Рисунок 2. Влияние предварительной экстракции гексаном на эффективность извлечения усниновой кислоты из биомассы лишайников

В случае использования ацетона в качестве экстрагента содержание усниновой кислоты в экстрактах было меньшим на 40,0% для *Evernia prunastri* и на 9,5% для *Ramalina pollinaria* по сравнению с приведенными выше значениями. При использовании этанола в качестве экстрагента содержание усниновой кислоты в экстрактах было выше в 3,3 раза для *Evernia prunastri* и в 2,3 раза для *Ramalina pollinaria*. Таким образом, эффективность извлечения усниновой кислоты по способу [19] возрастает, если после экстракции биомассы лишайника гексаном используют этанол в качестве экстрагента.

Анатомическое строение изучаемых видов лишайников существенно отличается – Рисунок 3.

Слоевиде *Ramalina pollinaria* гетеромерное, покрыто с обеих сторон коровым слоем. Сердцевина состоит из рыхло переплетенных гиф, заполняет все пространство, иногда образует в центре пустоты [3, 15]. Лишайник *Cladonia arbuscula* отличается тем, что поверхность его подециев часто лишена корового слоя [3, 13]. Следовательно, характер размещения и степень связанности усниновой кислоты на поверхностях гиф этих видов лишайников может отличаться.

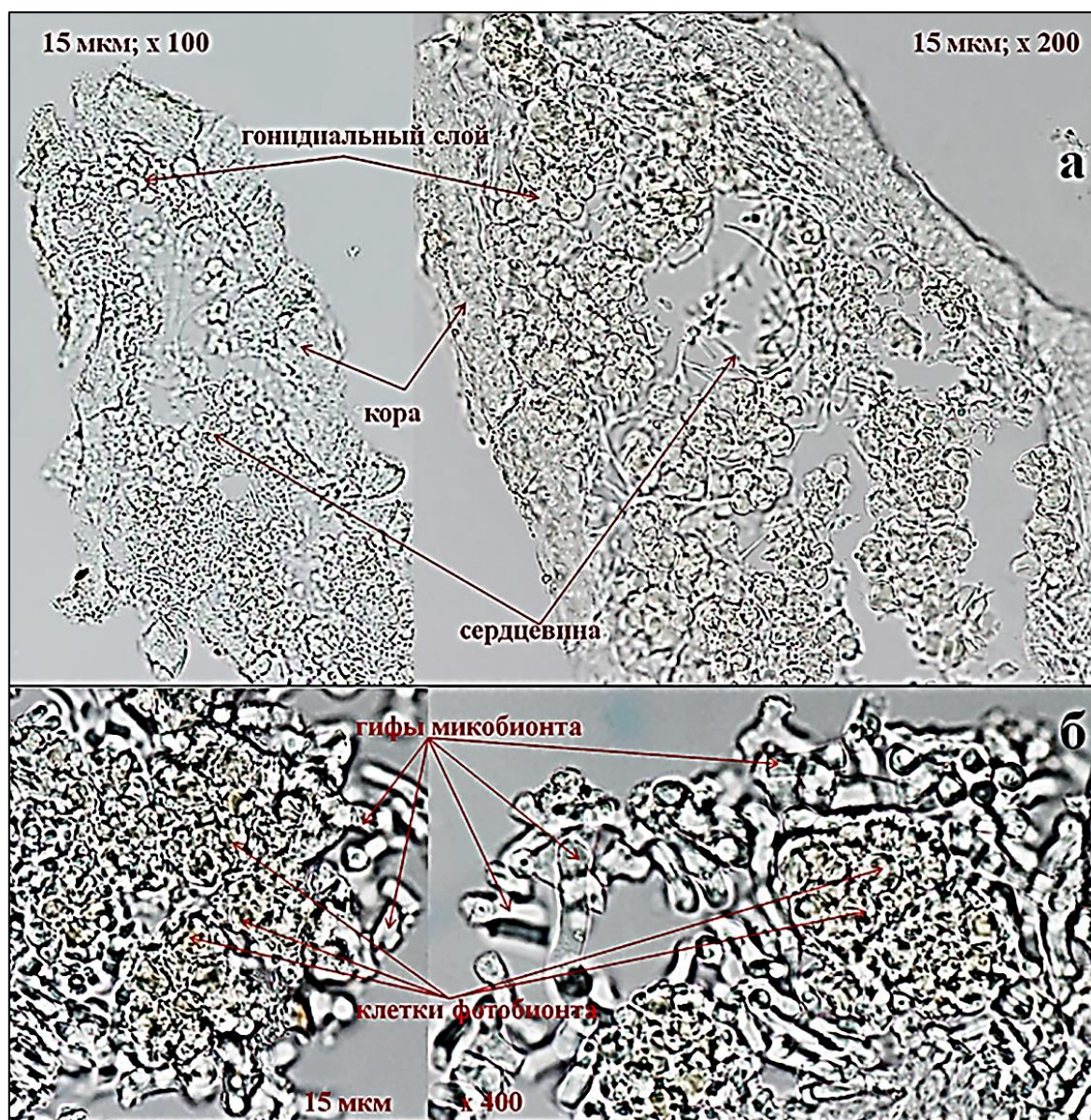


Рисунок 3. Особенности анатомического строения слоевищ *Ramalina pollinaria* (а) и подцеиев *Cladonia arbuscula* (б)

При использовании ацетона, этанола и бензола в качестве экстрагентов содержание усниновой кислоты в экстрактах из *Ramalina pollinaria* и *Cladonia arbuscula* существенно отличалось — Рисунок 4.

Наибольшее содержание усниновой кислоты, извлеченной из биомассы *Ramalina pollinaria*, было обнаружено в бензольном экстракте — $8,3 \pm 0,19\%$ против $4,4 \div 4,5\%$, присутствующих ацетоновом и этанольном экстрактах. В пересчете на воздушно-сухую массу лишайника содержание усниновой кислоты составило: $0,53\%$ при экстракции ацетоном; $0,34\%$ — этанолом и $0,13\%$ — бензолом. Бензольный экстракт из *Cladonia arbuscula* содержал $95,6 \pm 0,16\%$ усниновой кислоты; ацетоновый — $87,4 \pm 0,24\%$; этанольный — $24,9 \pm 0,39\%$, что в пересчете на воздушно-сухую массу лишайника составило $1,24\%$, $2,54\%$ и $0,71\%$, соответственно.

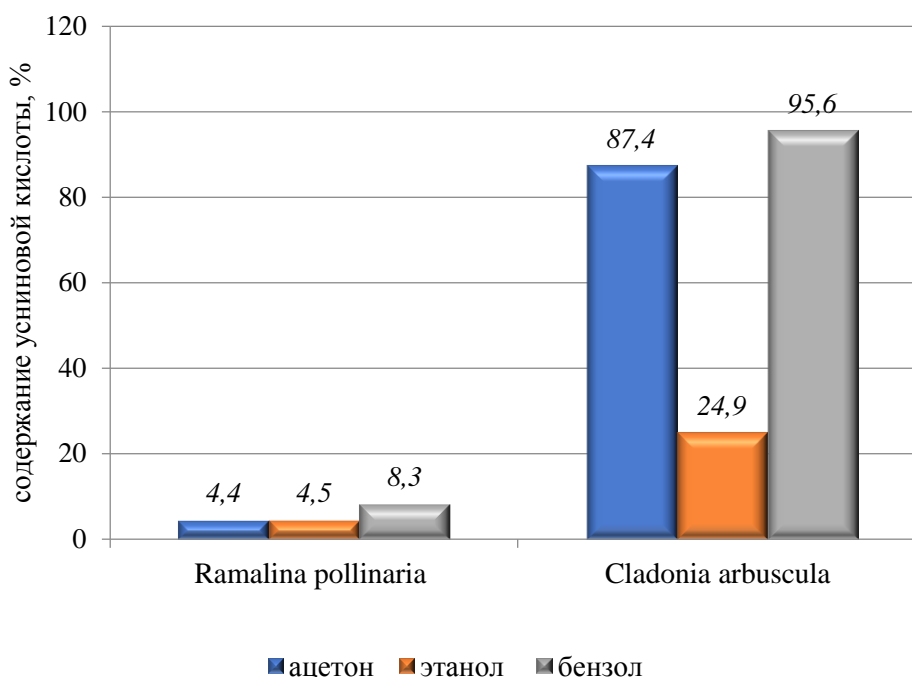


Рисунок 4. Эффективность извлечения усниновой кислоты различными растворителями из биомассы *Ramalina pollinaria* и *Cladonia arbuscula*

Выводы

Оценивали эффективность извлечения ацетоном, этанолом и бензолом усниновой кислоты из биомассы *Evernia prunastri*, *Ramalina pollinaria* и *Cladonia arbuscula* методами холодной мацерации биомассы соответствующим растворителем и экстракции в аппарате Сокслета — напрямую и с предварительной холодной мацерацией биомассы гексаном.

По содержанию усниновой кислоты в экстракте наиболее эффективным для экстракции биомассы *Evernia prunastri* был метод холодной мацерации ацетоном — до 4,6%.; для биомассы *Ramalina pollinaria* – метод предварительной холодной мацерации гексаном на протяжении 7 суток с последующей экстракцией этанолом в аппарате Сокслета — 10,1%; для биомассы *Cladonia arbuscula* – метод холодной мацерации бензолом — до 96,0%.

Эффективность извлечения усниновой кислоты из биомассы *Evernia prunastri* и *Ramalina pollinaria* была наибольшей в случае использования метода холодной мацерации гексаном на протяжении 7 суток с последующей экстракцией этанолом в аппарате Сокслета — до 0,43% и 1,81% воздушно-сухой массы лишайника, соответственно. Из биомассы *Cladonia arbuscula* наиболее эффективно усниновая кислота извлекалась методом холодной мацерации ацетоном — до 2,54% воздушно-сухой массы лишайника.

Список литературы:

1. Huneck S., Yoshimura I. Identification of lichen substances // Identification of lichen substances. Springer, Berlin, Heidelberg, 1996. С. 11-123.
2. Jin J. et al. Solubility of (+)-usnic acid in water, ethanol, acetone, ethyl acetate and n-hexane // Journal of Solution Chemistry. 2013. Т. 42. №. 5. С. 1018-1027.

3. Smith C. W. et al. Lichens of Great Britain and Ireland. British Lichen Society, 2009. 700 p.
4. Nash III, T. H. Lichen biology. Cambridge University Press, 1999. 486 p.
5. Тарасова В. Н., Сони́на А. В., Андросова В. И. Лишайники: физиология, экология, лихеноиндикация. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2012. 368 с.
6. Прокопьев И. А., Шеин А. А., Филиппова Г. В., Филиппов Э. В., Шашурин М. М., Гладкина Н. П. Годовая динамика содержания усниновой кислоты в талломах лишайников родов *Cladonia* и *Flavocetraria*, произрастающих в центральной Якутии // Химия растительного сырья. 2015. № 4. С. 45–49.
7. Моисеева Е. Н. Биохимические свойства лишайников и их практическое значение. М., Л.: Изд-во АН СССР, 1961. 90 с.
8. Соколов Д. Н., Лузина О. А., Салахутдинов Н. Ф., Усниновая кислота: получение, строение, свойства и химические превращения // Успехи химии. 2012. Т. 81. Вып. 8. С. 747–768.
9. Molnár K., Farkas E. Depsides and depsidones in populations of the lichen *Hypogymnia physodes* and its genetic diversity // Annales Botanici Fennici. Finnish Zoological and Botanical Publishing Board, 2011. Vol. 48. No 6. P. 473-482.
10. Цуриков А. Г., Храмченкова О. М. Лишайники Гомеля // Наука и инновации, 2011. № 6 (100). С. 68–71.
11. Цуриков А. Г., Храмченкова О. М. К эпиксильной лихенофлоре некоторых сосновых лесов Гомельской области // Проблемы лесоведения и лесоводства: Сб.н.т. ИЛ НАН Беларуси. Вып. 72. Гомель: ИЛ НАН Беларуси, 2012. С. 557-565.
12. Orange A., James P. W., White F. J. Microchemical methods for the identification of lichens. London: British Lichen Society, 2001. 101 p.
13. Определитель лишайников СССР. Вып. 5. Кладониевые – Акароспоровые / Н. С. Голубкова [и др.]; под. ред. И. И. Абрамова. Л.: Наука, 1978. 304 с.
14. Определитель лишайников России. Вып. 6. Алекториевые, Пармелиевые, Стереокаулоновые / Н. С. Голубкова [и др.]; под. ред. Н. С. Голубковой. СПб.: Наука, 1996. 203 с.
15. Определитель лишайников России. Вып. 10. Agyriaceae, Anamylopsoraceae, Arphanopsidaceae, Arthrorhaphidaceae, Brigantiaeaceae, Chrysotrichaceae, Clavariaceae, Ectolechiaceae, Gomphillaceae, Gypsoplacaceae, Lecanoraceae, Lecideaceae, Mycoblastaceae, Phlyctidaceae, Physciaceae, Pilocarpaceae, Psoraceae, Ramalinaceae, Stereocaulaceae, Vezdaeaceae, Tricholomataceae / М. П. Андреев [и др.]; под. ред. Н. С. Голубковой. СПб.: Наука, 2008. 515 с.
16. Справочное пособие по хемотаксономии лишайников (методическое пособие) / Е. А. Вайнштейн [и др.]; под. ред. Н. С. Голубковой. Л.: БИН АН СССР, 1990. 152 с.
17. Elix J. A. A Catalogue of Standardized Thin Layer Chromatographic Data and Biosynthetic Relationships for Lichen Substances. Canberra: Australian National University, 2014. 330 p.
18. Ji X., Khan I. A. Quantitative determination of usnic acid in *usnea* lichen and its products by reversed-phase liquid chromatography with photodiode array detector // Journal of AOAC International. 2005. V. 88. No. 5. P. 1265-1268.
19. Способ получения экстракта из дубового мха: пат. 2348683 РФ, МПК C11B 1/10, C11B 9/02 / ГОУВПО «КубГТУ». № 2007120383/13; заявл. 31.05.2007.

Referenses:

1. Huneck, S., & Yoshimura, I. (1996) Identification of Lichen Substances. In: Identification of Lichen Substances. Springer, Berlin, Heidelberg.
2. Jin, J. Q., Rao, Y., Bian, X. L., & Zeng, A. G. (2013). Solubility of (+)-usnic acid in water, ethanol, acetone, ethyl acetate and n-hexane. *Journal of Solution Chemistry*, 42(5), 1018-1027.
3. Smith, C. W. (2009). Lichens of Great Britain and Ireland. British Lichen Society. 700.
4. Nash III, T. H. (1999). Lichen biology. *Cambridge University Press*, 486.
5. Tarasova, V. N., Sonina, A. V., & Androsova V. I. (2012). Lichens: physiology, ecology, lichenindication. Petrozavodsk: *Publishing House of PetrSU*, 368.
6. Prokopiev, I. A., Shein, A. A., Filippova, G. V., Filippov, E. V., Shashurin, M. M., & Gladkina, N. P. (2015). Annual dynamics of content of usnic acid in thallomes of lichens of the genera *Cladonia* and *Flavocetraria*, growing in central Yakutia. *Chemistry of plant raw materials*, (4). 45–49.
7. Moiseeva, E. N. (1961). Biochemical properties of lichens and their practical burning. *Publishing house of the Academy of Sciences of the USSR*. 90.
8. Sokolov, D. N., Luzina, O. A., & Salakhutdinov, N. F. (2012). Usnic acid: Preparation, structure, properties and chemical transformations. *Russian Chemical Reviews*, 81(8). 747–768.
9. Molnár, K., & Farkas, E. (2011, December). Depsides and depsidones in populations of the lichen *Hypogymnia physodes* and its genetic diversity. In *Annales Botanici Fennici* (Vol. 48, No. 6, pp. 473-482). Finnish Zoological and Botanical Publishing Board.
10. Tsurikov, A. G., & Khranchenkova, O. M. (2011). Gomel lichens. *Science and innovations*, 6(100). 68-71.
11. Tsurikov, A. G., & Khranchenkova, O. M. (2012). To the epixial lichen flora of some pine forests of the Gomel region. *Problems of forestry and forestry*, Coll. IL NAS of Belarus (72). Gomel: *IL of the National Academy of Sciences of Belarus*, 557-565.
12. Orange, A., James, P. W., & White, F. J. (2001). Microchemical methods for the identification of lichens. London: 101.
13. The determinant of lichens of the USSR (1978). Issue. 5. *Cladonia – Acarospora*. N. S. Golubkova [and others]; under. Ed. II Abramov. L.: *Science*, 304.
14. The determinant of lichens of Russia (1996). Issue. 6. *Alectorium, Parmelian, Stereocaulonovye*. N. S. Golubkova [and others]; under. Ed. N. S. Golubkova. SPb.: *Science*, 203.
15. The determinant of lichens of Russia (2008). Issue. 10. *Agyriaceae, Anamylopsoraceae, Aphanopsidaceae, Arthrorhaphidaceae, Brigantiaeaceae, Chrysotrichaceae, Clavariaceae, Ectolechiaceae, Gomphillaceae, Gypsoplacaceae, Lecanoraceae, Lecideaceae, Mycoblastaceae, Phlyctidaceae, Physciaceae, Pilocarpaceae, Psoraceae, Ramalinaceae, Stereocaulaceae, Vezdaeaceae, Tricholomataceae*. M. P. Andreev [and etc.]; under. Ed. N. S. Golubkova. SPb.: *Science*, 515.
16. A reference guide on the chemotaxonomy of lichens (methodical manual) (1990). E. A. Vainshtein [et al.]; under. Ed. N. S. Golubkova. L.: *BIN AN SSSR*, 152.
17. Elix, J. A. (2014). A catalogue of standardized chromatographic data and biosynthetic relationships for lichen substances. Canberra, 3rd edition, published by the author. 330.
18. Ji, X., & Khan, I. A. (2005). Quantitative determination of usnic acid in usnea lichen and its products by reversed-phase liquid chromatography with photodiode array detector. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1265-1268.

19. Method for obtaining extract from oak moss: pat. 2348683 RF, IPC C11B 1/10, C11B 9/02 / SEIHPO "KubGTU". No. 2007120383/13; claimed. 31.05.2007.

*Работа поступила
в редакцию 26.04.2018 г.*

*Принята к публикации
02.05.2018 г.*

Ссылка для цитирования:

Храмченкова О. М., Новиков Р. И. Анализ эффективности извлечения усниновой кислоты из лишайников Белорусского Полесья // Бюллетень науки и практики. 2018. Т. 4. №6. С. 23-32. Режим доступа: <http://www.bulletennauki.com/khramchankova-om> (дата обращения 15.06.2018).

Cite as (APA):

Khramchankova, V., & Novikau, R. (2018). Extraction efficiency analysis of usnic acid from lichens of Belarusian Polesie. *Bulletin of Science and Practice*, 4(6), 23-32.