

УДК 665.5:54.06

Анализ потенциально опасных биологически активных веществ в целях безопасного применения растительного сырья в пищевых производствахКанд. хим. наук **Н.В. Рудометова**, natrudjob@mail.ru*ВНИИ пищевых добавок – филиал «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН
191014, Россия, Санкт-Петербург, Литейный пр., 55**Университет ИТМО, кафедра «Технология производства пищевых микроингредиентов»
191002, Россия, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9***И.С. Ким**, vniipakk55@mail.ru*ВНИИ пищевых добавок – филиал «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН
191014, Россия, Санкт-Петербург, Литейный пр., 55*

Исследована экстракция кумарина и гиперидина из растительного сырья. Показано, что исчерпывающая экстракция кумарина (более 95%) из цветов ромашки, травы донника и молотой корицы достигается двукратным экстрагированием с механическим перемешиванием при температуре $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 4 ч. Проведение экстракции при ультразвуковом воздействии мощностью 96 Вт и температуре $(55 \pm 5)^\circ\text{C}$ позволяет сократить время экстракции до $(30 \div 60)$ мин. Установлены основные параметры процесса экстракции, обеспечивающие исчерпывающее выделение нафтодиантронов из травы зверобоя продырявленного. Показано, что ультразвук не оказывает значимого влияния на время установления равновесия в экстракционной системе. Ультразвуковая обработка сырья в процессе предварительной мацерации, напротив, приводит к сокращению стадий экстракции при сохранении 99% выхода нафтодиантронов. Экстракцию гиперидина рекомендовано проводить с предварительной мацерацией сырья с размером частиц менее 1 мм в воде в течение часа при мощности ультразвука от 112 до 160 Вт и гидромодуле 1:10. Анализ кумарина и гиперидина проводили на жидкостном хроматографе Varian- 920 LC. Время удерживания кумарина составляет $(4,1 \pm 0,1)$ мин при использовании в качестве элюента смеси ацетонитрила и деионизированной воды в соотношении 80:20 и скорости потока $0,8 \text{ см}^3/\text{мин}$. Для анализа гиперидина выбран градиентный режим с использованием элюирующей системы на основе ацетонитрила, метанола и ацетатного буфера с $\text{pH} = 5,0$, скорости потока $1 \text{ см}^3/\text{мин}$ при температуре колонки 30°C . Время удерживания гиперидина (25 ± 1) мин. Разработаны методики анализа кумарина и гиперидина для обеспечения требований безопасности при использовании растительного сырья в производстве пищевой продукции.

Ключевые слова: безопасность пищевых продуктов; биологически активные вещества; гиперидин; кумарин; ультразвуковая экстракция; высокоэффективная жидкостная хроматография.

DOI: 10.17586/2310-1164-2017-10-4-43-52

Analysis of potentially dangerous biologically active substances for the safe use of plant materials in food productionPh.D. **Natalia V. Rudometova**, natrudjob@mail.ru*All-Russian Scientific Research Institute of Food Additives (Branch of Gorbatov Research Center for Food Systems)
55, Liteyniy ave., St. Petersburg, 191014, Russia**ITMO University, Department of Food Microingredients Processing
9, Lomonosov str., St. Petersburg, 191002, Russia,***Irina S. Kim**, vniipakk55@mail.ru*All-Russian Scientific Research Institute of Food Additives (Branch of Gorbatov Research Center for Food Systems)
55, Liteyniy ave., St. Petersburg, 191014, Russia*

*The extractions of coumarin and hypericin from plant raw materials is studied. It is shown that the exhaustive extraction of coumarin (more than 95%) from Chamomile's (*Matricaria chamomilla*) flowers, Melilot's grass (*Melilotus officinalis*) and ground Cinnamon (*Cinnamomum verum*) is achieved by double extraction with mechanical stirring at the temperature of $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ for 4 hours. Extraction with ultrasonic action with the power of 96 W and the temperature of $(55 \pm 5)^\circ\text{C}$ makes it possible to shorten the*

extraction time to (30 ÷ 60) minutes. To provide the exhaustive extraction naphthodianthrones from St. John's Wort, the basic parameters of the isolation process has been developed. The equilibrium concentration is shown not to depend on ultrasonic power. Ultrasonic treatment at the pre-maceration, on the contrary, leads to a reduction in the extraction stages while maintaining the 99% yield of aphyoantrones. Extraction of Hypericin is recommended to be carried out with pre-maceration of lant raw materials with the particle size of less than 1 mm for an hour at an ultrasonic power of 112 to 160 W and at the ratio of dry St. John's Wort and the water 1:10. Coumarin and hypericin were analyzed by Varian-920 LC liquid chromatograph. The retention time of coumarin is (4.1 ± 0.1) min using 80:20 mixture of acetonitrile and deionized water as the eluent and flow rate of 0.8 cm³/min. For the analysis of hypericin a gradient regimen was chose using an acetonitrile and methanol based eluting system, acetate buffer having pH = 5.0, flow rate – 1 cm³/min and column temperature – 30°C. The retention time of hypericin is (25 ± 1) min. To ensure safety requirements when using plant raw materials in food production methods for the analysis of coumarin and hypericin have been developed.

Keywords: food safety; biologically active substances; hypericin; coumarin; ultrasonic extraction; high performance liquid chromatography.

Введение

Развитие фармацевтической промышленности, биотехнологии, химии, внедрение суперсовременных технологий переработки растительного сырья обеспечило возможность производства необходимых для повышения качества питания биологически активных веществ (БАВ) и сформировало их высокую востребованность населением. Эта тенденция нашла отражение в широком применении БАВ в различных областях медицины, косметической и пищевой промышленности [1].

В настоящее время более 40 видов растительного сырья и продуктов его переработки используются в пищевой промышленности, в связи с чем особую значимость приобрела необходимость контроля за содержанием потенциально опасных БАВ в пищевой продукции [2].

Несмотря на это, из-за слабо развитой методической базы, контроль БАВ в пищевой продукции практически отсутствует. Методики контроля лекарственных препаратов и биологически активных добавок (БАД) обеспечивают контроль ключевых БАВ, решая задачу именно их эффективного выделения и анализа. При этом в таких методиках не предусматривается подготовка пробы, обеспечивающая исчерпывающее выделение потенциально опасных минорных БАВ, в том числе кумарина и гиперидина [3, 4].

Кумарин – лактон орто-оксикоричной кислоты (рисунок 1), кристаллическое вещество с температурой плавления 70°C и температурой кипения 291°C, впервые выделен Фогелем в 1820 году из плодов *Dipteryx odorata* Willd.

Химические и физические свойства кумарина, простейшего представителя семейства кумаринов, производных 2Н-1-бензопиран-2-она, хорошо изучены.

Спектры поглощения кумаринов имеют две полосы поглощения: в диапазоне от 210 до 280 нм и от 290 до 350 нм, которые обусловлены хромофором, образованным сопряженными пироновым и бензольным кольцами. Масс-спектры кумаринов характеризуются тремя интенсивными молекулярными пиками. Кумарин хорошо растворим в спирте и эфире, плохо – в воде [5].

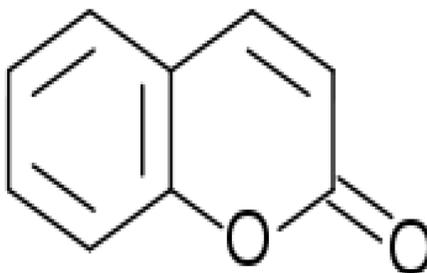


Рисунок 1 – Структурная формула молекулы кумарина
Fig. 1 – Structural formula for a molecule of coumarin

В виде гликозидов кумарин содержится во многих растениях: ромашке, тысячелистнике, доннике, зубровке, лаванде, коричном дереве и других растениях. Содержание кумаринов в растениях колеблется от 0,2 до 10,0%, причем в различных частях растения оно может отличаться в несколько раз. Кроме того, в одном растении можно обнаружить до 10 различных соединений группы кумарина [6].

Кумарин действует угнетающе на центральную нервную систему, обладает слабым наркотическим действием, поэтому содержание кумарина нормируется: в хлебобулочных изделиях с корицей (50 мг/кг), в хлебобулочных изделиях без корицы (15 мг/кг), сухих завтраках из зерновых, включая мюсли (20 мг/кг) и десертах (5 мг/кг). Не допускается прямое использование кумарина в качестве вкусоароматического вещества [7].

Гиперицин – 4,5,7,4',5',7'-гексагидрокси-2,2'-диметилнафтодиантрон, строение которого установлено Брокманом (рисунок 2). Молярная масса гиперицина равна 504,44 г/моль, температура кипения – 1020°C, плотность – 1,915 г/см³, показатель преломления – 2,131. Гиперицин растворяется в различных органических растворителях, щелочных водных растворах, но не растворяется в воде.

Гиперицин содержится только в растениях рода *Hypericum*, в состав которого входит около 200 видов растений, в том числе зверобой продырявленный, зверобой пятнистый, зверобой горный, зверобой шероховатый и другие. Состав травы зверобоя характеризуется высоким содержанием каротиноидов (до 55 мг%), флавоноидов (до 5%), дубильных веществ катехиновой группы (до 10%), смолистых веществ (до 10%), нафтодиантронов (до 1%), также присутствуют тритерпеновые сапонины, эфирные масла, хлорофиллы и другие соединения [8–10].

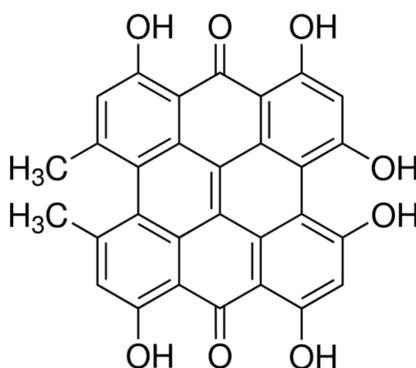


Рисунок 2 – Структурная формула молекулы гиперицина
Fig. 2 - Structural formula for a molecule of hypericin

Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 029/2012 запрещает использование гиперицина при производстве пищевой продукции в качестве вкусоароматического вещества. Использование зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L., СЕ 234) допускается при производстве только алкогольных напитков [7]. В соответствии с требованиями Технического регламента Таможенного союза ТР ТС 021/2011 зверобой продырявленный не подлежит включению в состав однокомпонентных БАД [11].

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 [13].

Применение для анализа высокоэффективных инструментальных методов, в частности колонной хроматографии высокого давления, реализуемой в приборах, оснащенных детекторами различной конструкции и степени селективности, позволяет с высокой степенью точности определять даже следовые количества потенциально опасных биологически активных веществ.

Основной проблемой количественного анализа пищевых матриц, характеризующихся сложным многокомпонентным составом, является этап подготовки пробы, который должен обеспечить минимальные потери БАВ при его исчерпывающем выделении и очистке от сопутствующих ингредиентов [14, 15]. Одним из самых распространенных способов выделения БАВ из растительного сырья является экстракция [16–18]. Опубликованные в последние годы работы, демонстрируют эффективность механохимической [19],

микроволновой [20] и ультразвуковой обработки растительного сырья [21, 22], поэтому цель работы – исследование процессов экстракции БАВ из растительного сырья – является актуальной.

Материалы и методы

Для исследования использовали лекарственное растительное сырье: «Ромашки цветки» и «Зверобоя трава, измельченная» ОАО «Красногорсклексредства» (Красногорск, Россия), «Донник лекарственный трава (измельченная)» ООО «ЛЕКРА-СЭТ» (Барнаул, Россия), «Корица молотая» ООО «ЗИОЛОПЕКС» (Польша). Сырье измельчали в фарфоровой ступке и просеивали через сита с диаметром отверстий 5; 2 и 1 мм.

Анализ проводили на следующем оборудовании:

– высокоэффективной аналитической системе для жидкостной хроматографии высокого давления VARIAN 920-LC, оснащенной флуориметрическим и спектрофотометрическим (на основе диодной матрицы с диапазоном от 190 до 900 нм) детекторами, колонкой Chromsep Microsorb 100 5 C18, размерами 250x4,6 мм, автоматическим управлением и обработкой данных на базе программного обеспечения GALAXIE.

Для количественного определения кумарина использовали метод абсолютной градуировки по аналитическому стандарту Sigma-Aldrich с содержанием кумарина не менее 99,99%. Содержание гиперина определяли методом внутренней нормализации. В качестве контрольного образца использовали дополнительно очищенный препарат «Деприм-форте» с содержанием нафтодиантронов 2,35 мг/г, в пересчете на гиперин, производства Sandoz (Словения).

– дулучевом сканирующем спектрофотометре Shimadzu UV-1800 со спектральным диапазоном 190–1100 нм, и программой обработки данных.

Для экстракции БАВ из растительного сырья использовали:

- ультразвуковую ванну Sonorex DK 255 P с эффективной мощностью 160 Вт и частотой ультразвука 35 кГц;
- перемешивающее устройство (встряхиватель) WU-4, Польша;
- магнитную мешалку с нагревательным элементом.

В качестве экстрагентов использовали дистиллированную воду, этиловый спирт и его водные растворы.

Результаты и обсуждение

В соответствии с разработанной методологией инструментального анализа БАВ [15], для того, чтобы оценить влияние каждого из возможных факторов: способа, кратности и температуры экстракции, а также времени ультразвукового воздействия, определить их вклад в интегральную характеристику процесса и установить параметры экстракции БАВ из растительного сырья, проведен многофакторный эксперимент. Показано, что исчерпывающая экстракция кумарина (более 95%) достигается двукратным экстрагированием 96% этанолом из растительного сырья с размером частиц менее 1 мм при механическом перемешивании в течение 4 ч и температуре $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ [23]. Гидромодуль на первой стадии экстракции 1:20, на второй стадии – 1:10. Для интенсификации процесса предложено проводить экстракцию в ультразвуковой ванне с мощностью 96 Вт при температуре $(55 \pm 5)^\circ\text{C}$. Это сокращает время экстракции до (30÷60) мин.

Таблица 1 – Результаты анализа кумарина в растительном сырье

Table 1 – Analysis of coumarin and hypericin in plant raw materials

Наименование образца	Количество кумарина		Способ экстрагирования
	в экстракте, г/см ³	в образце, мг/г	
Ромашка (цветки)	следы		механическое перемешивание
	0,01	0,2	ультразвуковое воздействие
	0,01	0,2	
Донник (трава)	0,11	2,2	механическое перемешивание
	0,14	2,8	ультразвуковое воздействие
Корица (порошок)	0,19	3,8	механическое перемешивание
	0,19	3,8	ультразвуковое воздействие

Анализ кумарина проводили хроматографированием пробы объединенного экстракта объемом 5 мкл в течение 6 мин с использованием в качестве элюента смеси ацетонитрила и деионизированной воды в соотношении 80:20, скорость потока – 0,8 см³/мин. Время удерживания кумарина, определенное при хроматографировании стандартного образца, составило (4,1 ± 0,1) мин. Результаты количественного определения кумарина в различном растительном сырье представлены в таблице 1 и на рисунке 3.

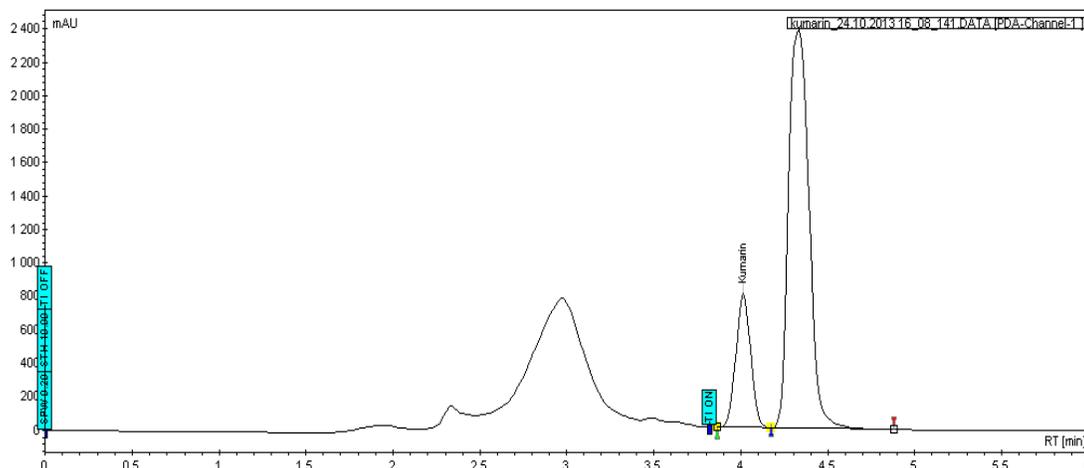


Рисунок 3 – ВЭЖХ-хроматограмма экстракта травы донника, полученного при ультразвуковой экстракции
Fig. 3 – High performance liquid chromatography for ularasonic extarction of Melilot's grass

В результате математической обработки полученных экспериментальных данных было установлено, что относительная погрешность определения кумарина не превышает 5% в диапазоне концентраций от 0,005 до 0,300 мг/см³. Результаты хроматографирования экстракта корицы в трехмерном измерении, которое дает возможность наблюдать спектры всех компонентов исследуемого матрикса, показаны на рисунке 4.

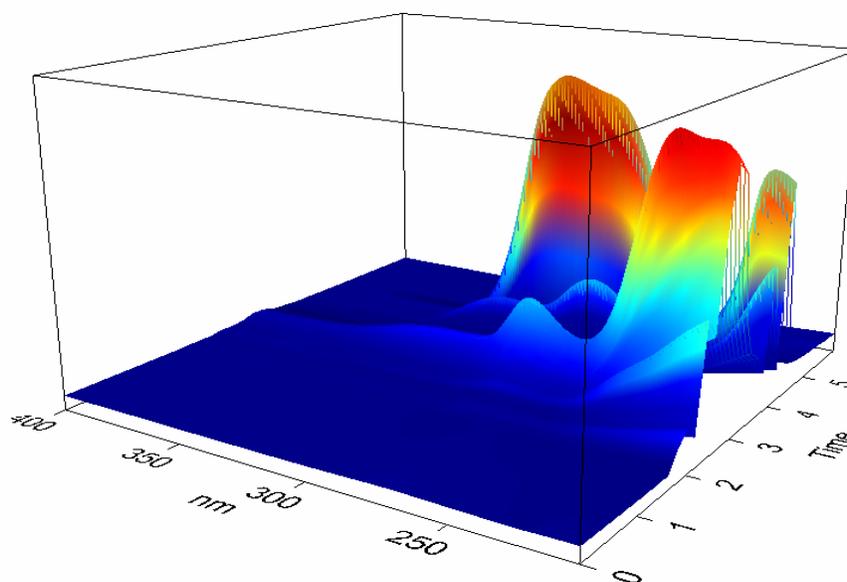


Рисунок 4 – 3D матрица ВЭЖХ-хроматограмм экстракта корицы
Fig. 4 – 3D matrix of high performance liquid chromatography for cinnamon extarct

Ранее нами были установлены параметры извлечения гиперидина из травы зверобоя: мацерация сырья в воде при гидромодуле 1:10, 6-кратная экстракция 70% водным раствором этанола, гидромодуль от 1:40 до 1:60, размер частиц менее 1 мм. Исследование спектров и тонкослойных хроматограмм полученных экстрактов показало, что они являются многокомпонентными системами, содержащими вещества различной химической природы. Нафтодиантроны представлены гиперидином и его производными [13].

Для определения параметров хроматографического анализа гиперидина проведена апробация изократического и градиентного режимов с использованием различных элюирующих систем, варьировании скорости потока в диапазоне от 0,3 до 1 см³/мин, температуры колонки в диапазоне от 25 до 40°C и времени детектирования от 20 до 60 мин. Исследования проводили на очищенном препарате «Деприм-форте», стандартизованном по гиперидину. В результате проведенного эксперимента подобран элюент (смесь ацетонитрила, метанола и ацетатного буфера с рН = 5,0), в градиентном режиме обеспечивающий идентификацию и количественное определение гиперидина методом внутренней нормализации. Время удерживания гиперидина составило (25 ± 1) мин.

Проведено изучение влияния ультразвукового воздействия на процесс экстракции гиперидина. Показано, что ультразвук не оказывает значимого влияния на время установления равновесия в экстракционной системе.

Вместе с тем, ультразвуковая обработка сырья в процессе предварительной мацерации, напротив, приводит к сокращению стадий экстракции и позволяет достигнуть 99% выхода нафтодиантронов без увеличения продолжительности процесса экстракции. Анализ экстрактов проводили хроматографированием пробы объемом от 3 до 20 мм³ при длинах волн 590 и 665 нм с использованием диодно-матричного детектора и флуориметрического детектора при длинах волн экстинкции и эмиссии 315 и 590 нм соответственно. Сравнительные экспериментальные данные по влиянию предварительной мацерации сырья на выход нафтодиантронов приведены на рисунке 5.

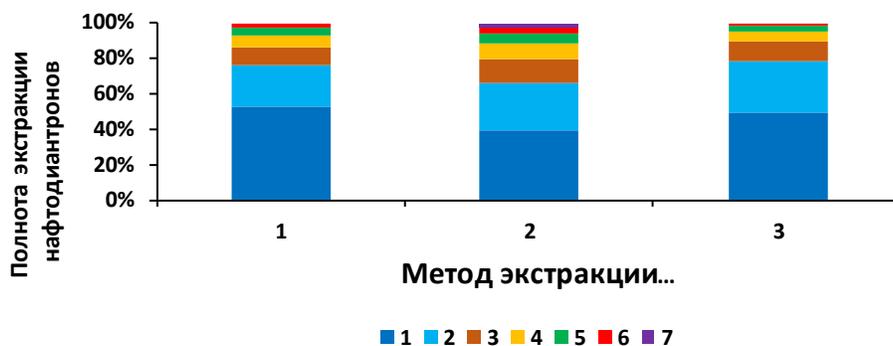


Рисунок 5 – Влияние способа мацерации сухого сырья на кратность экстракции нафтодиантронов из травы зверобоя продырявленного:

- 1 – экстракция в течение 2 ч без предварительной мацерации; 2 – экстракция в течение 1 ч с предварительной мацерацией;
- 3 – экстракция в течение 1 ч с предварительной мацерацией УЗ мощностью 112 Вт

Fig. 5 – The influence of dry raw materials maceration on the extraction of naphthodianthrones from St. John's Wort: 1 – extraction for 2 h. without pre-maceration; 2 – extraction for 1 h. wit pre-maceration; 3 – extraction for 4 h. wit pre-maceration by ultrasound of 112 Wt.

Установлено также, что варьирование мощности УЗ в диапазоне от 112 до 160 Вт не влияет на эффективность процессов мацерации и экстракции. Дальнейшее увеличение мощности приводит к изменению температурного режима процесса, что отрицательно сказывается на содержании гиперидина в экстрактах.

Таким образом, экстракцию гиперидина рекомендовано проводить с предварительной мацерацией в воде в течение часа при мощности ультразвука от 112 до 160 Вт и гидромодуле 1:10 из сырья размером

частиц менее 1 мм с последующей 6-кратной экстракцией 70% водным раствором этанола с гидромодулем от 1:40 до 1:60.

Проведена апробация разработанной методики, в результате которой определено содержание гиперидина в экстрактах различных образцов *Hypericum perforatum*. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Содержание гиперидина в образцах *Hypericum perforatum*

Table 2 – Hypericin content in the samples of *Hypericum perforatum*

Образец	Дата	№ партии	Содержание гиперидина, %
«Зверобоя трава измельченная» производства ОАО «Красногорсклексредства»	07.2015 г.	100715	0,07 ± 0,01
	01.2016 г.	10116	0,05 ± 0,01
	04.2016 г.	50416	0,10 ± 0,01
Трава зверобоя продырявленного, собранная в лесопарковой зоне Санкт-Петербурга	2014 г.	1	0,22 ± 0,02
	2014 г.	2	0,18 ± 0,02
	2015 г.	1	0,19 ± 0,01
	2016 г.	1	0,19 ± 0,01

Заключение

В результате проведенного исследования определены основные параметры процесса экстракции, обеспечивающие исчерпывающее выделение кумарина (более 95%) из растительного сырья: двукратная экстракция 96% этанолом при ультразвуковом воздействии мощностью 96 Вт и температуре (55 ± 5)°C в течение (30 ÷ 60) мин с гидромодулем 1:20 на первой стадии и 1:10 на второй стадии. Показана также эффективность ультразвуковой обработки в процессе предварительной мацерации травы зверобоя (размер частиц менее 1 мм, время мацерации в воде 1 ч, мощность ультразвука от 112 до 160 Вт, гидромодуль 1:10), которая приводит к сокращению с 7 до 6 стадий экстракции гиперидина 70%-ым водным раствором этанола и обеспечивает 99%-й выход нафтодиантронов. Подобраны условия анализа кумарина (элюент – смесь ацетонитрила и деионизированной воды в соотношении 80:20, скорость потока – 0,8 см³/мин, время удерживания ($4,1 \pm 0,1$) мин и гиперидина (элюент – смесь ацетонитрила, метанола и ацетатного буфера с pH = 5,0, градиентный режим элюирования, время удерживания (25 ± 1) мин) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Разработаны методики инструментального анализа потенциально опасных БАВ (кумарина и гиперидина), внедрение которых в практику пищевых производств и контролирующих органов, обеспечит выполнение требований технических регламентов Таможенного союза ТР ТС 029/2012 и ТР ТС 021/2011 и безопасность пищевой продукции с использованием натурального растительного сырья.

Литература

1. Струпан Е.А., Колодязная 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.
2. Тутельян В.А., Суханов Б.П. Биологически активные добавки к пище: современные подходы к обеспечению качества и безопасности // Вопросы питания. 2008. Т. 77. № 4. С. 4–15.
3. Зверобоя трава (*Hyperici herba*) ФС.2.5.0015.15. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIII издание. М., 2015. Т. 3. 1292 с.
4. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России. 2004. 240 с.
5. 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.
6. Ложкин А.В., Саканян Е.И. Природные кумарины: методы выделения и анализа (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. Т.40. №6. 2006. С. 47–55.

7. ТР ТС 029/2012. Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств. Введ. 01.07.2013 [Электронный ресурс] // Евразийская экономическая комиссия URL: http://www.eurasiancommission.org/ru/act/techreg/deptexreg/tr/Documents/P_58.pdf. (дата обращения 30.10.2017).
8. Зими́на 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.
9. 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.
10. Хазиев Р.Ш., Насыбуллина Л.И., Макарова А.С., Мусина Л.Т. Количественное определение производных гиперфорина в траве зверобоя продырявленного // Химия растительного сырья. 2013. № 4. С. 121–125.
11. ТР ТС 021/2011. О безопасности пищевой продукции [Электронный ресурс] // Евразийская экономическая комиссия URL: <http://www.eurasiancommission.org/ru/act/techreg/deptexreg/tr/Documents/trtspishevayaprod.pdf>. (дата обращения 30.10.2017).
12. МР 2.3.1.19150-04. Рациональное питание. Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ [Электронный ресурс] // Консалтфарма. URL: <http://www.consultpharma.ru/index.php/ru/documents/fs/615-mr2-3-1-19150-04?showall=1> (дата обращения 30.10.2017).
13. Рудометова Н.В., Никифорова Т.А., Ким И.С. Исследование экстракции гиперидина из зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.) // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». 2016. № 4. С. 32–39.
14. 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.
15. Рудометова Н.В. Контроль потенциально опасных биологически активных веществ в растительном сырье // Молочная промышленность. 2015. № 1. С. 54–56.
16. 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.
17. 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.
18. Hamed V., 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.
19. Ломовский И. О., Ломовский О. И. Композиция на основе зверобоя, включающая соединения диантронового ряда, и способ ее получения: пат. 2436586 Российская Федерация. 2011. Бюл. № 35. 12 с.
20. Пунегов В.В., Костромин В.И., Фомина М.Г., Зайнуллин В.Г., Юшкова Е.А., Белых Д.В., Чукичева И.Ю., Зайнуллин Г.Г. Экстрагирование гиперидина и псевдогиперидина из зверобоя продырявленного в условиях микроволновой активации процесса // Химия растительного сырья. 2014. № 1. С. 125–130.
21. Yamaner Omer, Bengi Erdag, Cengiz Gokbulut. Stimulation of the production of hypericins in in vitro seedlings of *Hypericum adenotrichum* by some biotic elicitors. *Turkish Journal of Botany*. 2012, no. 37, pp. 153–159.
22. Karioti A., Bilia A.R. Hypericins as potential leads for new therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*. 2010, no. 11, pp. 562–594.
23. Рудометова Н.В. Контроль потенциально опасных биологически активных веществ для обеспечения безопасности хлебобулочных изделий // Материалы научно-практич. конф. «Усиление конкурентного потенциала пищевых предприятий путем развития эффективных биотехнологий» (Санкт-Петербург, 15–16 сентября 2016 г.). М.: Изд-во Буки веда. 2016. С. 107–111.

References

1. 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.
2. Tutel'yan V.A., Sukhanov B.P. Biologicheski aktivnyye dobavki k pishche: sovremennyye podkhody k obespecheniyu kachestva i bezopasnosti [Biologically active food additives: modern approaches to quality and safety]. *Problems of Nutrition*. 2008, V.77, no. 4, pp. 4–15.
 3. Zveroboya trava (Hyperici herba). *Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossijskoj Federacii XIII izdanie* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIII edition]. Moscow, 2015. V. 3, 1292 p.
 4. *Rukovodstvo po metodam kontrolya kachestva i bezopasnosti biologicheskikh aktivnykh dobavok k pishche* [The guide to methods of quality control and safety of dietary supplements to food]. Moscow, Federal'nyi tsentr Gossanepidnadzora Minzdrava Rossii Publ., 2004, 240 p.
 5. Kovalenko N.A., Supichenko G.N., Leont'ev V.N., Stasevich O.V. Elektronnyye 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.
 6. Lozhkin A. V., Sakanyan E. I. Prirodnye kumariny: metody vydeleniya i analiza (obzor) [Natural coumarins: methods of isolation and analysis (review)]. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. V.40, no. 6, 2006, pp. 47–55.
 7. TR TS 029/2012. Trebovaniya bezopasnosti pishchevykh dobavok, aromatizatorov i tekhnologicheskikh vspomogatel'nykh sredstv [Safety requirements for food additives, flavorings and processing aids]. *Eurasian Economic Commision*. URL: [http:// www.eurasiancommission.org/ru/act/textreg/deptexreg/tr/documents/p_58.pdf](http://www.eurasiancommission.org/ru/act/textreg/deptexreg/tr/documents/p_58.pdf). (Accessed 30.10.2017).
 8. 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.
 9. Milevskaya V.V., Statkus M.A., Temerdashev Z.A., Kiseleva N.V., Vernikovskaya N.A. Sposoby ekstragirovaniya biologicheskikh 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.
 10. Khaziev R.Sh., Nasybullina L.I., Makarova A.S., Musina L.T. Kolichestvennoe opredelenie proizvodnykh giperforina v trave zveroboya prodyryavlennogo [Quantitative determination of hyperforin derivatives in the St. John's wort of perforated]. *Crop production chemistry*. 2013, no. 4, pp. 121–125.
 11. TR TS 021/2011. O bezopasnosti pishchevoi produktsii [About food safety]. *Eurasian Economic Commision*. URL: <http://www.eurasiancommission.org/ru/act/textreg/deptexreg/tr/Documents/trtspishevayaprod.pdf>. (Accessed 30.10.2017).
 12. MR 2.3.1.19150-04. Ratsional'noe pitanie. Rekomenduemye urovni potrebleniya pishchevykh i biologicheskikh aktivnykh veshchestv [Methodical recommendations 2.3.1.19150-04, Balanced diet. The recommended levels of consumption of food and biologically active agents]. *Konsaltfarma*. URL: <http://www.consultpharma.ru/index.php/ru/documents/fs/615-mr2-3-1-19150-04> (Accessed 30.10.2017).
 13. Rudometova N. V., Nikiforova T. A., Kim I. S. Issledovanie ekstraktsii giperitsina iz zveroboya pro-dyryavlennogo (Hypericum perforatum L.) [Extraction of hypericin from St. John's Wort (Hypericum perforatum L.)]. *Scientific journal NIU ITMO. Series. Processes and Food Production Equipment*. 2016, no. 4, pp. 32–39.
 14. Rudometova N.V. Instrumental'nye metody kontrolya biologicheskikh 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.
 15. Rudometova N.V. Kontrol' potentsial'no opasnykh biologicheskikh 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.
 16. 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.
 17. Milevskaya V.V., Statkus M.A., Temerdashev Z.A. Sposob ekstraktsii biologicheskikh 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.

18. 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.
19. Lomovskii I.O., Lomovskii O.I. *Kompozitsiya na osnove zverboya, vklyuchayushchaya soedineniya diantronovogo ryada, i sposob ee polucheniya* [St John's wort composition containing compounds of dianthrone series, and method for preparation it]. Patent RF, no. 2436586. 2011.
20. Punegov V.V., Kostromin V.I., Fomina M.G., Zainullin V.G., Yushkova E.A., Belykh D.V., Chukicheva I.Yu., Zainullin G.G. Ekstragirovanie giperitsina i psevdogiperitsina iz zverboya prodyryavlennogo v usloviyakh mikrovolnvoi aktivatsii protsessa. [Extraction of hypericin and pseudohypericin of *Hypericum perforatum* in microwave activation process]. *Crop production chemistry*. 2014, no. 1, pp. 125–130.
21. Yamaner Omer, Bengi Erdag, Cengiz Gokbulut. Stimulation of the production of hypericins in in vitro seedlings of *Hypericum adenotrichum* by some biotic elicitors. *Turkish Journal of Botany*. 2012, no. 37, pp. 153–159.
22. Karioti A., Bilia A.R. Hypericins as potential leads for new therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*. 2010, no. 11, pp. 562–594.
23. Rudometova N. V. Kontrol' potentsial'no opasnykh biologicheskii aktivnykh veshchestv dlya obespecheniya bezopasnosti khlebobulochnykh izdelii. [Control of potentially dangerous biologically active substances to ensure the safety of bakery products]. *Proceeding of the scientific and practical conference with international participation «Strengthening the competitive potential of food enterprises through the development of effective biotechnologies»* (St. Petersburg, September 15–16, 2016). Moscow, Buki vedi Publ. 2016, pp. 107–111.

Статья поступила в редакцию 10.11.2017