

ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ МАЛОИЗУЧЕННЫХ ВИДОВ БОЯРЫШНИКА, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ В ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

^{1,2}Прибыткова Л.Н., ¹Душкин А.В.

¹ФГБУН Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, Новосибирск,
e-mail: dushkin@solid.nsc.ru;

²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет»,
Томск, e-mail: pln56@mail.ru

Препараты на основе растений боярышника оказывают антигипертензивное, кардиопротекторное, кардиотоническое, антиаритмическое, мягкое диуретическое, спазмолитическое, седативное и иное действие, что обусловлено содержанием в них комплекса биологически активных соединений. Химический состав некоторых видов боярышника, произрастающих в России, недостаточно изучен. Цель исследования заключалась в изучении химического состава и антиоксидантной активности плодов и листьев пяти малоизученных североамериканских видов боярышника, культивируемых в Западной Сибири. Объектами исследования служили листья и плоды 5 североамериканских видов боярышника: *Crataegus faxonii* Sarg. (боярышник Факсона); *Crataegus rotundifolia* Moench (боярышник круглолистный); *Crataegus flabellata* Kirchn. (боярышник вееролистный); *Crataegus submollis* Sarg. (боярышник мягковатый); *Crataegus canadensis* Sarg. (боярышник канадский), культивируемых на территории Сибири. Для изучения химического состава исследуемых объектов использовали классические и современные методы анализа: хроматографию на бумаге и в тонком слое сорбента, титриметрические методы, спектрофотометрию, высокоэффективную жидкостную хроматографию. Исследован качественный и количественный состав фенольных соединений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, идентифицированы соединения фенольной природы: кофейная и хлорогеновая кислоты, кверцетин, рутин, апигенин, кемпферол, лутеолин. Методом спектрофотометрии проведено количественное определение флавоноидов (в пересчете на кверцетин) и аскорбиновой кислоты. Проведено определение антиоксидантной активности 70%-ных этанольных экстрактов листьев и плодов изучаемых видов боярышника методом вольтамперометрии. Изучена степень влияния механического измельчения сырья на выход экстрактивных веществ. Показано, что измельчение сырья до дисперсного порошка позволяет увеличить выход экстрактивных веществ, флавоноидов, дубильных веществ, содержащихся в листьях и плодах изучаемых видов боярышника. Все экстракты показали антиоксидантную активность, близкую к стандартным антиоксидантам.

Ключевые слова: боярышник, биологически активные вещества, механохимия, антиоксидантная активность, спектрофотометрия, хроматография, вольтамперометрия

STUDY OF THE CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF POORLY STUDIES OF HAWTHORN CULTIVATED IN WESTERN SIBERIA

^{1,2}Pribytkova L.N., ¹Dushkin A.V.

¹Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, e-mail: dushkin@solid.nsc.ru;

²Siberian State Medical University, Tomsk, e-mail: pln56@mail.ru

Preparations based on hawthorn plants have antihypertensive, cardioprotective, cardiotonic, antiarrhythmic, mild diuretic, antispasmodic, sedative effects, etc., due to the content of a complex of biologically active compounds. The chemical composition of some hawthorn species growing in Russia has not been sufficiently studied. The purpose of the study was to investigate the chemical composition and antioxidant activity of the fruits and leaves of five poorly studied North American hawthorn species cultivated in Western Siberia. The objects of the study were the leaves and fruits of five North American hawthorn species: *Crataegus faxonii* Sarg. (Faxon's hawthorn); *Crataegus rotundifolia* Moench (round-leaved hawthorn); *Crataegus flabellata* Kirchn. (fan-shaped hawthorn); *Crataegus submollis* Sarg. (soft hawthorn); *Crataegus canadensis* Sarg. (Canadian hawthorn), cultivated in Siberia. Classical and modern methods of analysis were used to study the chemical composition of the objects under study: paper and thin-layer chromatography, titrimetric methods, spectrophotometry, and high-performance liquid chromatography. The qualitative and quantitative composition of phenolic compounds was studied using high-performance liquid chromatography; the following phenolic compounds were identified: caffeic and chlorogenic acids, quercetin, rutin, apigenin, kaempferol, and luteolin. Spectrophotometry was used to quantitatively determine flavonoids (in terms of quercetin) and ascorbic acid. The antioxidant activity of 70% ethanol extracts of leaves and fruits of the studied hawthorn species was determined using voltammetry. The degree of influence of mechanical grinding of raw materials on the yield of extractive substances was studied. It has been shown that grinding the raw material to a dispersed powder allows increasing the yield of extractive substances, flavonoids, tannins contained in the leaves and fruits of the studied hawthorn species. All extracts showed antioxidant activity close to standard antioxidants.

Keywords: hawthorn, biologically active substances, mechanochemistry, antioxidant activity, spectrophotometry, chromatography, voltammetry

Введение

Одним из наиболее крупных по видовому и формовому разнообразию среди древесно-кустарниковых растений является род боярышник (*Crataegus* L.) семейства Rosaceae. Представители этого рода с давних пор являлись объектами интродукции во многих ботанических садах, в том числе и в России [1, с. 120–121; 2; 3].

Препараты из растения рода боярышник (*Crataegus* L.) применяют как кардиотоническое и регулирующее кровообращение средство при сердечных, бессоннице, повышенном артериальном давлении; эти средства не кумулируются в организме, не вызывают привыкания, мягко действуют [4, 5, 6].

В Государственную фармакопею Российской Федерации XV издания (ГФ РФ XV) (ФС.2.5.0061) включено 14 видов боярышника [7], но на территории России не все эти виды обладают большой сырьевой базой. Таким образом, ввиду потребности в сырье и с целью уменьшения экологической нагрузки на официальные виды боярышника является актуальным изучение близкородственных им видов.

Изучаемые авторами виды введены в культуру Сибирским ботаническим садом Томского государственного университета в 1980-е годы. Эти североамериканские виды используют в декоративном садоводстве. Они высокостойки, засухоустойчивы, нетребовательны к почвам, декоративны в течение всего периода вегетации благодаря изящным листьям, окрашивающимся осенью в оранжево-красные тона, многочисленным белым цветкам в щитковидных соцветиях, крупным, многочисленным плодам яркой окраски, украшающим крону в течение двух месяцев. Высокая побегообразовательная способность может сохраняться до 150 лет. Эти виды боярышника являются перспективными объектами для изучения.

Одной из актуальных задач современной фармации являются поиск и исследование перспективных природных источников веществ, обладающих антирадикальной и антиоксидантной активностями [8, 9, 10]. Известно, что высокой антиоксидантной активностью обладают растительные полифенолы [11]. Поэтому антиоксидантная терапия предусматривает потребление природных антиоксидантов в определенном количестве и применение лекарственных препаратов, полученных на основе лекарственных растений.

Цель исследования: изучение химического состава и антиоксидантной активности плодов и листьев пяти малоизученных

североамериканских видов боярышника, культивируемых в Западной Сибири.

Материал и методы исследования

Объектами исследования служили североамериканские виды боярышника: *Crataegus faxonii* Sarg. листья (1), плоды (2); *Crataegus rotundifolia* Moench листья (3), плоды (4); *Crataegus flabellata* Kirchn. листья (5), плоды (6); *Crataegus submollis* Sarg. листья (7), плоды (8); плоды *Crataegus canadensis* Sarg. листья (9), плоды (10); листья *Crataegus faxonii* Sarg., а также листья (11) *Crataegus faxonii* Sarg. и (12) *Crataegus canadensis* Sarg. после механической обработки. Впервые ряд экспериментальных методов исследования был опубликован в [12] и развит авторами в настоящей статье.

Определение содержания экстрактивных веществ в образцах (1–12) проводили по методике 2, описанной в ГФ РФ XV ОФС.1.5.3.0006. [7].

Количественное определение дубильных веществ в образцах (1–12) проводили по методикам, описанным в [7, 13].

Сырье сушили методом воздушно-теновой сушки в хорошо проветриваемых помещениях при температуре 25–27 °С до остаточной влажности не более 12%, измельчали и просеивали через сито с отверстиями 2 мм. Определение влажности проводили термogrавиметрическим экспресс-методом на приборе «Элвиз-2». Измельченные высушенные на воздухе листья и плоды изучаемых 5 видов боярышника экстрагировали при комнатной температуре гексаном (трократное настаивание), высушивали на воздухе, экстрагировали 70%-ным этанолом и настаивали в течение суток. Соотношение исходное сырье: растворитель 1:10 по весу. Экстракцию проводили 5 раз. Экстракт фильтровали, после чего объединенные вытяжки концентрировали выпариванием растворителя на водяной бане в вакууме досуха. Получены густые экстракты образцов (1–12).

Предварительное изучение качественного состава полученных экстрактов проводили методом двумерной бумажной хроматографии (БХ) и хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ) на хроматографической бумаге – FN-11 (ГДР), пластинах Silufol UV-254 (Чехия), Sorbfil ПТСХ АФ–А–УФ. Двумерное хроматографирование осуществляли в системах растворителей: I – н-бутиловый спирт: кислота уксусная: вода (4:1:2) / 15%-ная кислота уксусная; для ТСХ использовали систему II – хлороформ: этанол (2:1). В качестве стандартных веществ брали спиртовые растворы кофейной и хлорогеновой кислот, кверцетина, рутина, апигенина, кемпферола, лютеолина.

Детектирование зон адсорбции флавоноидов и фенолкарбоновых кислот проводили в видимом и УФ-свете до и после обработки парами аммиака, 2%-ным спиртовым раствором алюминия хлорида.

Количественное определение суммы флавоноидов в образцах (1–12) проводили на спектрофотометре «Uvicon» 943 с использованием метода, основанного на реакции комплексообразования с алюминия хлоридом в пересчете на кверцетин.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на кверцетин и абсолютно сухое сырье в процентах вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{764,6 \cdot m \cdot 1 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность исследуемого раствора; 764,6 – удельный показатель поглощения комплекса кверцетина с алюминия хлоридом при $\lambda_{\max}$ 430 нм; m – масса сырья, г; W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Для определения количественного содержания кислоты аскорбиновой применен разностный метод, основанный на возможности устранения поглощения кислоты аскорбиновой путем ее окисления в присутствии меди сульфата [9]. Анализ проводили на спектрофотометре «Uvicon» 943 при температуре +20°C в кюветах толщиной 1 см на длине волны 220 нм относительно оптической плотности калибровочных образцов (0,001 до 0,01 г/л). Для анализа 0,1 г сухого экстракта растворяли в 25 мл 70%-ного этанола, одну из двух одинаковых порций раствора обрабатывали небольшим количеством натрия сульфата для стабилизации кислоты аскорбиновой. К другой порции добавляли меди сульфат (≈5 г на 1 л), который катализирует окисление кислоты аскорбиновой.

Механическую обработку порошка образцов (1) и (9) проводили в планетарно-центробежной мельнице АГО–2: ускорение – 60 g; объем барабана – 35 см²; загрузка шаров диаметром 5 мм – 75 г, загрузка обрабатываемого материала – 2,5 г.

Определение антиоксидантной активности образцов (1–12) проводили на приборе

ТА–2 с трехэлектродной ячейкой (рабочий электрод – ртутно-пленочный, сравнения и вспомогательный – хлорсеребряные). В качестве фоновой электролита использовали фосфатный буфер pH = 6,86 (10 мл).

Анализ флавоноидов проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на приборе «Agilent 1100 series LC/MSD». Детектирование осуществляли УФ-детектором при длинах волн: 255 нм, 370 нм и 440 нм. Идентификацию веществ проводили путем сравнения их времени удерживания с таковыми для индивидуальных веществ.

Результаты исследования и их обсуждение

Содержание экстрактивных веществ вычисляли в процентах (X%) в пересчете на абсолютно сухое сырье, полученные результаты представлены в таблице 1.

Наибольший выход экстрактивных веществ в листьях наблюдали в образцах (1), (3), (9); в плодах – в образцах (4) и (10), но он ниже, чем в листьях, примерно в 1,7 раза. В образцах (11) и (12), полученных в результате механической обработки образцов (1) (листья боярышника Факсона), и (9) (листья боярышника канадского) выход экстрактивных веществ выше, чем в исходных образцах, примерно в 1,2 раза.

Методом БХ и специфическими реакциями в образцах (1–12) установлено наличие флавоноидов, фенолокислот, кумаринов, дубильных веществ. Результаты качественных реакций показали присутствие в листьях конденсированных дубильных веществ в образцах (7), (9), (12), в остальных образцах преобладают гидролизующие дубильные вещества. В плодах обнаружены только гидролизующие дубильные вещества. Количественное определение дубильных веществ в образцах (1–12) проводили двумя методами: перманганатометрии (в пересчете на танин) и перманганатометрии в сочетании с осаждением дубильных веществ желатином. За окончательный результат принимали среднее значение 5 последовательных определений, результаты представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 1

Содержание экстрактивных веществ в образцах (1–12)

1	3	5	7	9	11	12
41,35%	35,87%	30,47%	33,36%	35,96%	47,07%	38,72%
2	4	6	8	10		
19,00%	21,00%	19,51%	19,92%	20,80%	–	–

Примечание: составлено авторами.

Таблица 2

Результаты определения содержания дубильных веществ в образцах (1–12), полученных методом перманганатометрии (в пересчете на танин)

1	3	5	7	9	11	12
34,41%	24,76%	16,23%	24,64%	28,86%	41,64%	36,71%
2	4	6	8	10		
10,50%	16,21%	11,81%	13,73%	15,91%	–	–

Примечание: составлено авторами.

Таблица 3

Результаты определения содержания дубильных веществ в образцах (1–12), полученных методом перманганатометрии в сочетании с осаждением дубильных веществ желатином

1	3	5	7	9	11	12
2,01%	1,73%	1,21%	1,40%	1,91%	3,30%	3,00%
2	4	6	8	10		
0,91%	0,82%	1,01%	0,78%	0,99%	–	–

Примечание: составлено авторами.

Таблица 4

Содержание флавоноидов в образцах (1–12)

1	3	5	7	9	11	12
2,41%	1,90%	1,11%	0,96%	1,35%	12,27%	7,15%
2	4	6	8	10		
0,51%	0,22%	0,33%	0,25%	0,40%	–	–

Примечание: составлено авторами.

Как видно из таблиц 2 и 3, после механической обработки выход дубильных веществ повысился примерно в 1,5–1,6 раза.

В результате исследования 70%-ных этанольных экстрактов образцов (1–12) хроматографическими методами: БХ в системе I и ТСХ в системе II, ВЭЖХ (детектирование осуществляли УФ-детектором при длине волны 254 нм) – в сравнении с достоверными образцами и литературными данными во всех образцах идентифицированы: гиперозид, кверцетин, рутин, лютеолин, кемпферол, апигенин, хлорогеновая и кофейная кислоты.

Результаты количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на кверцетин приведены в таблице 4.

За конечный результат принимали среднее значение трех определений.

Данные таблицы 4 показывают, что содержание флавоноидов в листьях значительно превышает их содержание в плодах. Механохимическая обработка позволила повысить выход флавоноидов примерно

в 5 раз. Наибольшее содержание флавоноидов наблюдается в образцах под номерами (1), (3) и (5). При механохимической обработке листьев *Crataegus faxonii* Sarg и *Crataegus canadensis* Sarg (образцы 11 и 12) выход экстрактивных флавоноидов многократно увеличивается.

По сравнению с фармакопейными видами боярышника, например боярышника кроваво-красного, содержание флавоноидов в листьях боярышника Факсона выше, у остальных видов содержание примерно одинаковое (на уровне 1,5–2%). В плодах фармакопейных видов содержание флавоноидов 0,1–0,3%, в изучаемых авторами видах их содержание чуть больше (около 0,4%).

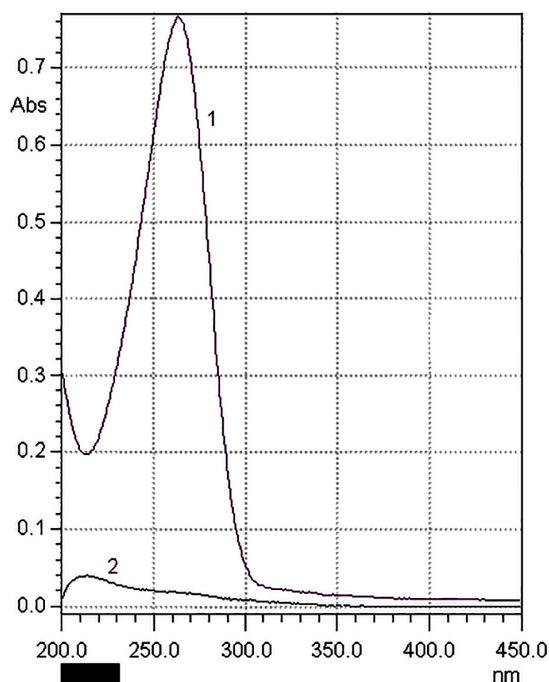
Определение аскорбиновой кислоты. Согласно литературным данным [14], в листьях и плодах боярышника содержится кислота аскорбиновая, которая является стимулятором иммунитета, сильным природным антиоксидантом. Поэтому представляло интерес изучить ее содержание в изучаемых видах боярышника.

Таблица 5

Содержание кислоты аскорбиновой в образцах (1–5)

№ образца	1	2	3	4	5
Концентрация аскорбиновой кислоты, С, г/л	0,0030	0,0028	0,0028	0,0029	0,0031

Примечание: составлено авторами.



Спектр поглощения раствора аскорбиновой кислоты – 1, спектр раствора кислоты аскорбиновой с добавлением меди сульфата – 2
Источник: составлено авторами

На рисунке приведен спектр поглощения раствора кислоты аскорбиновой до и после обработки раствором меди сульфатом. Кривая 2 на рисунке показывает поглощение раствора после устранения аскорбиновой кислоты (в результате реакции с меди сульфатом).

Содержание кислоты аскорбиновой в плодах пяти изучаемых североамериканских видах боярышника представлено в таблице 5.

Определение антиоксидантной активности проводили методом вольтамперометрии [15]. Все образцы показали достаточно высокую антиоксидантную активность по отношению к процессу восстановления кислорода, наиболее активными оказались образцы (1), (7), (9). Эти данные четко коррелируют с содержанием веществ флавоноидной структуры. Образцы (11) и (12) – экстракты, полученные из листьев, подвергну-

тых механической активации, – показали очень хорошую антиоксидантную активность по сравнению с такими стандартными антиоксидантами, как кверцетин и кислота аскорбиновая. Определено, что экстракты плодов обладают большей антиоксидантной активностью по сравнению с экстрактами листьев, поскольку содержание кислоты аскорбиновой в них значительно выше.

Заключение. Проведено исследование химического состава листьев и плодов североамериканских видов боярышника: *Crataegus faxonii* Sarg.; *Crataegus rotundifolia* Moench; *Crataegus flabellata* Kirchn.; *Crataegus submollis* Sarg.; *Crataegus canadensis* Sarg. культивируемых на территории Сибири. Получены 70%-ные этанольные экстракты методами БХ и ТСХ, специфическими реакциями установлено наличие флавоноидов, фенолокислот, кумаринов, дубильных веществ. Методом ВЭЖХ в сравнении с рабочими стандартными образцами идентифицированы: кофейная и хлорогеновая кислоты, кверцетин, рутин, апигенин, кемпферол, лютеолин. Определено содержание экстрактивных веществ в листьях (30,47–41,35%) и плодах (19,00–21,00%); фенольных соединений в листьях (16,23–34,41%), в плодах (10,50–16,21%) изучаемых объектов. Методом спектрофотометрии проведено количественное определение флавоноидов в пересчете на кверцетин и кислоту аскорбиновую, содержание флавоноидов в листьях (0,96–2,41%) выше, чем в плодах (0,22–0,51); содержание кислоты аскорбиновой определяли только в плодах ($\approx 0,03\%$). Отмечено, что механическая обработка / измельчение сырья до дисперсного порошка позволяют увеличить выход экстрактивных веществ, фенольных соединений и флавоноидов. Проведено определение антиоксидантной активности 70%-ных этанольных экстрактов плодов изучаемых видов боярышника методом вольтамперометрии. Все экстракты показали антиоксидантную активность, близкую к стандартным антиоксидантам.

Список литературы

1. Яковлева Г.П. Большой энциклопедический словарь лекарственных растений. СПб.: СпецЛит, 2015. 759 с.

URL: <https://studfile.net/preview/16369269/> (дата обращения: 10.02.2025).

2. Мазина И.Г., Харченко А.Л. Некоторые исторические аспекты интродукции представителей рода *Crataegus* L. в Никитский ботанический сад // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. 2017. Вып. 124. С. 28-38. URL: <https://boolt.nbgns.ru/vypuski-byulletenya/2017-№124/2017-№124-4/> (дата обращения: 10.02.2025).

3. Сагарадзе В.А., Бабаева Е.Ю. Ресурсы и использование растений рода *Crataegus* (Rosaceae) азиатской части России // Растительные ресурсы. 2022. Т. 58, № 1. С. 5-19. DOI: 10.31857/S0033994622010125.

4. Кароматов И.Д., Жалилов Н.А. Химический состав и лечебные свойства боярышника // Биология и интегративная медицина. 2019. № 1. С. 109-141. URL: <http://integmed.uz/files/1n2019.pdf> (дата обращения: 10.02.2025).

5. Атабаева О.Ш. Систематический обзор фармакологических эффектов действующих веществ боярышника кроваво-красного при сердечно-сосудистых заболеваниях // Сибирский научный медицинский журнал. 2023. Т. 43, № 5. С. 50-61. DOI: 10.18699/SSMJ20230505.

6. Дедов Д.В. Препарат «Кардиотон»: фармакологические свойства боярышника кроваво-красного, возможность его применения у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями // Врач. 2023. № 3. С. 78-82. URL: <https://vrachjournal.ru/ru/25877305-2023-05-14?ysclid=m802zgnm7338287988> (дата обращения: 10.02.2025).

7. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV издание. М., 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (дата обращения: 10.02.2025).

8. Куркин В.А., Порошков В.В., Куркина А.В., Авдеева Е.В., Правдивцева О.Е. Флавоноиды лекарственных растений: прогноз антиоксидантной активности // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 2. С. 1-7. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=23252> (дата обращения: 12.02.2025).

9. Тринеева О.В. Методы определения антиоксидантной активности объектов растительного и синтетического

происхождения в фармации // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. № 4. С.180-197. URL: <https://www.pharmjournal.ru/jour/article/view/515/510> (дата обращения: 10.02.2025).

10. Батуева Ю.А., Торопова А.А., Мондодоев А.Г., Шантанова Л.Н. Мембраностабилизирующее и антиоксидантное действие комплексного растительного средства «литофит» в тест-системах in vitro // Сибирский медицинский журнал. 2015. № 5. С. 122-124. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/membranostabiliziruyushee-i-antioksidantnoe-deystvie-kompleksnogo-rastitelnogo-sredstva-litofit-v-test-sistemah-in-vitro/viewer> (дата обращения: 12.02.2025).

11. Пояркова Н.М., Сапаркльчева С.Е. Физиологическая роль фенольных соединений // Аграрное образование и наука. 2019. № 4. С. 14. URL: <http://http-www.urgau.ru/ru/4-2019/32-4-2019> (дата обращения: 12.02.2025).

12. Томсон И.В. Исследование химического состава и антиоксидантной активности БАВ малоизученных видов боярышника: Материалы 68-й Всероссийской итоговой научной студенческой конференции им. Н.И. Пирогова (г. Томск, 20-22 апреля 2009 г.). Томск: Издательство Сибирского государственного медицинского университета, 2009. 214 с.

13. Разаренова К.Н., Жохова Е.В. Сравнительная оценка содержания дубильных веществ в некоторых видах рода *Geranium* L. флоры Северо-Запада // Химия растительного сырья. 2011. № 4. С. 187-192. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sravnitel'naya-otsenka-soderzhaniya-dubilnyh-veschestv-v-nekotoryh-vidah-roda-geranium-l-flory-severo-zapada/viewer> (дата обращения: 12.02.2025).

14. Скрыпник Л.Н., Мельничук И.П., Королева Ю.В. Пищевая и биологическая ценность плодов боярышника *Crataegus oxyacantha* L. // Химия растительного сырья. 2020. № 1. С. 265-275. DOI: 10.14258/jcprm.2020015452.

15. Kim D.O., Lee C.H. Comprehensive study on vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of various polyphenolics in scavenging a free radical and its structural relationship // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2007. Vol. 44. № 2. P. 253-273. DOI: 10.1080/10408690490464960.