

УДК 581.139.:582.572.7(571.14)

DOI: 10.15372/KhUR2024535

EDN: NNFEYQ

Биологически активные вещества в органах ириса щетинистого (Iridaceae)

Л. Л. СЕДЕЛЬНИКОВА, Т. А. КУКУШКИНА

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,
Новосибирск (Россия)

E-mail: lusedelnikova@yandex.ru

(Поступила 23.01.2023; после доработки 14.07.2023)

Аннотация

Представлены результаты определения содержания основных групп биологически активных веществ в цветках, листьях, корневищах ириса щетинистого (*Iris setosa*), культивируемого в условиях лесостепной зоны Новосибирской области. Определено содержание танинов, пектинов, протопектинов, катехинов, флавоноидов, каротиноидов в период сезонного развития растений. Установлено, что содержание танинов в листьях во всех фенофазах развития растений *I. setosa* в 6.3–8.5 раз выше, чем в корневищах. В период цветения флавоноидов в листьях в 29.7 раз больше, чем в корневищах, в период отцветания – в 18.1 раза, плодоношения – в 25.1 раз. Установлено одинаковое накопление катехинов (0.23–0.24 мас. %) в подземных и надземных органах в период отцветания растений. Обнаружено, что пектинов в листьях в период плодоношения в 2.4–2.7 раза больше, чем в период цветения и отцветания растений. В корневищах пектинов в 2.2–2.4 раза больше в период отцветания и плодоношения, чем цветения. Содержание каротиноидов в цветках в период цветения в 2 раза выше, чем в корневищах, но в 2.6 раза меньше, чем в листьях. Отмечено, что количественное содержание биологически активных веществ в органах *I. setosa* определяется особенностями роста и развития в течение сезонного периода.

Ключевые слова: *Iris setosa*, лист, корень, цветок, танины, пектины, протопектины, катехины, флавоноиды, каротиноиды, Новосибирская область

ВВЕДЕНИЕ

Исследование биохимического состава дикорастущих видов, культивируемых в условиях лесостепной зоны Западной Сибири, позволяет выявить особенности накопления биологически активных веществ (БАВ) в органах растений. К таким растениям принадлежат большинство видов рода *Iris* L. В роде *Iris* более 300 видов, произрастающих в разных природно-климатических условиях от Северной Америки до Азии и Северной Африки [1]. Виды используются в лекарственных целях, парфюмерной промышленности и декоративном садоводстве. В работах ряда исследователей [2–7] отмечено, что многие виды этого рода (*I. lactea* Pall., *I. sibirica*

ca L., *I. ruthenica* Ker-Gawl., *I. hybrida* hort., *I. pseudacorus* L. и др.) содержат БАВ – флавоноиды, ксантоны, тритерпеновые гликозиды, аскорбиновую кислоту, эфирные масла и запасные вещества, такие как крахмал, сахара. Работы по фитохимическому изучению состава надземных и подземных органов многих видов ириса, таких как *I. variegata* Fisch., *I. pumila* L., *I. humilis* Bieb., *I. germanica* L., *I. ensata* Thunb. и других, активно проводятся за рубежом [8–14]. Одним из дикорастущих видов ириса является *Iris setosa* Pall. ex Link s.l. – касатик (ирис) щетинистый из подрода *Limniris* (Taush) Reichenb., секции *Laevigatae* (Diels) Rodion [15]. Распространен *I. setosa* в Сибирской северо-восточной горно-гипарктической флористической провин-

ции [16]. Вид обитает по берегам водоемов, на пойменных лугах, в лиственных лесах и их опушкам, на морских террасах в Восточной Сибири и на Дальнем Востоке, на севере Японии и северо-востоке Китая, а также северо-западе Северной Америки [1, 15]. В народной медицине Японии и Якутии [17, 18] используются цветки и корневища этого растения против чесотки, зубной боли, нарывов. Исследования биохимического состава этого вида по сравнению с другими видами весьма разрознены и содержат очень мало сведений о содержании флавоноидов, сапонинов, танинов в надземной части растений *I. setosa* [9], а знания о наличии БАВ в корневищах ограничены данными о наличии иридина [17]. При этом данные по Сибирскому региону отсутствуют. Многолетнее изучение биологических особенностей *I. setosa* в лесостепной зоне Западной Сибири [19, 20] показало высокие адаптационные возможности вида в условиях *ex situ*. В связи с этим возникла необходимость изучить содержание ряда БАВ в органах растений, что представляется актуальным и составляет новизну данной работы.

Цель работы состояла в сравнительном анализе содержания БАВ в листьях, цветках и корневищах *I. setosa*, культивируемого в условиях лесостепной зоны Новосибирской области.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Работа проведена в Центральном сибирском ботаническом саду СО РАН (ЦСБС СО РАН, Новосибирск). Объектом исследования служили образцы растений *I. setosa* Pall. – ириса щетинистого (семейство *Iridaceae* Juss.) биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН “Коллекция живых растений в открытом и закрытом грунте”, УНУ № USU 440534. Сбор сырья проводили в 2021 г. на экспериментальном участке лаборатории интродукции декоративных растений, расположенном в юго-восточном районе Приобского округа лесостепной климатической провинции Новосибирской области вблизи пос. Кирова. В работе использовали вегетативные и генеративные органы (листья, корневища с корнями, стерильную часть цветка – околоцветник) взрослых растений. Для количественного определения пектиновых веществ (пектины, протопектины), фенольных соединений (катехины, флавоноиды), дубильных веществ (танины), каротиноидов использовали предварительно высушенное сырье по методике [21]. Пробы для

анализа брали у пяти растений в соответствии с фенофазами развития вида в течение вегетационного периода: 29 июня – бутонизация; 1 июля – начало цветения; 2 августа – конец цветения, отцветание; 1 сентября – осенняя вегетация, плодоношение.

Для определения дубильных веществ (танинов) навеску сырья (2.0 г сухого материала) помещали в колбу и добавляли 250 мл дистиллированной воды. Экстрагировали при умеренном кипячении в течение 30 мин, далее охлаждали и переносили в мерную колбу на 250 мл и доводили водой до метки. Часть извлечения (20.0 мл) центрифугировали в течение 5 мин при 3000 об/мин (1.500g) с помощью центрифуги ULAB UC-1536E (Китай, угол наклона пробирок в роторе 45°, максимальное центробежное ускорение (RCF) – 4390g). В мерную колбу на 100 мл переносили 10 мл надосадочной жидкости и добавляли 10 мл 2%-го водного раствора молибдата аммония (квалификация “х. ч.”, ПАО “Химпром”, Россия). Содержимое колбы доводили водой до 100 мл и оставляли на 15 мин. Интенсивность образовавшейся окраски измеряли на спектрофотометре СФ-56 (ООО “ОКБ Спектр”, Россия) при длине волны 420.0 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчет танинов производили по стандартному образцу ГСО танина [22].

Определение каротиноидов осуществляли согласно методике [23, 24]. Для этого воздушно-сухую навеску (0.1 г) растирали в ступке с 0.1 г карбоната кальция (квалификация “х. ч.”, ООО “Лен Реактив”, Россия) до однородной массы, для нейтрализации кислот добавляли 1 мл диметилформамида (квалификация “х. ч.”, ООО “Лен Реактив”, Россия). Далее растирали и добавляли 2 г безводного сульфата натрия (квалификация “ч. д. а.”, ЗАО “Союзхимпром”, Россия). Экстракцию каротиноидов проводили ацетоном путем растирания в ступке первоначально в порции 20 мл, а затем дважды по 5 мл. Затем экстракцию продолжали проводить этанолом, в котором хорошо растворяется ликопин, и далее исчерпывающе ацетоном [23, 24]. Оптическую плотность ацетоново-этанольной вытяжки определяли на спектрофотометре СФ-56 при длине волны 440.5 нм, соответствующей максимуму поглощения каротиноидов. Количественное содержание каротиноидов вычисляли по уравнениям Ветштейна и Хольма [25]. Концентрацию пигмента (C , мг/дм³) рассчитывали по формуле: $C = 4.695D_{440.5} - 0.268(C_a + C_b)$, где $(C_a + C_b) = 5.134D_{662.0} + 20.436D_{644.0}$, а D – оп-

тическая плотность раствора. Далее определяли количество пигмента (x): x (мг/100г) = $CVV_2 \cdot 100 / (HV_1 \cdot 1000)$, где x – процентное содержание; C – концентрация пигмента, мг/дм³; V – объем исходной вытяжки, см³; V_1 – объем вытяжки, взятый для разбавления, см³; V_2 – объем разбавленной вытяжки, см³; H – масса навески, г.

Количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на рутин проводили спектрофотометрически по методу [26], в котором использована реакция комплексообразования флавоноидов с хлоридом алюминия (квалификация “ч. д. а.”, ОАО “Реактив”, Россия). Плотность раствора измеряли на спектрофотометре СФ-56 при длине волны 415 нм. Концентрацию флавоноидов вычисляли по калибровочному графику, построенному по рутину (Fluka, Швейцария, 95 % чистого вещества), диапазон концентраций калибровочного графика 0.005–0.03 мг/мл.

Пектиновые вещества (пектины и протопектины) определяли безкарбазольным спектрофотометрическим методом, основанным на появлении специфического желто-оранжевого окрашивания уроновых кислот с тимолом в серноокислой среде. Предварительно путем трехкратного экстрагирования навесок 80–82%-м этиловым спиртом были удалены сахара, мешающие определению пектинов. Плотность окрашенных растворов измеряли с помощью спектрофотометра Agilent 8453 (Agilent Technologies, США) при длине волны 480.0 нм в кювете с рабочей длиной 10 мм. Количественное содержание пектиновых веществ вычисляли по калибровочной кривой, построенной по галактуроновой кислоте (97 %, Sigma-Aldrich, США) [24, 27]. Катехины определяли спектрофотометрическим методом (спектрофотометр Agilent 8453), основанным на их способности давать малиновое окрашивание с раствором ванилина (квалификация “ч. д. а.”, ООО “РусХим”, Россия) в концентрированной соляной кислоте (квалификация “х. ч.”, АО “ЛенРеактив”, Россия). В контроле испытуемый раствор был с соляной кислотой. Плотность раствора измеряли при длине волны 504.0 нм. Пересчетный коэффициент вычислен по ($\pm$)-катехину (Sigma C-1788, США) [28]. Все биохимические показатели рассчитаны на массу абсолютно сухого сырья по формуле: x (мг/100 г) = $DVV_1 / (EV_2H)$, где x – процентное содержание; D – оптическая плотность раствора; V – общий объем экстракта; V_1 – объем для измерения плотности; V_2 – объем, взятый для анализа; E – коэффициент пересчета по калибровочному графику; H – на-

веска сырья. При очень малых значениях процентного содержания вещества (г/100 г) использовали единицу измерения мг/100 г, равную $1000 \cdot (г/100 г)$.

Определения проводили в трехкратной аналитической повторности. Для каждой выборки данных вычисляли средние арифметические значения (M) и ошибку среднего арифметического ($\pm m$). Статистическую обработку данных с использованием t -критерия Стьюдента при уровне значимости ($P \leq 0.95$) выполняли в программе Statistica 6.1 и Microsoft Office Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По многолетним данным (2016–2022 гг.) начало вегетации *I. setosa* в условиях лесостепной зоны Западной Сибири наступает с 28.IV по 19.V, когда устанавливается устойчивая среднесуточная температура воздуха выше 5 °С. Растения быстро развиваются и формируют в пятилетнем возрасте 10–15 вегетативных и 9–13 генеративных побегов. Начало цветения отмечено 8–15.VI (при сумме положительных температур 560–790 °С), массовое (50 %) – 01.VII. В одном соцветии сформировано 4–7 цветков, его длина 50–87 см. Длина листа 40–50 см, ширина 1.5–2.5 см. Количественное содержание танинов, пектинов, протопектинов, флавоноидов и катехинов в основные фенологические фазы развития растений выражены в процентах на воздушно-сухую массу и представлены в табл. 1. Для сравнения полученных данных последовательно рассмотрим содержание каждой группы БАВ в разных органах растений в различные фенофазы роста.

Танины

Отмечено, что содержание танинов в листьях во всех фенофазах развития растений *I. setosa* в среднем в 6.3–8.5 раз больше, чем в корневищах. В период цветения в листьях в 3.7 раза выше содержание танинов, чем в цветках (4.63 %). Однако их концентрация в цветках в 1.5–1.9 раза выше, чем в корневищах. Наибольшее содержание танинов в листьях и корневищах установлено в период отцветания растений. В фазе развития раскрытого цветка и бутона их концентрация сравнительно одинакова (4.63–4.65 %).

Пектины

При анализе данных по содержанию пектинов в листьях обнаружено, что их наибольшая

ТАБЛИЦА 1

Содержание биологически активных веществ (мас. %) в органах *Iris setosa* в условиях Новосибирска

Орган	Вещества				
	Танины	Пектины	Протопектины	Флавоноиды	Катехины
Начало цветения (01.VII)					
Лист	17.06±0.310	0.89±0.042	4.14±0.111	7.44±0.101	0.16±0.002
Корневище	2.74±0.011	0.54±0.013	4.40±0.090	0.25±0.012	0.12±0.003
Цветок	4.63±0.010	5.12±0.210	5.60±0.220	2.38±0.040	0.28±0.004
Отцветание (02.VIII)					
Лист	19.32±0.340	0.81±0.022	4.44±0.061	8.54±0.110	0.24±0.009
Корневище	3.04±0.011	1.21±0.031	3.44±0.081	0.47±0.013	0.23±0.009
Плодоношение (01.IX)					
Лист	14.39±0.260	2.17±0.071	4.66±0.040	7.78±0.131	0.15±0.003
Корневище	2.37±0.010	1.28±0.010	5.02±0.110	0.31±0.011	0.11±0.009

Примечание. Различия достоверны при уровне значимости $P \leq 0.95$.

концентрация приходится на период плодоношения, что в 1.6 раза выше, чем в период цветения и отцветания растений. Соответственно, в корневищах в этой же фенофазе развития растений пектинов в 2.2–2.3 раза больше по сравнению с периодом цветения. Цветки содержат в начале цветения (01.VII) пектинов в 5.8 раза больше, чем листья, и в 9.8 раза больше, чем корневища. Причем в фазе раскрытого цветка их концентрация в 4.9 раза выше, чем при бутонизации.

Протопектины

Обнаружено относительно стабильное содержание протопектинов в листьях (4.14–4.66 %) в течение сезонного развития растений. Концентрация протопектинов в корневищах *I. setosa* в период плодоношения в 1.2 раза больше, чем в период цветения и отцветания. В период цветения цветки содержат в 2.5 раза больше протопектинов (6.31 %), чем листья и корневища в этот же период развития. Однако концентрация протопектинов немного выше в фазе бутона, чем в фазе раскрытого цветка.

Флавоноиды

Во всех фенофазах развития растений отмечено высокое содержание суммы флавоноидов в листьях по сравнению с их содержанием в корневищах (см. табл. 1). Так, в период цветения их больше в 29.7 раз, отцветания – в 18.1 раза, плодоношения – в 25.9 раз. Концентрация флавоноидов в цветках в период цветения (01.VII) была в 3.1 раза меньше, чем в

листьях, и в 9.5 раз больше, чем в корневищах. Отмечено, что содержание флавоноидов повышается лишь в 1.3 раза в фазу цветения по сравнению с фазой бутонизации.

Катехины

Высокое и сравнительно одинаковое накопление катехинов (0.23–0.24 %) в подземных и надземных органах растений *I. setosa* наблюдалось в период отцветания растений. Причем в этот период развития содержание катехинов в листьях было в 1.5 раза выше, а в корневищах – в 1.8–2.0 раза больше, чем в период цветения и плодоношения. Следует отметить, что в период цветения в цветках отмечена максимальная концентрация катехинов (0.28 %) по отношению к листьям и корневищам.

Каротиноиды

В цветках содержание каротиноидов в период цветения составляло 9.9 мг/100 г. Это в 2.0 раза больше, чем в корневищах, но в 2.6 раза меньше, чем в листьях. К осени в корневищах происходит накопление каротиноидов, причем их содержание в 3.3–5.2 раза больше, чем в период цветения и отцветания. Что касается содержания каротиноидов в листьях, то оно в начале цветения составляет 26.1 мг/100 г, что в 6.5 раза выше, чем в корневищах. В период отцветания в обоих органах концентрация каротиноидов снижается в 1.5–2 раза. К осени, в период плодоношения, она повышается и в листьях (29.3 мг/100 г), и корневищах (21.7 мг/100 г) (рис. 1).

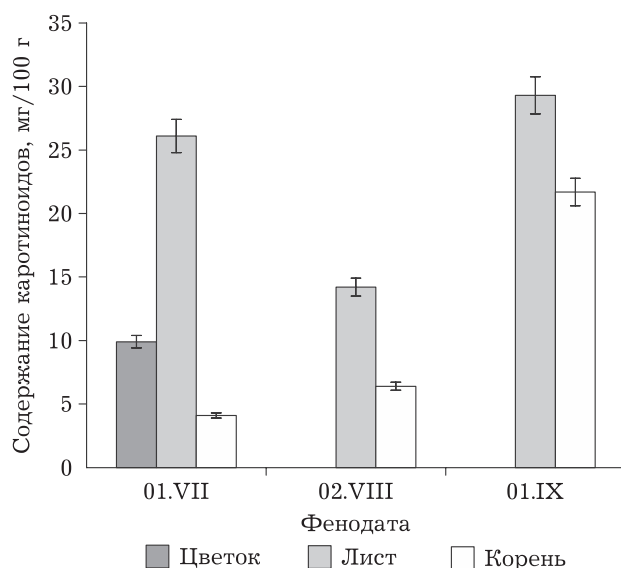


Рис. 1. Содержание каротиноидов в надземных и подземных органах растений *I. setosa* в период сезонного развития 2021 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования получены новые данные о содержании основных групп БАВ в цветках, листьях и корневищах в растительных образцах ириса щетинистого (*I. setosa*), культивируемого в лесостепной зоне Новосибирской области. Установлено, что все органы *I. setosa* содержат комплекс БАВ: фенольных соединений (танинов, флавоноидов, катехинов), каротиноидов, пектиновых веществ (пектинов и протопектинов). Показано, что уровень накопления данных веществ варьирует в зависимости от органа и фенологической фазы развития растений. Танины, как источник дубильных веществ, присутствуют в органах на всех фазах развития растений *I. setosa*. Листья ириса отличаются наиболее высоким содержанием танинов (14.39–19.32 %). Причем их содержание в листьях выше в 6.3–8.5 раза, чем в корневищах, что согласуется с результатами, полученными другими исследователями [10]. Повышенное содержание флавоноидов, обнаруженное нами в листьях (7.44–8.54 %), соответствует данным по другим видам [3, 7, 11]. Содержание катехинов в органах варьирует в зависимости от фенологической фазы развития. Высоким содержанием катехинов отличаются цветки в фазу цветения, а также листья и корневища в период отцветания растений, что совпадает с данными других авторов, полученными на других видах ирисов [4, 6, 7] с использованием аналогичных методик. Можно предполагать, что наличие катехинов как полифенольных соединений, обла-

дающих противомикробным действием, оказывает влияние на устойчивость данного вида к болезням в период вегетации. Как показали полученные нами данные, более высокая концентрация каротиноидов, оказывающих антиоксидантное действие, накапливается в корневищах (21.7 мг/100 г) и листьях (29.3 мг/100 г) к осени. В этот же период в этих же органах *I. setosa* выявлено увеличение содержания пектинов и протопектинов, причем основную долю в сумме пектиновых веществ занимают протопектины. Повышенное содержание пектинов и протопектинов в период цветения в цветках (5.12–5.60 %) по сравнению с листьями и корневищами, возможно, выступает адаптивным влагоудерживающим агентом для повышения тургора лепестков в период массового цветения вида. Содержание в органах *I. setosa* исследованных нами основных групп биологически активных веществ связано с фенологическими фазами развития вида, что ранее было отмечено у других представителей рода *Iris*, интродуцированных в условиях лесостепной зоны Западной Сибири [4, 6, 7], а также изученных в других природно-климатических условиях [2, 5, 8, 9, 12, 14]. Результаты проведенного исследования содержания БАВ могут быть использованы для оценки перспективности применения в лекарственных целях растительного сырья *I. setosa* в качестве источника ценных веществ.

Работа выполнена в рамках государственного задания Центрального сибирского ботанического сада СО РАН по проекту № АААА-А21-121011290025-2 “Анализ биоразнообразия, сохранения и восстановления редких и ресурсных видов растений с использованием экспериментальных методов”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Алексеева Н. Б. Род *Iris* L. (Iridaceae) в России // Turczaninowia. 2008. Vol. 11, No. 2. С. 5–68.
- 2 Антипова Е. А., Лейтес Е. А. Определение содержания ксантонов и элементного состава надземной части и экстракта *Iris lactea* Pall. // Химия растительного сырья. 2019. № 2. С. 189–196.
- 3 Базарнова Н. Г., Тихомирова Л. И., Синицина А. А., Афанасенкова И. В. Сравнительный анализ химического состава растительного сырья *Iris sibirica* L. // Химия растительного сырья. 2017. № 4. С. 137–144.
- 4 Седельникова Л. Л., Кукушкина Т. А. Содержание запасных и биологически активных веществ в вегетативных органах *Iris sibirica* L. (Iridaceae) // Ученые записки Забайкальского гос. ун-та. 2016. Т. 11, № 1. С. 123–128.
- 5 Тихомирова Л. И., Базарнова Н. Г., Микушина И. В., Долганова З. В. Фармаколого-биохимическое обоснование практического использования некоторых представителей рода *Iris* L. (обзор) // Химия растительного сырья. 2015. № 3. С. 25–34.

- 6 Седельникова Л. Л., Кукушкина Т. А. Содержание некоторых групп соединений в вегетативных органах *Iris ruthenica* (Iridaceae) // Химия растительного сырья. 2017. № 3. С. 141–146.
- 7 Седельникова Л. Л., Кукушкина Т. А. Содержание некоторых групп соединений в листьях и корневищах *Iris hybrida* hort. сорт Coronation // Химия растительного сырья. 2018. № 2. С. 131–136.
- 8 Лужанин В. Г., Уэйли А. К., Понкратова А. О., Жохова Е. В., Зингалюк М. А., Пряхина Н. И. Касатик молочнотелый (*Iris lactea* Pall.) – перспективный источник биологически активных веществ // Химия растительного сырья. 2021. № 3. С. 5–17.
- 9 Kaššák P. Secondary metabolites of the chosen genus *Iris* species // Acta Univ. Agric. et Silv. Mendelianae Brun. 2012. Vol. 60, No. 8. P. 269–280.
- 10 Kaššák P. Screening of the chemical content of several *Limniris* group Irises // Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2014. Vol. 3, No. 2. P. 11–14.
- 11 Kostić A. Ž., Gašić U. M., Pešić M. B., Stanojević S. P., Barać M. B., Mačukanović-Jocić M. P., Avramov S. N., Tešić Ž. L. Phytochemical analysis and total antioxidant capacity of rhizome, above-ground vegetative parts and flower of three *Iris* species // Chem. Biodivers. 2019. Vol. 16, No. 3. Art. e1800565.
- 12 Kukula-Koch W., Sieniawska E., Widelski J., Urjin O., Głowniak P., Skalicka-Woźniak K. Major secondary metabolites of *Iris* spp. // Phytochem. Rev. 2015. Vol. 14, No. 1. P. 51–82.
- 13 Liu Q., Zhang Y., Wang Y., Wang W., Gu C., Huang S., Yuan H., Dhankher O. P. Quantitative proteomic analysis reveals complex regulatory and metabolic response of *Iris lactea* Pall. var. *chinensis* to cadmium toxicity // J. Hazard. Mater. 2020. Vol. 400. Art. 123165.
- 14 Mykhailenko O., Gudžinskas Z., Kovalyov V., Desenko V., Ivanauskas L., Bezruk I., Georgiyants V. Effect of ecological factors on the accumulation of phenolic compounds in *Iris* species from Latvia, Lithuania and Ukraine // Phytochem. Anal. 2020. Vol. 31, No. 5. P. 545–563.
- 15 Конспект флоры Азиатской России: сосудистые растения / под ред. К. С. Байкова. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2012. 640 с.
- 16 Малышев Л. И., Байков К. С., Доронькин В. М. Флористическое деление Азиатской России на основе количественных признаков // Krylovia. Сибирский ботан. журн. 2000. Т. 2, № 1. С. 3–16.
- 17 Шретер А. И. Лекарственная флора советского Дальнего Востока. М.: Медицина, 1975. 328 с.
- 18 Беркутенко А. Я., Романовский С. С. Редкие растения заповедника “Магаданский” (Ямский участок) // Современное состояние и перспективы научных исследований в заповедниках Сибири: тез. докл. Всесоюз. совещ., Новосибирск, 26–28 августа 1986. Москва, 1986. С. 68–70.
- 19 Седельникова Л. Л. Сезонный ритм развития и органогенез *Iris setosa* (Iridaceae) в лесостепной зоне Западной Сибири // Экосистемы. 2019. № 18. С. 48–54.
- 20 Седельникова Л. Л. Биологические особенности *Iris setosa* в лесостепной зоне Западной Сибири // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии 2020. Т. 19, № 1. С. 55–59.
- 21 Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. Т. 2. М.: Медицина, 2018. 3263 с.
- 22 Федосеева Л. М. Изучение дубильных веществ подземных и надземных вегетативных органов бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia* (L.) Fitch.), произрастающего на Алтае // Химия растительного сырья. 2005. № 2. С. 45–50.
- 23 Методические рекомендации по анализу плодов на биохимический состав / сост. В. И. Кривенцов. Ялта: ГНБС, 1982. 21 с.
- 24 Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П., Перуанский Ю. В., Луковникова Г. А. Методы биохимического исследования растений. 3-е изд., перераб. и доп. Л.: Агропромиздат, 1987. 430 с.
- 25 Методы биохимического анализа растений / под ред. В. В. Полевого, Г. Б. Максимова. Л.: Изд-во ЛГУ, 1978. 192 с.
- 26 Беликов В. В., Шрабер М. С. Методы анализа флавоноидных соединений // Фармация. 1970. № 1. С. 66–72.
- 27 Кривенцов В. И. Бескарбазольный метод количественного спектрофотометрического определения пектиновых веществ // Сб. науч. тр. Никитского ботан. сада. Ялта, 1989. Т. 109. С. 128–137.
- 28 Кукушкина Т. А., Зыков А. А., Обухова Л. А. Манжетка обыкновенная (*Alchimilla vulgaris* L.) как источник лекарственных средств // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: материалы VII Междунар. съезда “Фитофарм 2003”, Санкт-Петербург – Пушкин, 3–5 июля 2003. Санкт-Петербург, 2003. С. 64–69.