

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ЭКСТРАКЦИЯ И УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ И ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ВАСИЛЬКА СИНЕГО

Е. А. Подолина¹, М. А. Ханина², О. Б. Рудаков³, А. Е. Небольсин⁴

¹Электростальский институт (филиал Московского политехнического университета г. Электросталь)

²Государственный гуманитарно-технологический университет (г. Орехово-Зуево)

³Воронежский государственный технический университет (г. Воронеж)

⁴ОАО «Партнер» г. Воронеж

Поступила в редакцию 02.03.2018 г.

Аннотация. Проведено экстрагирование биологически активных веществ из надземной части василька синего (*Centaurea cyanus L.*) с применением ультразвуковой установки, конструкция которой специально адаптирована для экстрагирования лекарственного растительного сырья. Наличие в экстрактах из надземной части василька синего флавоноидов и полифенольных соединений доказали с помощью основных аналитических реакций. Флавоноиды идентифицировали по хромофорным реакциям с хлоридом алюминия, дубильные вещества – с железо-аммонийными квасцами.

Количественное содержание БАВ в различных морфологических частях надземной части определяли с помощью УФ-спектрофотометрии. Полученные результаты определения суммы флавоноидов (в пересчете на рутин) и суммы полифенольных дубильных веществ (в пересчете на танин), выделенных с помощью ультразвуковой экстракции, сравнивали с результатами контрольного опыта, который проводили согласно методике, описанной в фармакопейной статье.

Установлено, что применение ультразвукового излучения, работающего на частоте 22-23 кГц, позволяет увеличить выход БАВ из различных морфологических частей надземной части василька синего. Например, из надземной части выход флавоноидов увеличивается от 2.2% до 3.2%, а дубильных веществ от 1.6% до 2.0% соответственно.

Таким образом, применение ультразвуковой установки позволило разработать более эффективную методику ультразвуковой экстракции БАВ водно-спиртовой смесью из надземной части василька синего, чем методика, используемая в фармацевтической технологии.

Для количественного контроля извлечения БАВ из растительного сырья предложена УФ-спектрофотометрическая методика, для которой относительная погрешность измерения суммарного содержания флавоноидов и дубильных веществ не превышает 5% при доверительной вероятности 0.95. Отсутствие систематической погрешности установлено с помощью метода добавок ГСО рутина и танина. Правильность методики количественного определения сумм флавоноидов и дубильных веществ определена методом «введено-найдено».

На основании полученных экспериментальных данных показано, что все морфологические части растения содержат флавоноиды и дубильные вещества в количествах, позволяющих использовать в качестве сырья не только краевые цветки, но и всю надземную часть василька синего.

Ключевые слова: василек синий, флавоноиды, дубильные вещества, рутин, танин, ультразвуковая экстракция, УФ-спектрофотометрия.

Василек синий (*Centaurea cyanus L.*) - однолетнее травянистое растение семейства сложноцветные (*Asteraceae*). Широко распространён на территории России. Василек синий в медицине применяется как мягкое мочегонное и желчегонное средство [1]. Биологическая активность препаратов василь-

ка синего обусловлена комплексом БАВ, содержащихся в растении [2-8]. Сырьевой частью растения являются краевые воронковидные цветки, а вся надземная часть растения (превосходящая цветки по массе в сотни раз) не находит применения. С точки зрения рационального использования растительных ресурсов актуальным является комплексное фармакогностическое исследование

надземной части растения с целью установления возможности использования ее в медицине.

БАВ из растительного сырья извлекают различными методами экстракции [9], эффективность которых зависит от многих факторов [10]. Для достижения максимального выхода БАВ из лекарственного растительного сырья в фазу экстрагента, при условии сохранения ими своей нативной структуры, необходим индивидуальный подбор оптимальных условий экстрагирования.

Извлечение БАВ из сухого растительного сырья сопряжено с рядом трудностей, так, например, часть веществ находится в протопласте клетки внутри нее, а часть – в клеточных стенках. В связи с этим при экстрагировании БАВ из растительного сырья важно, чтобы экстрагент не только проникал в поры и растворял БАВ внутри клеток, но и экстрагировал их из клеточной стенки. Повысить выход БАВ из растительного сырья в экстрагент можно, увеличивая степень измельченности растительного сырья [11] или внешним воздействием, например, ультразвуком [12].

Целью настоящего исследования является усовершенствование методики извлечения БАВ водно-спиртовой смесью из надземной части василька синего с применением ультразвуковой установки (УЗУ) и разработка экспрессной методики контроля процесса экстракции с применением УФ-спектрофотометрии.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования являлась вся надземная часть и морфологические части василька синего (листья, стебли и цветки), выращенного на опытных участках «Лаборатории по выращиванию лекарственных растений ГГТУ» (г. Орехово-Зуево, 2016 г). Надземная часть растения собрана в фазу цветения, использовалась естественная сушка.

Реактивы: спирт этиловый раствор для приготовления лекарственных форм, 95 % (ПХФК ОАО «Медхимпром»), в качестве экстрагента применяли бинарную смесь: вода – этанол (объемная доля этанола 0.47) [13]; для контроля концентрации экстрагируемых веществ использовали ГСО рутина и танина.

Оборудование: ультразвуковую экстракцию осуществляли на экспериментальной ультразвуковой установке, созданной на базе научно-исследовательской лаборатории конструкторского бюро МКС (фирмы ОАО «Партнер») г. Воронеж [14], и конструкция которой была специально

адаптирована для экстрагирования лекарственного сырья [15].

Особенностью, данной УЗУ является:

- излучатель погружной «грибкового» типа, работающий на частоте ультразвука 22-23 кГц, помещается в исследуемый раствор на глубину 3 см, образующаяся УЗ-волна равномерно направлена сверху вниз;

- исследуемый образец лекарственного растительного сырья и экстрагент помещается в стакан или колбу вместимостью 500 см³;

- температура УЗ-извлечения определяется погружной термопарой;

- блок автоматической системы управления работы установки задает и поддерживает температуру экстрагирования и время эксперимента.

УФ-спектры для количественного определения БАВ регистрировали на спектрофотометре UNICO, модель 2800. Наличие дубильных веществ и флавоноидов в надземной части василька синего доказали с помощью основных аналитических реакций [16]: дубильные вещества определяли по реакции с железом-аммонийными квасцами, а флавоноиды – по реакции с хлоридом алюминия (III).

Для получения экстрактов использовали высушенное сырье с влажностью 6.9-7.0 % и измельченное по методике, описанной в [17]. Полученные фракции василька синего просеивали на ситах с определенным диаметром отверстий, так листья и цветки василька синего не должны превышать 3-5 мм, а стебли 1-3 мм.

Соотношение количества сырья и объем экстрагента взяты из материалов ФС [18] в контрольном опыте 1 г сырья и 100 см³ экстрагента, для УЗ извлечения, с учетом особенности конструкции УЗУ, масса сырья и объем экстрагента увеличены в 3 раза (3 г сырья и 300 см³ экстрагента).

Экспериментальным путем было установлено время проведения экстракции на УЗУ данной конструкции, максимальный выход извлекаемых БАВ соответствует 18 мин при дальнейшей обработке ультразвуком количество БАВ снижается [15].

Навеску различных фракций растительного сырья массой (~3.0 г, взвешенной с точностью ±0.0002 г) помещали в стакан, вместимостью 500 см³, ультразвуковой установки, и добавляли 300 см³ бинарной смеси вода – этанол и экстрагировали в течение 18 минут при рабочей частоте ультразвука 22-23 кГц. Полученный экстракт фильтровали через фильтр и измеряли объем полученного извлечения.

Параллельно проводили контрольный опыт [18]: навеску сырья (~1.0 г, взвешенной с точностью ± 0.0002 г) морфологических частей травы василька синего помещали в плоскодонную колбу, приливали экстрагент (водно-спиртовую смесь) присоединяли к воздушному холодильнику и помещали в водяную баню, выдерживали в течение 30 мин при кипении экстрагента при периодическом перемешивании, полученное извлечение фильтровали. Экстракцию образцов сырья повторяли дважды в тех же условиях, фильтраты объединяли, охлаждали до комнатной температуры и измеряли объем полученного извлечения.

Для качественной идентификации и количественного определения содержания сумм флавоноидов и дубильных веществ использовали метод УФ-спектрофотометрии [19, 20]. В качестве стандартных образцов использовали ГСО танина и рутина, для которых регистрировали электронные спектры поглощения в УФ-области (рис. 1 а, б) и построены калибровочные графики (рис. 2 а, б). Получены уравнения калибровочных графиков: для танина: $A=407.84 \times C$; для рутина: $A=216.54 \times C$.

Оптическую плотность полученных аликвот измеряли в кварцевых кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см, раствор сравнения – бинарная смесь вода – этанол. Для танинов в качестве аналитической длины использован максимум поглощения при 275 нм, (рис. 1, а), а для флавоноидов - максимум поглощения рутина при 361 нм (рис. 1, б).

Для выбранных ГСО соблюдалась линейная

зависимость между концентрацией рутина (или танина) и оптической плотности (А) без свободного члена в соответствии с законом Бугера – Ламберта – Бера в интервале значений оптической плотности от 0.1 до 0.8 (рис.2.а, б).

Количественное содержание танина и рутина (%) в экстрактах рассчитывали по формуле:

$$x = (A \times V_{\text{изв}} \times V_{\text{разб}} \times 100) / (K \times m \times (100 - W) \times V_a)$$

где: А – оптическая плотность экстракта, $V_{\text{изв}}$ – объем извлечения, см³, $V_{\text{разб}}$ – объем разбавления, см³, К – коэффициент пересчета, рассчитанный по калибровочному графику, построенному по стандартному веществу: для танина $K_{275} = 407.84$, рутина $K_{362} = 216.54$ (рис.2 а,б); m – масса аналитической пробы сырья, г; W – потери в массе при высушивании сырья, %, V_a – объем аликвоты.

Статистическая обработка результатов химического эксперимента проводилась в соответствии ОФС 42-0111-09 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» ГФ XII изд., ч.2, с использованием критерия Стьюдента.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Положительные результаты качественных реакций (табл.1) позволяют сделать вывод о присутствии во всех фракциях василька синего (в листьях, стебле и цветках) дубильных веществ и флавоноидов.

Для исследуемых извлечений (рис.1а, б) определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин проводили в интервале 360 ± 5 нм, суммы полифенольных соединений (дубильных

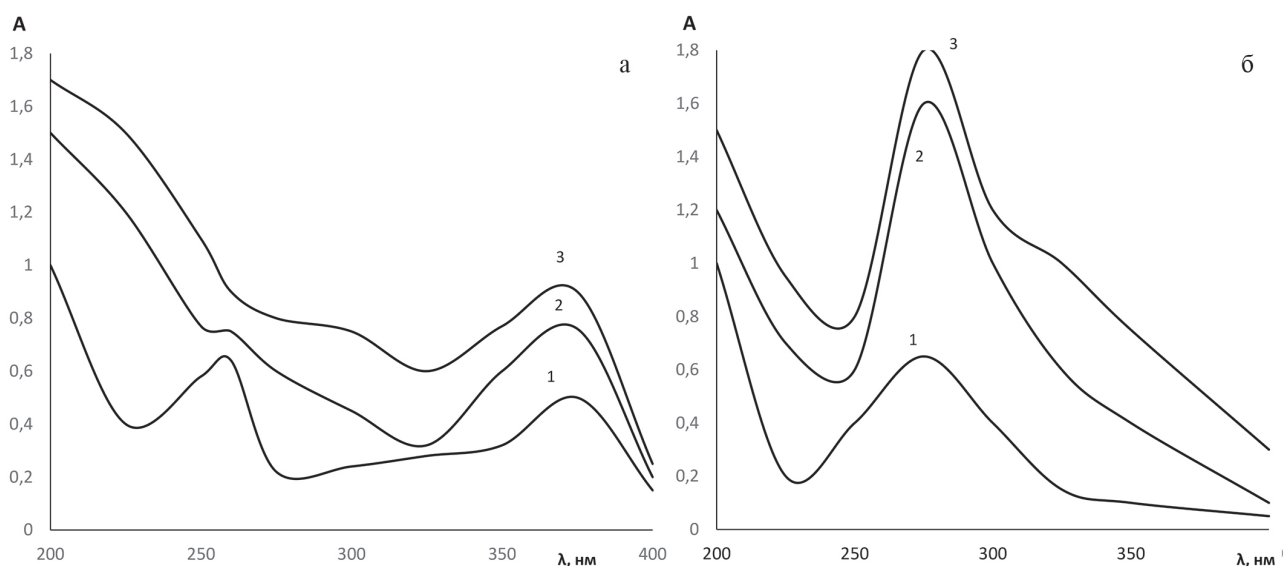


Рис. 1. УФ-спектры поглощения растворов: а) рутин (1), водно-спиртовой вытяжки травы василька (2), экстракта травы василька после ультразвуковой экстракции (3); б) танин (1) и водно-спиртовой вытяжки травы василька (2), экстракта травы василька после ультразвуковой экстракции (3)

Результаты взаимодействия различных экстрактов василька синего с хлорным железом и железо-аммонийными квасцами

№ п/п	Наименование объекта	Наблюдаемое окрашивание	
		Хлорид алюминия	Железо-аммонийные квасцы
1	Раствор рутина	Желто-зеленое	
	Раствор танина		Сине-черное
Контрольный опыт			
2	Цветков василька синего	Желто-зеленое	Сине-черное
	Листьев василька синего	Желто-зеленое	Сине-черное
	Стеблей василька синего	Желто-зеленое	Сине-черное
	Надземная часть василька синего	Желто-зеленое	Сине-черное
УЗ-извлечение			
3	Цветков василька синего	Желто-зеленое	Сине-черное
	Листьев василька синего	Желто-зеленое	Сине-черное
	Стеблей василька синего	Желто-зеленое	Сине-черное
	Надземная часть василька синего	Желто-зеленое	Сине-черное

веществ) в пересчете на танин - в области 270 ± 5 нм (табл.2).

Для расчета метрологических характеристик предлагаемой методики извлечения БАВ из надземной части василька синего на УЗУ и контрольного опыта, в одном и том же образце сырья было проведено при 5-кратной повторяемости (табл.2,3).

При этом значение относительной погрешности измерения не превышало и для контрольного опыта, и для извлечения на ультразвуковой установке 5.0 % при доверительной вероятности 0.95.

Отсутствие систематической погрешности было доказано с применением метода добавок ГСО рутина и танина в исследуемые извлечения из образцов надземной части василька синего (табл.4,5).

Изучение содержания флавоноидов и дубильных веществ в различных органах надземной ча-

сти василька синего, собранного в фазе цветения, показало, что максимальное содержание БАВ наблюдается в листьях василька синего (дубильных веществ 2.14 ± 0.15 %, флавоноидов 4.14 ± 0.13 %) и несколько ниже – в других органах надземной части василька синего.

При использовании ультразвука получены извлечения из надземной части василька синего, содержащие в среднем в 1.5 раза больше БАВ, чем в контрольном опыте. По всей видимости, это связано с тем, что ультразвук создает в экстрагенте акустическую кавитацию, которая способствует более интенсивному перемешиванию (диффузии) сырья и экстрагента, интенсификации массообменных процессов, улучшению проникновения бинарного растворителя в поры растительного сырья и вымыванию БАВ из стенок растительных клеток.

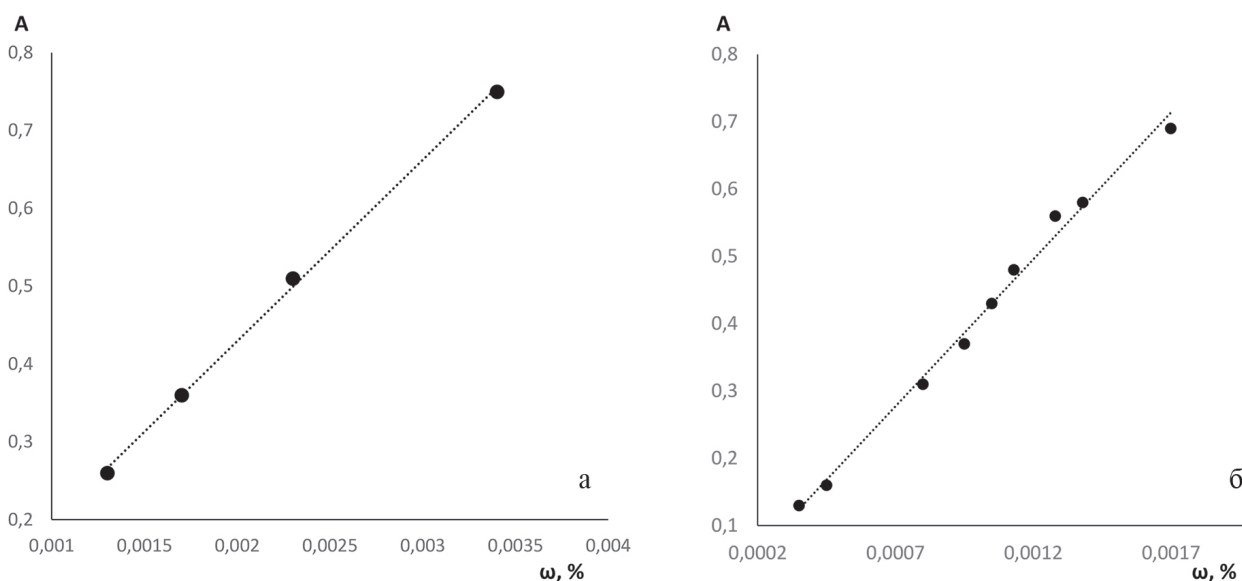


Рис. 2. Калибровочные графики стандартных образцов: рутина (а), танина (б).

Таблица 2.

Содержание суммы флавоноидов и дубильных веществ в извлечениях из василька синего ($n=5$, $P=0.95$)

№ п/п	Наименование извлечения	Содержание, %	
		флавоноидов в пересчете на рутин	дубильных веществ в пересчете на танин
Контрольный опыт			
1	Цветков василька синего	2.94 ± 0.13	1.48 ± 0.08
	Листьев василька синего	3.12 ± 0.15	1.78 ± 0.07
	Стеблей василька синего	1.84 ± 0.08	0.78 ± 0.06
	Надземная часть василька синего	2.18 ± 0.08	1.62 ± 0.08
Ультразвуковое извлечение			
2	Цветков василька синего	3.72 ± 0.09	1.72 ± 0.09
	Листьев василька синего	4.14 ± 0.13	2.14 ± 0.10
	Стеблей василька синего	2.20 ± 0.14	1.04 ± 0.08
	Надземная часть василька синего	3.22 ± 0.10	2.02 ± 0.09

Таблица 3.

Метрологические характеристики методики извлечения на ультразвуковой установке и спектрофотометрического определения содержания флавоноидов и дубильных веществ в наземной части василька синего и контрольного опыта.

Содержание определяемых веществ	X_{cp}	S^2	S	P	$t(P, f)$	ΔX	$\varepsilon, \%$
Контрольный опыт							
флавоноиды	2.18	0.007	0.083	0.95	2.57	0.08	3.67
дубильные вещества	1.62	0.004	0.061	0.95	2.57	0.08	4.93
Ультразвуковое извлечение							
флавоноиды	3.22	0.007	0.083	0.95	2.57	0.10	3.1
дубильные вещества	2.02	0.007	0.083	0.95	2.57	0.09	4.5

Таблица 4.

Определение правильности разработанной методики извлечения на ультразвуковой установке флавоноидов и контрольного опыта способом «введено-найденно»

Содержание флавоноидов в аликвоте 1 мл, мг	Введено рутина, мг	Теоретическое содержание флавоноидов, мг	Найдено флавоноидов, мг	Ошибка определения	
				абс., мг	отн., %
Контрольный опыт					
0.218	0.2	0.418	0.400	0.018	4.31
0.217	0.4	0.617	0.590	0.027	4.38
0.219	0.6	0.819	0.800	0.019	2.32
Ультразвуковое извлечение					
0.322	0.2	0.522	0.530	0.008	1.53
0.321	0.4	0.721	0.730	0.009	1.25
0.323	0.6	0.923	0.910	0.013	1.41

Таблица 5.

Определение правильности разработанной методики извлечения на ультразвуковой установке дубильных веществ и контрольного опыта способом «введено-найденно»

Содержание дубильных веществ в аликвоте 1 мл, мг	Введено танина, мг	Теоретическое содержание дубильных веществ, мг	Найдено дубильных веществ, мг	Ошибка определения	
				абс., мг	отн., %
Контрольный опыт					
0.162	0.2	0.362	0.355	0.007	1.93
0.161	0.4	0.561	0.571	0.01	1.78
0.163	0.6	0.763	0.776	0.013	1.7
Ультразвуковое извлечение					
0.202	0.2	0.402	0.412	0.01	2.48
0.199	0.4	0.599	0.587	0.012	2.0
0.205	0.6	0.805	0.795	0.01	1.24

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что в надземной части василька синего в пересчете на рутин содержится не менее 4 % флавоноидов и не менее 2 % дубильных веществ в пересчете на танин. Таким образом, проведенные исследования показали достаточно большое содержание флавоноидов и дубильных веществ не только в цветках, но и в надземной части василька синего, что позволяет дать рекомендацию к сбору всей надземной части василька синего в фазе массового цветения. Для повышения эффективности экстракционного извлечения БАВ целесообразно применение ультразвуковой установки.

Для качественного и количественного контроля в цеховых лабораториях содержания БАВ в водно-спиртовых экстрактах, полученных из различных фракций надземной части василька синего предложена методика УФ-спектрофотометрического определения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кони́чев А.С., Баури́н П.В., Фе́доровский Н.Н., Мара́хова А.И., Яку́бович Л.М., Черни́кова М.А. // Вестник МГОУ. Серия «Естественные науки». 2011, №3. С.49-54.
2. Cao S. // Eur. Food Res. Technol. 2009. Vol. 228. P. 975–983.
3. Hernandez N.E., Tereschuk M.L., Abdala L.R. // J. Ethnopharmacol. 2000. V. 73, N 1, 2. P. 317–322.
4. Hollman P.C.H., Feskens E.J.M., Katan M.B. // Proceed. Soc. Exp. Biol. Med. 1999. V. 220, N 4. P. 198–202.
5. Rice-Evans C.A., Miller N.J. // Biochem. Soc. Trans. 1996. V. 24, N 3. P. 790–795.
7. Tijburg L.B.M., Mattern T., Folts J.D., Weisgerber U.M., Katan M.B. // Crit. Rev. in Food Sci. Nutrit. 1997. V. 37, N 8. P. 771–785.
8. Zhu N., Sheng Sh., Li D., Lavoie E.J., Karwe M.V., Rosen R.T., Ho Ch. // J. Food Lipids. 2001. V. 8, N 1. P. 37–44.
9. Гончаренко Г.К., Орлова Е.И. // Мед. пром. СССР, 1968, №6. С.45-46.
10. Федорова А.А. Растительные ресурсы СССР: цветковые растения, их химический состав, использование; семейства Asteraceae. СПб, Наука, 1993. – С.326.
11. Кондратов А.В., Соловьев Н.А., Дашковецкая А.В. // Научный журнал НИУ ИТМО Серия «Процессы и аппараты пищевых производств», 2015. № 1. С.86-95.
12. Молчанов Г.И. Ультразвук в фармации. Москва, Медицина, 1980, 176 с.
13. Рудаков О.Б., Подолина Е.А., Рудакова Л.В. / Сорбционные хроматографические процессы. 2009. Т.9, вып. 2. С. 177-190.
14. Родионова Н.С., Мануковская М.В., Небольсин А.Е., Серченя М.В. // Вестник ВГУИТ, №2, 2016. С.162-169
15. Жучков А.В., Черенкова Е.В., Шабанов И.Е., Каделин С.С. // Материалы XLIII отчетной научной конференции за 2004 год: в 3 ч. / Воронеж. гос. технол. акад. Воронеж, 2005. Ч.2. С.132.
16. Химический анализ лекарственных растений/ Под ред. Гринкевич Н.И., Сафронич Л.Н. Учебное пособие. М.: Высшая школа, 1983, 6 с.
17. Кузнецов М.Г., Хусаенов Р.И. Измельчение растительного сырья. Казань: КГАУ. 2012. 80 с.
18. Государственная Фармакопея XIII изд.– Том 1,2 и 3 Москва, Медицина, 2015.
19. Meléndez-Hevia E., Waddell T., Cascante M. // J Mol E. vol.1996. 43 (3). P. 293 – 303.
20. Lien E.J., Ren S., Bui H.H., Wang R. // Free Radic. Biol. Med. 1999. Vol. 26. P. 285-294.

Электростальский институт (филиал Московского политехнического университета)

Подолина Е. А., д. хим. н., доцент, профессор кафедры безопасности и здоровья

Тел.: +7 (49657) 4-40-42

E-mail: podolina70@mail.ru

Государственный гуманитарно-технологический университет

Ханина М. А., д. фарм.н., профессор, заведующий кафедрой химии

e-mail: khanina06@mail.ru

Elektrostal Institute (Branch of the Moscow Polytechnic University)

Podolina E. A., PhD, DSci, associate professor, Dept. of the Health and Security

E-mail: podolina70@mail.ru

Humanity-Technological State University Khanina M. A., PhD, DSci, professor and the Head of the Chemistry Chair, Doctor of the Pharmaceuticals Sciences

e-mail: khanina06@mail.ru

Подолina Е. А., Ханина М. А., Рудаков О. Б., Небольсин А. Е.

Воронежский государственный технический университет

Рудаков О. Б., заведующий кафедрой химии и химической технологии материалов, д. хим.н., профессор

E-mail: robi57@mail.ru

ОАО «Партнер»

Небольсин А. Е., ведущий конструктор

E-mail: mks36@mail.ru

Voronezh State Technical University

Rudakov O. B., PhD, DSci, Professor and the Head of the Chemistry and Chemical Technology of the Materials dept.

E-mail: robi57@mail.ru

JSC «Partner»

Nebolsin A. E., Lead Designer

E-mail: mks36@mail.ru

ULTRASONIC EXTRACTION AND UV SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF THE AMOUNT OF FLAVONOIDS AND TANNING AGENTS IN THE ABOVE-GROUND PART OF A BLUEBOTTLE

E.A. Podolina¹, M.A. Khanina², O.B. Rudakov³, A.E. Nebolsin⁴

¹*Elektrostal Institute (branch of the Moscow polytechnic university, Elektrostal)*

²*State University of Humanities and Technology (Orekhovo-Zuyevo)*

³*Voronezh State Technical University (Voronezh)*

⁴*JSC «Partner» (Voronezh)*

Abstract. Extraction of biologically active substances (BAS) from the above-ground part of a bluebottle (*Centaureacyanus* L.) has been carried out on an ultrasonic unit, the design of which has been specially adapted for the extraction of a medicinal plant raw materials. The presence of flavonoids and polyphenolic compounds in the extracts of above-ground part of the bluebottle was demonstrated with the help of basic analytical reactions. Flavonoids were identified by chromophoric reactions with aluminium chloride, tanning agents - with iron ammonium quartz.

The quantitative content of biologically active substances in different morphological parts of the above-ground part was determined using UV spectrophotometry. The obtained results of determining the amount of flavonoids (in terms of routine) and the amount of polyphenol tanning agents (in terms of tannin) isolated by ultrasonic extraction were compared with the results of the control experiment, which was carried out according to the method d It was proved that the use of ultrasonic radiation operating at a certain operating frequency 22-23 kHz allows to increase the yield of BAS from various morphological parts of the above-ground part of the bluebottle. For example, from the above-ground part the yield of flavonoids and tanning agents increase from 2.2% to 3.2%, and tanning agents from 1.6% to 2.0 % respectively.

Thus, the use of an ultrasonic unit allowed to develop a more effective method of ultrasonic extraction of BAS with a water-alcohol mixture from the above-ground part of the bluebottle than the method used in pharmaceutical technology.

For quantitative control of BAS extraction from plant raw materials there was offered the UV-spectrophotometric technique for which the relative error of measurement of the total content of flavonoids and tanning agents does not exceed 5% with confidence probability 0,95. The absence of systematic error was established by the state standard method of adding routine and tannin. The correctness of the method of quantitative determination of the amount of flavonoids and tanning agents was determined by the method of "introduced-found".

On the basis of the obtained experimental data it is shown that all morphological parts of the plant contain flavonoids and tanning agents in quantities allowing to use as raw materials not only the marginal flowers, but the entire epigeal portion of the bluebottle.

Keywords: bluebottle, flavonoids, tanning agents, routine, tannin, ultrasonic extraction, UV spectrophotometry

REFERENCES

1. Konichev A.S., Baurin P.V., Fedorovskij N.N., Marahova A.I., Yakubovich L.M., Chernikova M.A. //MGOU bulletin. Series „Natural sciences“. 2011, No.3. pp. 49-54.
2. Cao S. // Eur. Food Res. Technol. 2009. Vol. 228. P. 975–983.
3. Hernandez N.E., Tereschuk M.L., Abdala L.R. // J. Ethnopharmacol. 2000. V. 73, N 1, 2. P. 317–322.
4. Hollman P.C.H., Feskens E.J.M., Katan M.B. // Proceed. Soc. Exp. Biol. Med. 1999. V. 220, N 4.P. 198–202.
5. Rice-Evans C.A., Miller N.J. // Biochem. Soc. Trans. 1996. V. 24, N 3. P. 790–795.
7. Tijburg L.B.M., Mattern T., Folts J.D., Weisgerber U.M., Katan M.B. // Crit. Rev. in Food Sci. Nutrit. 1997. V. 37, N 8. P. 771–785.
8. Zhu N., Sheng Sh., Li D., Lavoie E.J., Karwe M.V., Rosen R.T., Ho Ch. // J. Food Lipids. 2001. V.8, N 1. P. 37–44.
9. Goncharenko G.K., Orlova E.I. // Medical industry of the USSR, 1968, No.6. -pp.45-46.
10. Yu.Fedorova A.A. Plant resources of the USSR: flowering plants, their chemical composition, use; Asteraceae family. - St. Petersburg: Science, 1993. P.326.
11. Kondratov A. V., Soloviev N.A., Dashkovetskaya A. V. // Scientific journal NIU ITMO Series "Processes and devices of food manufactures", 2015. No. 1. pp. 86-95.
12. Molchanov G. I. Ultrasound in pharmacy. Moscow, Medicine, 1980. P. 176.
13. Rudakov O.B., Podolina E. A., Rudakova L. V// Sorption chromatographic processes. 2009. Vol. 9, ed. 2. pp. 177-190.
14. Rodionova N.S., Manukovkaya M.V., Nebolsin A.E., Serchenya M.V. // Bulletin of UGUET, No. 2, 2016. pp. 162-169
15. Zhuchkov A.V., Cherenkova E. V., Shabanov I. E., Kadelin S. S. // Materials of the XLIII scientific accounting conference, 2004: in the 3d p. / Voronezh, state tekhnol. Acad. Voronezh, 2005. Part 2. P. 132.
16. Chemical analysis of medicinal plants / ed. Grinkevich N. I., Safronich L. N. Tutorial. - M.: Higher school. 1983. – P.176
17. Kuznetsov M. G., Khusaenov I. R. Grinding plant raw material. Kazan, KGAU. 2012. P. 80.
18. State Pharmacopoeia XIII ed. - Volume 1, 2 and 3. Moscow, Medicine, 2015.
19. Melendez-Hevia E, Waddell T, Cascante M. // J Mol E. vol.1996. 43(3). P. 293 - 303.
20. Lien E.J., Ren S., Bui H.H., Wang R. // Free Radic. Biol. Med. 1999. Vol. 26.P. 285-294.