

УДК 665.5:54.06

Исследование экстракции гиперина из зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.)Канд. хим. наук **Н.В. Рудометова**, natrudjob@mail.ruд-р техн. наук **Т.А. Никифорова**, vniipakk55@mail.ru*Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок
191014, Россия, Санкт-Петербург, Литейный пр., 55**Университет ИТМО, кафедра «Технология производства пищевых микроингредиентов»
197101, Россия, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49***И.С. Ким**, vniipakk55@mail.ru*Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок
191014, Россия, Санкт-Петербург, Литейный пр., 55.*

*Изучено влияние содержания этилового спирта, гидромодуля, размера частиц, предварительной мацерации растительного сырья на кинетику и кратность экстракции гиперина из *Hypericum perforatum* L. Объектом исследования являлась трава зверобоя. Экстракцию нафтодиантронов из сухой травы зверобоя проводили при постоянном перемешивании и варьировании гидромодуля от 20:1 до 60:1 при температуре (20±2)°С. В качестве экстрагента использовали дистиллированную воду и водные растворы этилового спирта. Содержание гиперина определяли на спектрофотометре Shimadzu UV-1800. Показано, что наиболее эффективным экстрагентом для извлечения нафтодиантронов является 70%-ный водный раствор этанола, а равновесная концентрация нафтодиантронов не зависит от гидромодуля экстракции и концентрации этанола. Предложено проводить предварительную мацерацию растительного сырья в воде, которая способствует его равномерному набуханию и более интенсивному извлечению гиперина. Показано, что минимальное время установления равновесия и число стадий достигается при экстракции из сырья, измельченного до размера частиц менее 1 мм. Установлены основные параметры процесса экстракции, обеспечивающие исчерпывающее выделение нафтодиантронов. Экстракцию гиперина рекомендовано проводить 70% этанолом в течение часа, с гидромодулем 1:40÷1:60 и предварительной мацерацией сырья в воде в течение часа с гидромодулем 1:10 из сырья с размером частиц менее 1 мм. Соблюдение этих параметров при 6-кратной экстракции обеспечивает 99% выход гиперина.*

Ключевые слова: безопасность пищевых продуктов; биологически активные вещества; экстракция; зверобой продырявленный (*Hypericum perforatum* L.); гиперин.

DOI: 10.17586/2310-1164-2016-9-4-32-39

Extraction of hypericin from St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.)Ph.D. **Natalia V. Rudometova**, natrudjob@mail.ruD.Sc. **Tatiana A. Nikiforova**, vniipakk55@mail.ru*All-Russian Research Institute for Food Additives
191014, Russia, St. Petersburg, Liteyniy ave., 55**ITMO University, Department of Food Microingredients Processing
197101, Russia, St. Petersburg, Kronverkskiy ave., 49***Irina S. Kim**, vniipakk55@mail.ru*All-Russian Research Institute for Food Additives
191014, Russia, St. Petersburg, Liteyniy ave., 55*

*The effect of ethanol content, the ratio of raw material and extractant, particle size, and pre-maceration of plant raw materials on the kinetics and the multiplicity of hypericin extraction from *Hypericum perforatum* L. are investigated. St. John's wort is the object of study. Extraction of naphthodianthrones from dry St. John's Wort was carried out at constant stirring and at the ratio of plant material and the extractant from 20:1 to 60:1 at the temperature of 20 ± 2°C. Distilled water and aqueous ethanol were used as an extractant. The hypericin content was measured with Shimadzu*

UV-1800spectrophotometer. 70% ethanol aqueous solution is shown to be the most effective extractants for extracting naphthodianthrones, the equilibrium concentration not depending on the plant material ratio, and the extractant and ethanol concentration. The pre-maceration of vegetable raw materials in water, which contributes to its uniform swelling and more intensive hypericin extraction, is presented. The minimum equilibrium time and the number of extraction stages are shown to be achieved with the extraction from raw materials with particle size of less than 1 mm. To provide the exhaustive extraction of naphthodianthrones the basic parameters of the extraction process are chosen. Extraction with 70% ethanol for 1 hour at the ratio of plant material and the extractant of from 1:40 to 1:60 and particle size of less than 1 mm with pre-maceration of raw materials in water for hour at the ratio of plant material and the extractant 1:10 is recommended. Compliance with these parameters during six extraction stages provides an output of 99% hypericin.

Keywords: food safety; biological active substances; extraction; St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.); hypericin.

Введение

Рост популярности здорового питания среди потребителей сформировал высокую потребность в обогащенных и функциональных продуктах с использованием, в том числе, натурального растительного сырья [1–3]. Такие лекарственные растения как женьшень, лимонник, боярышник, элеутерококк, донник, зверобой, мята, корица активно внедряются в производство пищевой продукции массового потребления [4–6].

Вместе с витаминами, флавоноидами и другими полезными биологически активными веществами (БАВ) в пищевые продукты из растительного сырья могут поступать вещества, обладающие нежелательным и вредным воздействием на организм человека. Для обеспечения безопасности пищевой продукции необходимо контролировать наличие и содержание потенциально опасных БАВ как в растительном сырье, так и продуктах его переработки. Особенно актуально это для БАВ, обладающих наркотическим, канцерогенным, психотропным, галлюциногенным воздействиями, перечень и допустимый уровень содержания которых в различной пищевой продукции регламентируются техническими регламентами Таможенного союза [7, 8].

В настоящее время пищевая отрасль недостаточно обеспечена методиками анализа потенциально опасных пищевых ингредиентов, что приводит к фактическому отсутствию контроля их применения. Методики контроля лекарственных препаратов и биологически активных добавок (БАД) обеспечивают контроль ключевых БАВ, решая задачу именно их эффективного выделения и анализа. При этом в них отсутствует необходимость подготовки пробы, обеспечивающей исчерпывающее выделение и анализ минорных БАВ. Так, в траве зверобоя предусмотрено количественное определение только флавоноидов в пересчете на рутин [9].

Одним из потенциально опасных биологически активных веществ является гиперин – 4,5,7,4',5',7'-гексагидрокси-2,2'-диметилнафтодиантрон, строение которого установлено Брокманом (рисунок 1). Молярная масса гиперина равна 504,44 г/моль, температура кипения – 1020°C, плотность – 1,915 г/см³, показатель преломления – 2,131. Гиперин растворяется в различных органических растворителях, щелочных водных растворах, но не растворяется в воде.

Гиперин содержится в растениях рода *Hypericum*, в состав которого входит около 200 видов. В траве зверобоя присутствуют флавоноиды (рутин и гиперозид), дубильные вещества, тритерпеновые сапонины, эфирные масла, хлорофиллы, каротиноиды, антраценпроизводные (гиперин и его предшественники) и другие соединения.

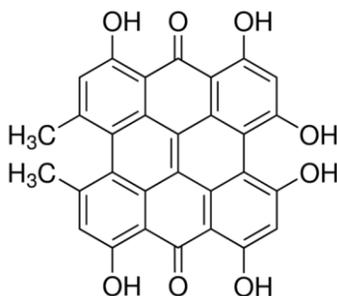


Рисунок 1 – Структурная формула молекулы гиперина

Многокомпонентность состава травы зверобоя обуславливает сложность выделения гиперидина и его очистки от сопутствующих компонентов. По литературным данным, содержание нафтодиантронов в траве зверобоя колеблется от нескольких сотых до одного процента, тогда как содержание флавоноидов и дубильных веществ достигает 10–15% [10, 11].

Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 029/2012 запрещает использование гиперидина при производстве пищевой продукции в качестве вкусоароматического вещества. Использование зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L., СЕ 234) допускается при производстве только алкогольных напитков [8]. В соответствии с требованиями Технического регламента Таможенного союза ТР ТС 021/2011 зверобой продырявленный не подлежит включению в состав однокомпонентных БАД [7].

Методическими рекомендациями Роспотребнадзора установлен адекватный уровень потребления зверобоя 0,3 мг в сутки и максимально допустимый – 1 мг в сутки [12]. Тем не менее, зверобой и его экстракты применяются не только как лекарственные средства и БАД, но и в качестве пищевого ингредиента для обогащения пищевых продуктов и напитков массового потребления [3, 5, 6]. Поэтому, разработка методики, позволяющей оперативно и надежно контролировать содержание потенциально опасного биологически активного вещества – гиперидина, является актуальным направлением обеспечения безопасности пищевой продукции.

В соответствии с ранее разработанной методологией инструментального анализа БАВ, операцией, в значительной степени определяющей достоверность анализа, является подготовка пробы, обеспечивающая исчерпывающее выделение целевого вещества или группы веществ из анализируемого матрикса [13, 14]. Одним из самых распространенных способов выделения БАВ из растительного сырья является экстракция [15–17].

Цель исследования – изучить процесс экстракции гиперидина из травы зверобоя продырявленного.

Материалы и методы

Для исследования использовали лекарственное растительное сырье «Зверобоя трава, измельченная» ОАО «Красногорсклексредства» и траву зверобоя продырявленного, собранную в регионе Санкт-Петербурга и Ленинградской области в 2014–2016 годах. Растения измельчали в фарфоровой ступке и просеивали через сита отверстиями 5; 2 и 1 мм.

В качестве экстрагентов использовали дистиллированную воду и водные растворы этилового спирта с массовой долей 50; 70; 80; 94%. Мацерацию растительного сырья проводили в дистиллированной воде при гидромодуле 6:1 и 10:1 без перемешивания. Экстракцию проводили при постоянном перемешивании на встряхивателе WU-4 (Польша) при температуре $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ и варьировании гидромодуля от 20:1 до 60:1.

Полученные экстракты фильтровали и определяли в фильтрах содержание гиперидина спектрофотометрическим методом при характеристической длине волны 590 нм [18] на двухлучевом сканирующем спектрофотометре Shimadzu UV-1800 со спектральным диапазоном 190–1100 нм, и программой обработки данных.

Результаты и обсуждение

Для установления параметров процесса экстракции исследовали влияние содержания этилового спирта в экстрагенте, гидромодуля, размера частиц и предварительной мацерации растительного сырья на кинетику экстракции гиперидина из травы зверобоя продырявленного. Анализ полученных спектрограмм (рисунок 2) показал, что в видимой области регистрируется три характерных максимума поглощения в области длин волн 546; 590 и 665 нм. Поскольку гиперидин и его производные не растворяются в воде, в водном экстракте отсутствуют характерные для нафтодиантронов полосы поглощения при длинах волн 546 и 590 нм.

Как следует из полученных экспериментальных данных, наиболее эффективным экстрагентом для извлечения нафтодиантронов является 70%-ный водный раствор этанола. При увеличении содержания этанола в экстрагенте свыше 70% степень извлечения гиперидина возрастает незначительно, тогда как экстрагируемость нецелевых липофильных веществ, имеющих характерный максимум поглощения в области длин волн (655 ± 10) нм, возрастает в два раза. Это может быть вызвано различной растворимости экстрагируемых веществ в воде и этаноле, а также различным компонентным составом растительного сырья.

Значительное количество липофильных веществ в экстракте может затруднить его дальнейшую очистку и идентификацию гиперицина, поэтому экстракцию предпочтительно проводить водными растворами с содержанием этанола не более 80%.

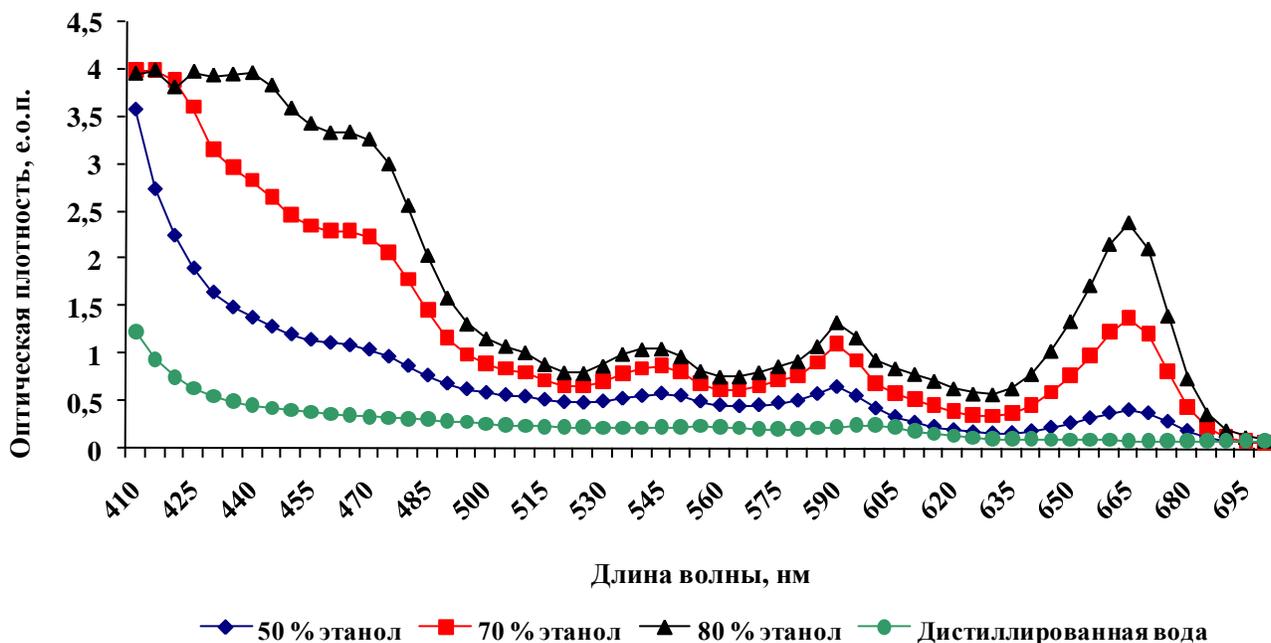


Рисунок 2 – Влияние содержания этанола в экстрагенте на спектрофотометрические характеристики экстрактов травы зверобоя

Исследование процесса кинетики экстракции нафтодиантронов из травы зверобоя показало, что равновесная концентрация нафтодиантронов в экстракте достигается в течение 2–3 часов и практически не зависит от гидромодуля экстракции (рисунок 3) и концентрации этанола (рисунок 4). Поскольку проведение процесса экстракции в отсутствие достижения равновесия приводит к увеличению кратности экстракции, с целью сокращения времени достижения равновесной концентрации и определения необходимого числа стадий экстракции, проведен мультифакторный эксперимент.

Результаты эксперимента, полученные при определении зависимости кратности экстракции от содержания этанола в экстрагенте (рисунок 5) подтвердили правильность выбора в качестве экстрагента 70% водного раствора этанола.

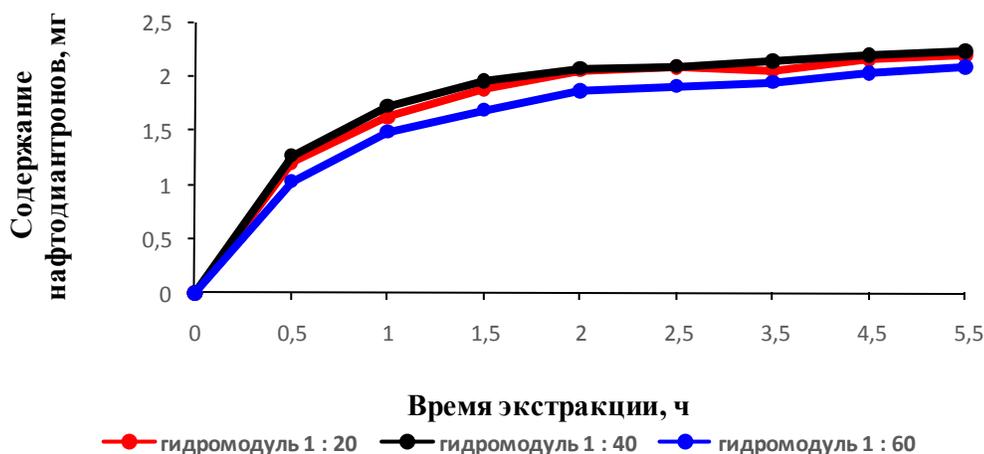


Рисунок 3 – Влияние гидромодуля на кинетику экстракции нафтодиантронов из травы зверобоя продырявленного

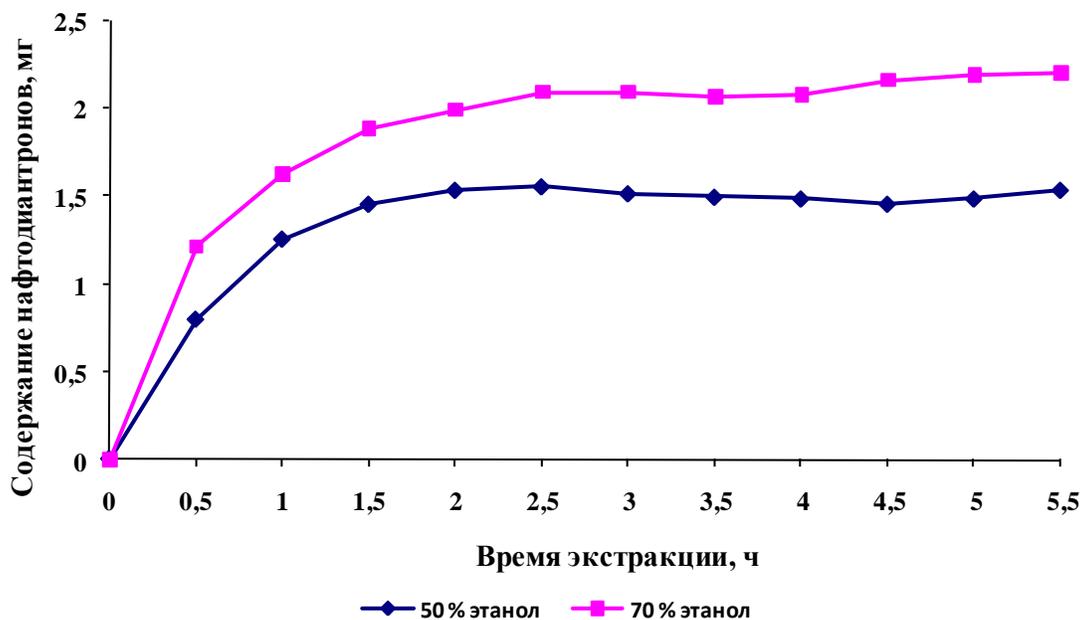


Рисунок 4 – Влияние содержания этанола в экстрагенте на кинетику экстракции нафтодиантронов из травы зверобоя продырявленного

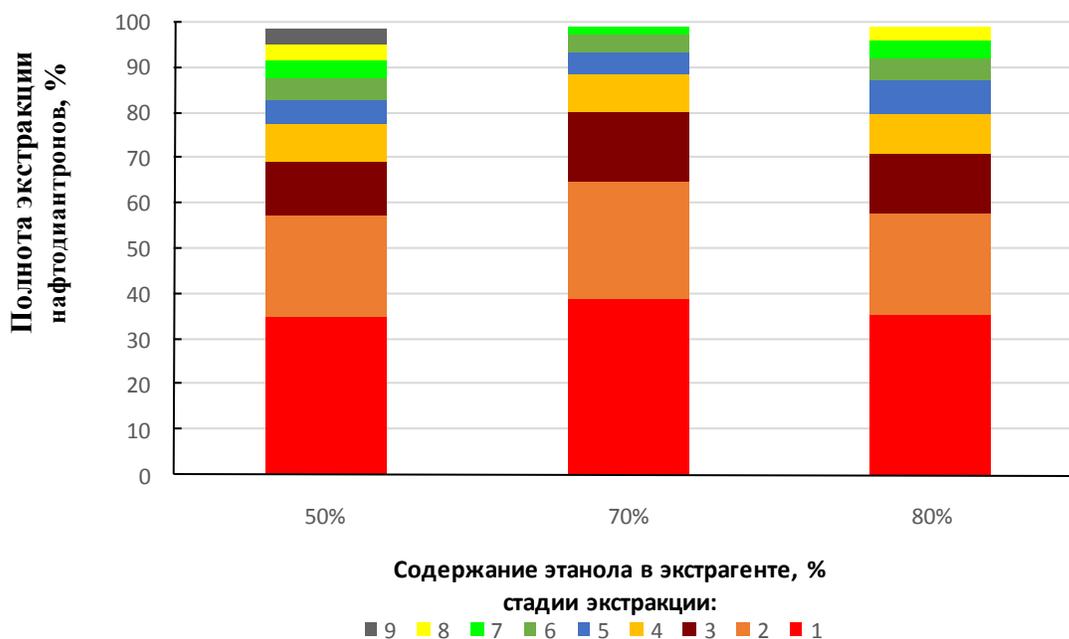


Рисунок 5 – Влияние содержания этанола в экстрагенте на кратность экстракции нафтодиантронов из травы зверобоя продырявленного

Для улучшения набухания сырья предложено ввести дополнительно его мацерацию в воде. Получены экспериментальные данные, свидетельствующие о значительном влиянии на эффективность экстрагирования гиперидина предварительной мацерации сырья в воде (гидромодуль 1:10), в результате которой в два раза сокращается время достижения его равновесной концентрации в экстракте. Кроме того, изучение влияния мацерации на кратность экстракции гиперидина, показала, что такая предварительная обработка приводит к уменьшению числа стадий (с 7 до 6), необходимых для исчерпывающей экстракции нафтодиантронов.

Очевидно, что мацерация сырья способствует его равномерному набуханию и более интенсивному последующему экстрагированию биологически активных веществ.

Исследование зависимости экстракции от размера частиц растительного сырья позволило установить, что при частицах травы зверобоя менее 1 мм содержание гиперидина в экстракте в два раза выше, чем в экстрактах, полученных из сырья с размером частиц более 1 мм. Это может быть связано как с большей доступностью биологически активных веществ при экстрагировании, так и с отличающимся содержанием нафтодиантронов в различных частях растения, дающих при измельчении и расфракционировании преимущественно более или менее 1 мм.

Эксперименты показали, что минимальное время установления равновесия, равное одному часу, достигается при экстракции из сырья, измельченного до размера частиц менее 1 мм и его предварительной мацерации в воде в течение часа.

Выводы

В результате анализа полученных экспериментальных данных были установлены основные параметры процесса экстракции, обеспечивающие исчерпывающее выделение нафтодиантронов из травы зверобоя: использование в качестве экстрагента водного раствора с содержанием 70% этанола, соотношение сырья: экстрагент – 1:40 ÷ 1:60, количество стадий экстракции – 6, размер частиц растительного сырья менее 1 мм, введение стадии предварительной мацерации в воде при гидромодуле 1:10 в течение одного часа. При соблюдении этих условий выход нафтодиантронов достигает (99±1) %, что создает условия для последующего анализа потенциально опасного биологического вещества гиперидина высокоэффективными инструментальными методами.

Литература

1. Попов А.М., Кравченко С.Н., Елькина О.В. Рынок экстрактов и обогащенных ими продуктов // Практический маркетинг. 2009. № 3. С. 31–34.
2. Петренко А.С., Суханов Б.П. Практика использования биологически активных добавок к пище в зарубежных странах (на примере США) // Вопросы питания. 2011. Т. 80. № 1. С.55–63.
3. Струпан Е.А., Колодяжная В.С., Струпан О. А. Технология получения экстрактов из дикорастущего растительного сырья, широко применяемого в пищевой промышленности и фитотерапии // Вестник КрасГАУ. 2012. № 8. С. 199–205.
4. Парфенова Т. В., Коростылева Л. А., Текутьева Л. А., Сон О. М., Мухортов С. А., Алексеев Н. Н. Фитоджемы с растительными экстрактами // Пищевая промышленность. 2012. № 12. С. 72–73.
5. Лобанов В.Г., Корнена Е.П., Красина И.Б., Ханферян Р.А., Марковский Ю.И., Вакуленко О.В., Фролова Е.А. Биологически активная добавка к пище: пат. 2399317 Российская Федерация. 2010. Бюл. № 26. 4 с.
6. Белова А.А., Базарнова Ю.Г. Исследование фенольного состава дикорастущих трав методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Хранение и переработка сельхозсырья. 2014. № 2. С. 48–51.
7. ТР ТС 021/2011. О безопасности пищевой продукции. Введ. 01.07.2013 [Электронный ресурс] // Консорциум кодексов URL: <http://docs.cntd.ru/document/902320560> (дата обращения 05.10.2016).
8. ТР ТС 029/2012. Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств. Введ. 01.07.2013 [Электронный ресурс] // Консорциум кодексов URL: <http://docs.cntd.ru/document/902359401> (дата обращения 05.10.2016).
9. Зверобоя трава (*Hyperici herba*) // Государственная Фармакопея Российской Федерации XIII издание. М.: ФЭМБ, 2015. Т. 3. 1292 с.
10. Зимина Л.Н., Куркин В.А., Рыжов В.М. Сравнительное исследование компонентного состава травы фармакопейных видов зверобоя методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Химия растительного сырья. 2013. № 1. С. 205–208.
11. Милевская В.В., Статкус М.А., Темердашев З.А., Киселева Н.В., Верниковская Н.А. Способы экстрагирования биологически активных веществ из лекарственных растений на примере компонентов зверобоя // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70. № 12. С. 1255–1263.

12. МР 2.3.1.19150-04. Рациональное питание. Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ. Введ. 02.07.2004 [Электронный ресурс] // Консорциум кодексов. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200037560> (дата обращения 05.10.2016).
13. Рудометова Н.В. Инструментальные методы контроля биологически активных веществ в растительном сырье и продуктах его переработки // Материалы III Междунар. научно-практич. конф. «Инновационные пищевые технологии в области хранения и переработки сельскохозяйственного сырья» (Краснодар, 23–24 мая 2013 г.). Краснодар: Издательский Дом – Юг, 2013. С. 331–334.
14. Рудометова Н.В. Контроль потенциально опасных биологически активных веществ в растительном сырье // Молочная промышленность. 2015. № 1. С. 54–56.
15. Oluk E.A., Orhan S., Kararaş Ö., Çakir A., Gönüz A. High efficiency indirect shoot regeneration and hypericin content in embryogenic callus of *Hypericum triquetrifolium* Turra. *African Journal of Biotechnology*. 2010, V.9, pp. 2229–2233.
16. Милевская В.В., Статкус М.А., Темердашев З.А. Способ экстракции биологически активных веществ из зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.): пат. 2568912 Российская Федерация. 2015. Бюл. № 32. 8 с.
17. Hamed B., Pirbalouti A.G., Moradi P. Effect of foliar application of jasmonic acid on Hypericin content of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). *Electronic Journal of Biology*. 2014, V. 10(2), pp. 35–39.
18. Коваленко Н.А., Супиченко Г.Н., Леонтьев В.Н., Стасевич О.В. Электронные спектры поглощения экстрактов травы зверобоя // Труды БГТУ. Химия, технология органических веществ и биотехнология. 2013. № 4. С. 224–227.

References

1. Popov A.M., Kravchenko S.N., El'kina O.V. Rynok ekstraktov i obogashchennykh imi produktov [The market of extracts and the products enriched with them]. *Practical marketing*. 2009, no. 3, pp. 31–34.
2. Petrenko A.S., Sukhanov B.P. Praktika ispol'zovaniya biologicheskii aktivnykh dobavok k pishche v zarubezhnykh stranakh [The practice of using biologically active food supplements in foreign countries (for example USA)]. *Food questions*. 2011, V. 80, no. 1, pp. 55–63.
3. Strupan E.A., Kolodyaznaya V.S., Strupan O.A. Tekhnologiya polucheniya ekstraktov iz dikorastushchego rastitel'nogo syr'ya, shiroko primenyaemogo v pishchevoi promyshlennosti i fitoterapii [Technology of extracts reception from wild-growing vegetative raw materials widely applied in food-processing industry and herbal therapy]. *Vestnik KrasGAU*. 2012, no. 8, pp.199–205.
4. Parfenova T.V., Korostyleva L.A., Tekut'eva L.A., Son O.M., Mukhortov S. A., Alekseev N. N. Fitodzhemy s rastitel'nymi ekstraktami [Phytojams with plant extracts]. *Food industry*. 2012, no. 12, pp. 72–73.
5. Lobanov V.G., Kornena E.P., Krasina I.B., Khanferyan R.A., Markovskii Yu.I., Vakulenko O.V., Frolova E.A. *Biologicheskii aktivnaya dobavka k pishche* [Dietary supplement]. Patent RF, no. 2399317. 2010.
6. Belova A.A., Bazarnova Yu.G. Issledovanie fenol'nogo sostava dikorastushchikh trav metodom vysokoeffektivnoi zhidkostnoi khromatografii [Research of phenolic composition of wild herbs by high performance liquid chromatography method]. *Storage and processing of agricultural raw materials*. 2014, no. 2, pp. 48–51.
7. TR TS 021/2011. *O bezopasnosti pishchevoi produktsii* [About food safety]. Konsortsiium kodeks. 2013. URL: <http://docs.cntd.ru/document/902320560> (Accessed 05.10.2016).
8. TR TS 029/2012. *Trebovaniya bezopasnosti pishchevykh dobavok, aromatizatorov i tekhnologicheskikh vspomogatel'nykh sredstv*. [Safety requirements for food additives, flavorings and processing aids]. Konsortsiium kodeks. 2013. URL: <http://docs.cntd.ru/document/902359401> (Accessed 05.10.2016).
9. Zveroboya trava (Hyperici herba). *Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossijskoj Federacii XIII izdanie* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIII edition]. Moscow, FEHMB Publ., 2015. V. 3, 1292 p.
10. Zimina L.N., Kurkin V.A., Ryzhov V.M. Sravnitel'noe issledovanie komponentnogo sostava travy farmakopeinykh vidov zveroboya metodom vysokoeffektivnoi zhidkostnoi khromatografii [The comparative study of chemical composition of herbs of pharmacopoeial species of *Hypericum* L. with the using of high performance liquid chromatography]. *Crop production chemistry*. 2013, no. 1, pp. 205–208.
11. Milevskaya V.V., Statkus M.A., Temerdashev Z.A., Kiseleva N.V., Vernikovskaya N.A. Sposoby ekstragirovaniya biologicheskii aktivnykh veshchestv iz lekarstvennykh rastenii na primere komponentov zveroboya [Methods for extraction of biologically active substances from medical plants based on an example of St. John's components]. *Journal of Analytical Chemistry*. 2015, V. 70, no. 12, pp. 1255–1263.

12. MR 2.3.1.19150-04. *Ratsional'noe pitanie. Rekomenduemye urovni potrebleniya pishchevykh i biologicheskii aktivnykh veshchestv* [Methodical recommendations 2.3.1.19150-04, Balanced diet. The recommended levels of consumption of food and biologically active agents]. Konsortsium kodeks. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200037560> (Accessed 05.10.2016).
13. Rudometova N.V. Instrumental'nye metody kontrolya biologicheskii aktivnykh veshchestv v rastitel'nom syr'e i produktakh ego pererabotki [Control of biologically active substances from plant raw materials and processing raw materials by instrumental methods]. *Proceeding of the third International scientific and practical conference "Innovative technologies in food storage and processing of agricultural raw materials"* (Krasnodar, August 23–24, 2013). Krasnodar, House–South Publ., 2013, pp. 331–334.
14. Rudometova N.V. Kontrol' potentsial'no opasnykh biologicheskii aktivnykh veshchestv v rastitel'nom syr'e [Control of potentially hazardous biologically active substances in plant raw materials]. *Dairy industry*. 2015, no. 1, pp. 54–56.
15. Oluk E.A., Orhan S., Kararaş Ö., Çakir A., Gönüz A. High efficiency indirect shoot regeneration and hypericin content in embryogenic callus of *Hypericum triquetrifolium* Turra. *African Journal of Biotechnology*. 2010, V.9, pp. 2229–2233.
16. Milevskaya V.V., Statkus M.A., Temerdashev Z.A. *Sposob ekstraksii biologicheskii aktivnykh veshchestv iz zveroboya prodyryavlennogo (Hypericum perforatum L.)* [Method for extracting biologically active substances from common St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.)]. Patent RF, no. 2568912. 2015.
17. Hamedi B., Pirbalouti A.G., Moradi P. Effect of foliar application of jasmonic acid on Hypericin content of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.). *Electronic Journal of Biology*. 2014, V. 10(2), pp. 35–39.
18. Kovalenko N.A., Supichenko G.N., Leont'ev V.N., Stasevich O.V. Elektronnye spektry pogloshcheniya ekstraktov travy zveroboya [Electronic absorption spectra of St. John's Wort extracts]. *Works BGTU. Chemistry, technology of organic substances and biotechnology*. 2013, no. 4, pp. 224–227.

Статья поступила в редакцию 17.11.2016