

## ВЛИЯНИЕ ЧАСТИЦ ВЕРМИКУЛИТА НА АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЫ *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023

И. А. СКОРОХОД, И. К. КУРДИШ

Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины, Киев;  
e-mail: Kurdish@serv.imv.kiev.ua

Показано, что при культивировании *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 в среде с вермикулитом (1,5–5,0 г/л) наблюдается угнетение некоторых антиоксидантных свойств культуральной среды бактерий. В частности, снижается активность перехвата гидроксильного радикала, образуемого в реакции Фентона, на 2,8–11,6%, способность ингибировать образование малонового диальдегида – на 4,4–13,1% и инактивировать 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил радикал – на 3,1–8,5%. При этом оксидантная активность культуральной среды существенно возрастает. Помимо снижения протекторных свойств культуральной среды для бацилл в присутствии частиц вермикулита обнаружено, что с увеличением содержания в питательной среде дисперсного материала повышается восстановительная способность культуральной среды этих бактерий.

**Ключевые слова:** *Bacillus subtilis*, свободные радикалы, антиоксидантная активность, вермикулит, активные формы кислорода.

Перспективным направлением растениеводства в последнее десятилетие является применение комплексных микробных препаратов, использование которых позволяет улучшить рост и развитие растений, а также увеличить количество получаемой экологически чистой растительной продукции без нанесения ущерба окружающей среде [1]. Следует отметить, что качество таких препаратов в значительной степени определяется их препаративной формой. Важным составляющим большинства биопрепаратов являются твердые носители (бентонит, торф, перлит и др.) [1]. Эти высокодисперсные компоненты оказывают позитивное влияние на физиолого-биохимические свойства микроорганизмов [2]. Особый интерес среди материалов, используемых для изготовления микробных препаратов, вызывает вермикулит – природный минерал группы гидрослюд [3]. Он легкий, сыпучий, не канцерогенный, биологически стойкий и не снижает жизнеспособность бактерий. Благодаря стабильности свойств вермикулит имеет длительный срок хранения [4].

В качестве одного из компонентов комплексных бактериальных препаратов ранее нами предложено использовать фосфатмоби-

зирующие бактерии *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 [5]. Наряду с высокой активностью использования в своем метаболизме фосфата из органических и труднорастворимых неорганических соединений [6], антагонистической активностью ко многим видам фитопатогенов [7], способностью стимулировать рост растений и повышать их продуктивность [8], этот штамм оказывает протекторное действие на семена сельскохозяйственных культур, предварительно обработанные пероксидом водорода [9]. Однако антиоксидантный потенциал исследуемых бацилл в условиях их взаимодействия с дисперсными материалами, которые используются в технологии изготовления микробных препаратов, не изучен.

Целью работы было исследование влияния природного минерала вермикулита на антиоксидантные и антирадикальные свойства культуральной среды *B. subtilis* ИМВ В-7023.

### Материалы и методы

Объектом исследования были фосфатмобилизирующие бактерии *B. subtilis* ИМВ В-7023. Штамм выделен в Институте микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины (в отделе микробиологических процессов

на твердых поверхностях) [5]. Бациллы культивировали в конических колбах Эрленмейера объемом 750 мл, в которые вносили по 100 мл жидкой среды, содержащей (г/л):  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 2,0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  – 14,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 6,0; Na лимоннокислый – 1,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,2; глюкозу – 10,0; pH среды 7,0–7,2 [10]. В качестве инокулума использовали односуточную суспензию бактерий, полученную в описанных выше условиях. Начальное количество бактерий в среде после засева составляло  $1,7 \cdot 10^5$  кл. в 1 мл. Инкубацию проводили на качалке (240 об./мин) при 28 °C в течении 22 ч. Затем исследования выполняли в режиме «острого эксперимента», что позволяло оценить реакцию антиоксидантной системы *B. subtilis* ИМВ В-7023 на внесение в питательную среду дисперсного материала. Суспензию бацилл, полученную в ряде колб, содержащих более  $10^8$  кл./мл, усредняли и вносили по 100 мл в колбы со стерильными навесками частиц вермикулита и культивировали на протяжении еще 2 ч в условиях, описанных выше. В контрольном варианте бактерии культивировали в питательной среде без дисперсного материала.

Культуральную жидкость после доразраживания бацилл освобождали от клеток и дисперсного материала центрифугированием при 6600 г в течение 25 мин на центрифуге ОПн-8 (ОАО ТНК ДАСТАН, Киргизстан). В полученной культуральной среде *B. subtilis* ИМВ В-7023 определяли показатели антиоксидантных свойств.

Используемый в опытах вермикулит сначала несколько раз промывали, а затем просушивали в сушильном шкафу при температуре 160 °C. Минерал измельчали в гомогенизаторе MPW-302 (Польша) 3 раза на протяжении 5 мин. Измельченный вермикулит просеивали через сито с диаметром пор 0,1 мм. Полученную фракцию частиц размером менее 0,1 мм использовали в экспериментах.

Активность перехвата гидроксильного радикала ( $\cdot\text{OH}$ ) в реакции Фентона исследовали методом, описанным в работе [11]. Радикал гидроксила генерировали в среде, содержавшей 1,5 мМ  $\text{FeSO}_4$ , 6 мМ  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 20 мМ салициловокислого натрия и 3 мл культуральной среды *B. subtilis* ИМВ В-7023 в конечном объеме пробы 5 мл. В контрольный образец культуральной среды бациллы не вносили. После инкубирования в течение 1 ч при 37 °C в реакционной смеси определяли содержание гидроксильного

салицилатного комплекса на спектрофотометре СФ-46 (ОАО ЛОМО, Россия) при длине волны 562 нм.

Восстановительную способность культуральной среды *B. subtilis* ИМВ В-7023 определяли по методу Oyaizu [12] в среде, содержащей 0,2 М фосфатный буфер (pH 6,6), 1%-й раствор  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  и 1 мл культуральной среды в конечном объеме пробы 6 мл. Исследовали способность КС бацилл восстанавливать  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  (гексацианоферрат (III) калия) до  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  (гексацианоферрат (II) калия) при длине волны 700 нм. Увеличение абсорбции реакционной смеси свидетельствовало о повышении восстановительной способности.

Оксидантную активность культуральной среды оценивали по накоплению в модельной системе конечного продукта пероксидного окисления липидов (ПОЛ) – малонового диальдегида (МДА) [13]. В качестве субстрата использовали твин-80, а инициатора реакции ПОЛ – культуральную среду для бацилл. Для этого к 1%-му раствору твина-80 в опытную пробу добавляли культуральную среду *B. subtilis* ИМВ В-7023, а в контрольную – соответствующий объем питательной среды. После инкубации при 40 °C в течении 48 ч определяли образование МДА с тиобарбитуровой кислотой. Абсорбцию измеряли при длине волны 532 нм [13].

Антиоксидантную активность культуральной среды исследуемого штамма определяли по степени ингибирования аскорбат- и ферроиндуцированного окисления твина-80 до МДА [14]. Инкубационная среда содержала 1% твина-80, 1 мМ  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 10 мМ аскорбиновой кислоты и 1 мл культуральной среды *B. subtilis* ИМВ В-7023 в конечном объеме 3,4 мл. Полученные пробы спектрофотометрировали при длине волны 532 нм.

Антирадикальную активность культуральной среды *B. subtilis* ИМВ В-7023 определяли по методу [15] с использованием 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил радикала (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical, DPPH). Для этого к 3 мл культуральной среды для бацилл добавляли 1 мл 0,1 мМ этанольного раствора DPPH. Интенсивность окраски регистрировали при длине волны 517 нм.

Для исследования антиоксидантного влияния культуральной среды *B. subtilis* ИМВ В-7023 на семена пшеницы сорта Подольнка их об-

рабатывали 50%-ым пероксидом водорода на протяжении 7–30 мин, отмывали стерильным физиологическим раствором (ФР) и замачивали в бактериальной культуральной среде на протяжении 1 часа. Затем семена снова отмывали ФР, проращивали при 20 °С на смоченной стерильной дистиллированной водой фильтровальной бумаге. Всхожесть семян определяли согласно ДСТУ 4138-2202 [16]

Статистический анализ результатов проводили методом вариационной статистики [17], а также с помощью компьютерной программы Statistic 6.0. Каждый опыт повторяли не менее трех раз. В таблицах и на рисунках приведены средние величины 3–5 параллельных определений и их доверительные интервалы при вероятности 95%.

### Результаты и обсуждение

Культивирование различных видов микроорганизмов с дисперсными материалами оказывает существенное влияние на физиолого-биохимическую активность их популяций. Известно, что с увеличением дисперсности таких материалов возрастает их удельная поверхность, интенсифицируются молекулярно-кинетические явления: броуновское движение, диффузия, осмос, повышаются каталитические свойства и растворимость [18]. Вследствие этого в среде может изменяться концентрация ионов, способных запускать реакции образования стресс-агентов [19].

Исходя из приблизительной формулы вермикулита ( $Mg^{+2}, Fe^{+2}, Fe^{+3}$ )<sub>3</sub>[(AlSi)<sub>4</sub>O<sub>10</sub>](OH)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O [3, 4], можно предположить, что ряд его компонентов играет роль предшественников образования активных форм кислорода (АФК). Так, ион металла с переменной валентностью ( $Fe^{+2}$  и  $Fe^{+3}$ ) инициирует реакцию Фентона, в ходе которой образуется радикал  $\cdot OH$ . Это один из наиболее высокореактивных оксидантов, индуцирующий различные повреждения в биомолекулах [20]. Поэтому представляло интерес исследовать активность перехвата радикала  $\cdot OH$  в модельной системе, содержащей  $FeSO_4$ -H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и культуральную среду *B. subtilis* ИМВ В-7023 при культивировании их с разными навесками частиц вермикулита.

Установлено, что при внесении в питательную среду 1,5 г/л минерала статистически достоверных различий в значениях исследован-

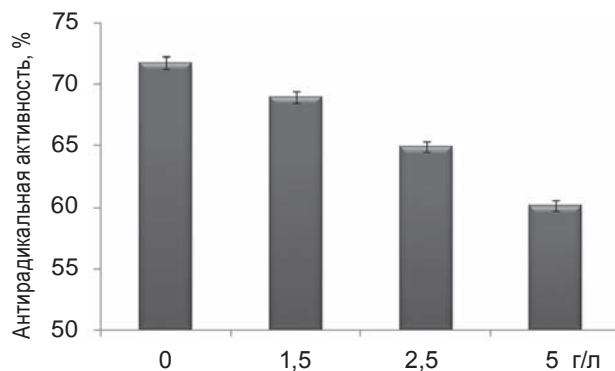
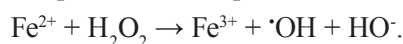
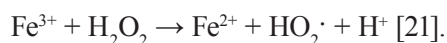


Рис. 1. Влияние содержания частиц вермикулита на ингибирование в культуральной среде бактерий *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 гидроксильного радикала (%), образующегося в реакции Фентона

ного показателя по сравнению с контролем не наблюдается (рис. 1). При увеличении содержания вермикулита в среде до 2,5 г/л активность перехвата  $\cdot OH$  в культуральной среде бацилл снижается по отношению к контролю на 6,8%. С увеличением содержания вермикулита до 5,0 г/л этот показатель ниже контрольного на 11,6% (рис. 1). Таким образом, с ростом содержания частиц вермикулита в питательной среде бактерий происходит снижение активности перехвата радикала гидроксила, образуемого в реакции Фентона. Это может быть следствием влияния природного минерала (микрорегетерогенного катализатора – вермикулита) при внесении его в среду и повышения скорости инициации образования радикалов по реакции:



В состав вермикулита, помимо ионов  $Fe(II)$ , входят ионы  $Fe(III)$  [4], которые также могут играть роль прооксидантов при образовании свободных радикалов из пероксидов:



Поэтому целесообразно было исследовать восстановительную способность, оксидантную и антиоксидантную активность культуральной среды бактерий *B. subtilis* ИМВ В-7023 при разном содержании дисперсного материала в питательной среде.

Обнаружено, что с увеличением содержания частиц вермикулита в питательной среде восстановительная способность культуральной среды бацилл возрастает, по сравнению с кон-

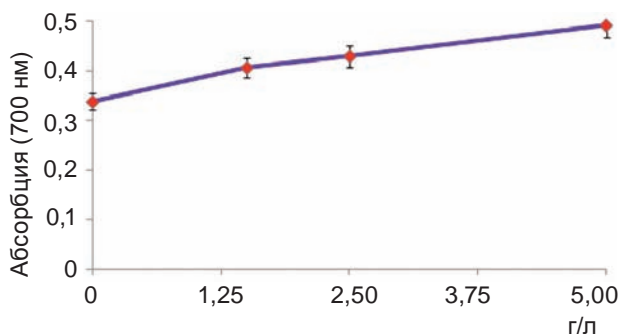


Рис. 2. Зависимость восстановительной способности культуральной среды *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 от содержания в питательной среде частиц вермикулита (оценивается по изменению абсорбции)

трольным вариантом (рис. 2). Это, по-видимому, свидетельствует о наличии в культуральной среде *B. subtilis* ИМВ В-7023 активных соединений – восстановителей, которые отдавая электрон, запускают механизм восстановления  $Fe^{+3}/Fe^{+2}$ .

По данным литературы [22] среди многих видов рода *Bacillus* бактерии *B. megaterium* и *B. subtilis* способны синтезировать низкомолекулярные метаболиты, специфически связывающие  $Fe^{+3}$ , так называемые сидерофоры. Эти пептиды-хелаторы блокируют на начальных этапах зарождение ионами металлов с переменной валентностью свободно-радикальных процессов [22].

Установлено, что культивирование исследуемых бактерий в среде, содержащей дисперсный материал, сопровождается накоплением конечного продукта ПОЛ – МДА. При увеличении содержания вермикулита от 1,5 до 5,0 г/л окислительная активность повышается на 74,4–78,5%, а антиокислительная – снижается на 12,5% (табл. 1).

Антиокислительную и окислительную активность рассчитывали по формулам [13, 14].

Полученные данные позволяют сделать вывод, что увеличение в питательной среде содержания частиц исследованного минерала усиливает образование АФК в культуральной среде бацилл. Вследствие этого, как известно [23], может происходить нарушение геномного (экспрессия генов), протеомного профиля и метаболизма микроорганизмов.

В состав вермикулита входит весомая доля диоксида кремния (37–42%  $SiO_2$ ). Дисперсные частицы, в структуре которых присутствуют ионы кремния, способны менять направление спинов электронов в атомах кислорода [24]. Вследствие этого триплетный  $O_2$  переходит в синглетный ( $^1O_2$ ). Этот токсичный окислитель участвует в пероксидном окислении биомолекул, а также запускает каскад реакций образования агрессивных свободных радикалов [25]. Поэтому представляло интерес исследовать влияние частиц вермикулита на антирадикальную активность культуральной среды бацилл. Для ее определения использовали высокочувствительную реакцию со стабильным DPPH• [15].

Установлено, что с увеличением содержания вермикулита в питательной среде способность *B. subtilis* ИМВ В-7023 к инактивации свободных радикалов снижается. Так, антирадикальная активность культуральной среды бактерий в контрольном варианте составляет 41,1%. При внесении в питательную среду 2,5 г/л частиц минерала этот показатель снижается по сравнению с контрольным на 7,6%, а при 5,0 г/л – на 8,5% (рис. 3).

Таким образом, при культивировании бацилл в среде, содержащей частицы вермикулита, наблюдается незначительное снижение анти-

Таблица 1. Антиокислительная и окислительная активность культуральной среды *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 при разном содержании частиц вермикулита в питательной среде

Содержание частиц вермикулита, г/л	Антиокислительная активность, %	Окислительная активность, %
Контроль	79,2 ± 2,3	15,9 ± 1,2
1,5	74,8 ± 2,5	90,3 ± 0,5
2,5	69,5 ± 0,6	93,7 ± 0,5
5,0	66,7 ± 1,7	94,4 ± 0,1

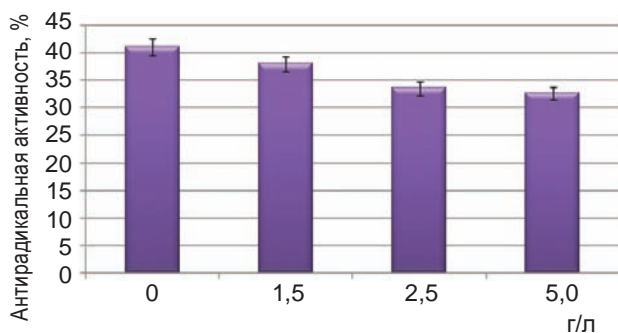


Рис. 3. Антирадикальная активность культуральной среды *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 при разном содержании частиц вермикулита в питательной среде

радикальной активности культуральной среды исследуемых бактерий. Возможно, это связано с активным синтезом *B. subtilis* ИМВ В-7023 соединений фенольной природы [26]. Такие вещества являются эффективными перехватчиками свободных радикалов ( $R^{\cdot}$ ) [27]. Система  $\pi$ -электронов в ароматическом ядре фенольных антиоксидантов смещает негативный заряд на кислород, способствуя легкому отрыву атома водорода от гидроксильной группы. Атомы водорода, реагируя со свободными  $R^{\cdot}$ , трансформируют их в нейтральные и неагрессивные формы [27].

Снижение антирадикальной активности культуральной среды данного штамма бацилл при внесении в питательную среду больших навесок частиц вермикулита может быть связано с увеличением скорости инициирования активных радикалов с участием  $Fe^{+2}/Fe^{+3}$  и  $H_2O_2$ , кон-

центрация которых возрастает в живых системах при дисбалансе их редокс-гомеостаза [28].

В результате проведенных исследований установлено, что культивирование *B. subtilis* ИМВ В-7023 в питательной среде, содержащей частицы дисперсного вермикулита, сопровождается снижением антиоксидантных свойств культуральной среды этих бактерий, а также стимулирующим влиянием на ее восстановительную способность. По-видимому, эти свойства обуславливают позитивное влияние культуральной среды данных бактерий на всхожесть семян пшеницы, которые подвергались воздействию  $H_2O_2$  (табл. 2).

Нами установлено, что после обработки семян пшеницы сорта Подолянка 50%  $H_2O_2$  на протяжении 7–30 мин их всхожесть снижается на 16,1–66,7%. Однако при последующей их обработке культуральной средой *B. subtilis* ИМВ В-7023 всхожесть семян, подвергнутых воздействию  $H_2O_2$  в течение 30 мин, повышается на 11,5% (табл. 2). Проведенные исследования свидетельствуют, что данный штамм бактерий способен восстанавливать редокс-гомеостаз семян растений.

Таким образом, показано, что при культивировании *B. subtilis* ИМВ В-7023 в питательной среде, содержащей частицы вермикулита, в культуральной среде накапливается АФК. Вследствие этого происходит снижение антирадикальной активности культуральной среды по отношению к DPPH $^{\cdot}$ , ее способности ингибировать образование малонового диальдегида в процессе аскорбат- и ферроиндуцированного

Таблица 2. Влияние культуральной среды *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 на всхожесть семян пшеницы сорта Подолянка, подвергнутых воздействию 50%-го  $H_2O_2$

Длительность обработки семян $H_2O_2$ , мин	Всхожесть семян после действия $H_2O_2$ и последующей обработки культуральной средой бактерий			
	$H_2O_2$		$H_2O_2$ + 1 час КС <i>B. subtilis</i> ИМВ В-7023	
	шт.	% к контролю	шт.	% к контролю
7	38 ± 3	83,9	40 ± 3	86,9
15	32 ± 3	69,6	36 ± 2	78,3
20	26 ± 2	58,3	30 ± 3	65,7
25	22 ± 2	48,5	24 ± 1	52,1
30	15 ± 1	33,3	20 ± 1	44,8

Всхожесть семян, необработанных  $H_2O_2$  (контроль), составляла 46 шт. из 50; КС – культуральная среда

окислення твина-80, перехватувать радикалы 'ОН в реакції Фентона, наблюдается повышение показателей оксидантной активности культуральной среды.

Помимо угнетающего влияния дисперсного материала на антиоксидантные свойства культуральной среды исследуемых бактерий, обнаружено, что с увеличением содержания частиц вермикулита в питательной среде повышается восстановительная способность культуральной среды. Подобное соотношение этих показателей, по-видимому, обуславливает ее позитивное воздействие на всхожесть семян пшеницы, подвергнутых воздействию пероксида водорода.

### ВПЛИВ ЧАСТОЧОК ВЕРМИКУЛИТУ НА АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ КУЛЬТУРАЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА *Bacillus subtilis* IMB В-7023

*I. O. Skoroход, I. K. Kurdish*

Інститут мікробіології і вірусології  
ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ;  
e-mail: Kurdish@serv.imv.kiev.ua

Показано, що в процесі культивування *Bacillus subtilis* IMB В-7023 у середовищі з вермикулітом (1,5–5,0 г/л) відбувається пригнічення деяких антиоксидантних властивостей культурального середовища бактерій. Зокрема, спостерігається зниження активності перехоплення гідроксильного радикала, який утворюється в реакції Фентона, на 2,8–11,6%, здатності інгібувати утворення малонового діальдегіду – на 4,4–13,1% і інактивувати 2-2-дифеніл-1-пікрілгідразилрадикал – на 3,1–8,5%. При цьому оксидантна активність культурального середовища істотно зростає. Поряд із пригнічуючим впливом частинок вермикуліту на протекторні властивості культурального середовища баціл виявлено, що зі збільшенням вмісту в поживному середовищі дисперсного матеріалу підвищується відновлювальна здатність культурального середовища досліджуваного штаму.

**Ключові слова:** *Bacillus subtilis*, вільні радикали, антиоксидантна активність, вермикуліт, активні форми кисню.

### INFLUENCE OF VERMICULITE PARTICLES ON ANTIOXIDANT PROPERTIES OF CULTURAL MEDIUM OF *Bacillus subtilis* IMV V-7023

*I. O. Skoroход, I. K. Kurdish*

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,  
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: Kurdish@serv.imv.kiev.ua

It is shown that in the process of cultivation of *Bacillus subtilis* IMV V-7023 in the medium with vermiculite (1.5–5.0 g/l) one can observe the oppressing of some indexes of antioxidant properties of cultural medium of bacteria. In particular, a decline of hydroxyl radical scavenging activity in the Fenton reaction by 2.8–11.6%, ability to inhibit formation of malondialdehyde – by 4.4–13.1% and inactivation of 2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH·) radical – by 3.1–8.5% were observed. Thus oxidant activity increased substantially. Besides oppressing influence of particles of vermiculite on protector properties of the cultural medium of bacilli it is found out that with the increase of the content of dispersible material in the nutrient medium the reducing power of cultural medium of these bacteria increased.

**Key words:** *Bacillus subtilis*, free radicals, antioxidant activity, vermiculite, active oxygen species.

### References

1. *Kurdish I. K.* Introduction of microorganisms in the agroecosystems. – Kyiv: Naukova dymka, 2010. – 253 p. (In Ukrainian).
2. *Kurdish I. K.* Granulated microbial preparations for plant cultivation: Theory and Practice. – Kiev: KVITs, 2001. – 141 p. (In Russian).
3. *Graham-Weiss L., Bennet L. M., Paau A. S.* Production of bacterial inoculants by direct fermentation on nutrient-supplemented vermiculite // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1987. – **53**, N 9. – P. 2138–2141.
4. *Laktionov Y. V., Kozhemyakov A. P., Popova T. A.* Creation of new drug forms of symbiotic and associative rhizobacteria with an improved efficiency // *Materials of the V All-Russian congress of the soil scientists the name of V. V. Dokuchaev.* – State publishing house,

- Rostov-on-Don, 18-23 August, 2008. – 557 p. (In Russian).
5. Pat. № 54923 A. *Bacillus subtilis* strain for the receipt of bacterial preparation for a plant growing / Kurdish I. K., Roy A. O. – Publ. 17.03.2003, Bul. № 3. (In Ukrainian).
  6. Roy A. A., Bulavenko L. V., Kurdish I. K. The new strains of soil bacilli mineralizing organic compounds of phosphorus // Microbiol. J. – 2001. – **63**, N 4. – P. 9–14. (In Russian).
  7. Roy A. A., Zaloilo O. V., Chernova L. S., Kurdish I. K. Antagonistic activity of phosphate-mobilizing bacilli to phytopathogenic mushrooms and bacteria // Agroekol. Zh. – 2005. – N 1. – P. 50–55. (In Russian).
  8. Skoroход I. O., Tserkovniak L. S., Kurdish I. K., Plotnikov V. V., Gylchuk V. G., Korniyuchuk O. V. Influence of granulated bacterial preparation complex action on the growth and yield of barley // Microbiol. J. – 2012. – **74**, N 3. – P. 23–28. (In Ukrainian).
  9. Skoroход I. O., Tserkovniak L. S., Kurdish I. K. The antioxidant effect of *Bacillus subtilis* and *Azotobacter vinelandii* on the seeds of cereals // Microbiol. J. – 2011. – **73**, N 1. – P. 44–49. (In Ukrainian).
  10. Spizizen J. Transformation of biochemically deficient strains of *Bacillus subtilis* by deoxyribonucleate // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1958. – **44**, N 10. – P. 1072–1078.
  11. Smirnoff N., Cumbes Q. J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes // Phytochemistry. – 1989. – **28**, N 4. – P. 1057–1060.
  12. Oyaizu M. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine // Jpn. J. Nutr. – 1986. – **44**, N 6. – P. 307–315.
  13. Galaktionova L. P., Molchanov A. V., Yelchani-nova S. A., Varshavsky B. Ya. Lipid peroxidation in patients with gastroduodenal ulcer // Clin. Lab. Diagnostics. 1998. – N 6. – P. 10–14. (In Russian).
  14. Chevri S., Andyal T., Shtrenger Y. Determination of blood parameters and their role for diagnostics in elderly age // Lab. Delo. – 1991. – N 10. – P. 9–13. (In Russian).
  15. Shimada K., Fujikawa K., Yahara K., Nakamura T. Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion // J. Agric. Food Chem. – 1992. – **40**, N 6. – P. 945–948.
  16. National standard of Ukraine. Seed of agricultural cultures. Methods of determination of quality. DSTY 4138-2002. (In Ukrainian)
  17. Lakin G. F. Biometria. – Moscow: High School, 1968. – 352 p. (In Russian).
  18. Zimon A. D. Entertaining colloid chemistry. – Moscow: Agar, 2002. – 168 p. (In Russian).
  19. Nel A., Xia T., Madler L., Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel // Science. – 2006. – **311**, N 5761. – P. 622–626.
  20. Wu C. R., Huang M. Y., Lin Y. T., Ju Y., Ching H. Antioxidant properties of Cortex Fraxini and its simple coumarins // Food. Chem. – 2007. – **104**, N 4. – P. 1464–1471.
  21. Miller N. J., Sampson J., Candeias L. P., Bramley P. M., Rice-Evans C. A. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls // FEBS Lett. – 1996. – **384**, N 3. – P. 240–242.
  22. May J. J., Wendrich T. M., Marahiel M. A. The dhb operon of *Bacillus subtilis* encodes the biosynthetic template for the catecholic siderophore 2,3-dihydroxybenzoate-glycine-threonine trimeric ester bacillibactin. // J. Biol. Chem. – 2001. – **276**, N 10. – P. 7209–7217.
  23. Fischer H. C., Chan W. C. Nanotoxicity: the growing need for *in vivo* study // Curr. Opin. Biotechnol. – 2007. – **18**, N 6. – P. 565–571.
  24. Nazarov D. Si-nanokrystals against cancer // In the science world. – 2012. – N 8. – P. 4–9. (In Russian).
  25. Sigler K., Chaloupka J., Brozmanova J., Stadler N., Hofer M. Oxidative stress in microorganisms – I. Microbial vs. higher cells – damage and defenses in relation to cell aging and death // Folia microbial. – 1999. – **44**, N 6. – P. 587–624.
  26. Tserkovniak L. S., Kurdish I. K. Phosphate-mobilizing bacteria *Bacillus subtilis* as phenolic producers // Appl. Biochem. Microbiol. – 2009. – **45**, N 3. – P. 279–284. (In Russian).

27. *Burlakova E. B., Gubareva A. E., Arkhipova G. V., Roginsky V. A.* Modulation of lipid peroxidation by biogenic amines in model systems // *Voprosy Med. Khimii.* – 1992. – **38**, N 2. – С. 17–20. (In Russian).
28. *Basaga H. S.* Biochemical aspects of free radicals // *Biochem. Cell Biol.* – 1990. – **68**, N 7–8. – P. 989–998.

Получено 17.06.2013