

УДК 633.12(045)

Обоснование использования лузги гречихи для получения функциональных пищевых красителей

Д-р техн. наук **М.Н. Школьников**, shkolnikova.m.n@mail.ru
Е.А. Кадрицкая, tp@usue.ru

Уральский государственный экономический университет
620144, Россия, Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45

Исследовали возможность использования лузги гречихи посевной для получения функционального пищевого красителя меланина. Объектами изучения являлись два образца лузги гречихи посевной *Fagopyrum esculéntum* и выделенный водорастворимый меланин. Выделение меланина проводили методом экстракции лузги гречихи 4% NaOH при гидромодуле 1:20. Сорбционную способность экстракта меланина определяли путем его взаимодействия с растворами соли меди в щелочной среде. Установлено, что отличительной особенностью лузги гречихи является низкая зольность, довольно высокое содержание клетчатки – 24,7–26,5%, достаточное содержание пектиновых веществ – 7,2–7,7% и меланина – 15,7–16,2%. Показано, что лузга может быть использована для дальнейшей переработки с целью получения пищевого красителя меланина. Экспериментально установлена способность образца меланина связывать ионы меди: один грамм 0,5%-го раствора экстракта меланина гречневой лузги связал 966,6 мг/мл меди, а антиоксидантная активность одного грамма экстракта меланина соответствует антиоксидантной активности 0,056 г рутина. Таким образом, выделенные из лузги гречихи водорастворимые образцы меланина могут использоваться как пищевые красители, а также как антиоксиданты и биосорбенты, что позволяет рекомендовать их в качестве функциональных пищевых ингредиентов в составе продуктов питания.

Ключевые слова: зерновые культуры; переработка лузги гречихи; химический состав; меланин; сорбционная способность; антиоксидантная активность.

DOI: 10.17586/2310-1164-2020-10-4-22-28

Rationale for the use of buckwheat husk for the production of functional food colors

D. Sc. **Marina N. Shkolnikova**, shkolnikova.m.n@mail.ru
Elena A. Kadritskaya, tp@usue.ru

Ural State Economic University
62/45, 8 March/Narodnaya Volya str., Ekaterinburg, 620144, Russia

The aim of the work was to substantiate the use of buckwheat husk for obtaining a functional food colorant melanin. The objects of the study were samples of buckwheat husk *Fagopyrum esculéntum* and isolated water-soluble melanin. The isolation of melanin was carried out by extraction of buckwheat husk with 4% NaOH at a hydraulic modulus of 1:20. The sorption capacity of the melanin extract was determined by its interaction with copper salt solutions in an alkaline medium. It has been established that a distinctive feature of buckwheat hulls is its low ash content, a rather high fiber content – 24.7–26.5%, and a sufficient content of pectin substances – 7.2–7.7% and melanin – 15.7–16.2%. The husk can be used for further processing in order to obtain the food coloring melanin. The experiment proved the ability of a melanin sample to bind copper ions: one gram of a 0.5% solution of buckwheat husk melanin extract bounded 966.6 mg/ml copper, and the antioxidant activity of one gram of melanin extract corresponds to the antioxidant activity of 0.056 g of rutin. Thus, water-soluble samples of melanin isolated from buckwheat hulls can be used as food coloring agents, as well as antioxidants and biosorbents, which makes it possible to recommend them as functional food ingredients in food.

Keywords: food crop; buckwheat husk processing; chemical composition; melanin; sorption capacity; antioxidant activity.

Введение

Гречиху посевную *Fagopyrum esculéntum* можно рассматривать как одну из стратегических зерновых культур, поскольку в России гречневая крупа является одним из важных национальных продуктов, необходимым компонентом детского и диетического питания. В отличие от таких зерновых злаков, как пшеница, овес и рожь, гречиху можно выращивать на обедненных почвах в прохладном и влажном климате. Сегодня Россия занимает второе место в мире после Китая по производству гречневой крупы. Около 22% от объема переработанного в крупу зерна гречихи составляют отходы – лузга, в среднем по России порядка 63 тыс. т, при этом используется лишь незначительная ее часть [1]. Существует ряд

научных разработок – патентов РФ на изобретения, показывающих принципиальную возможность использования лужги гречихи для производства пищевых ингредиентов, в том числе функциональных [2], однако информация о практическом внедрении предлагаемых способов в доступных источниках не найдена. По информации, полученной от зерноперерабатывающих предприятий, лужга гречихи используется, главным образом, в качестве топлива, наполнителя для подушек, а также упаковки фруктов и хрупких товаров, в то время, как ее можно рассматривать как ценное сырье для выделения ряда биологически активных веществ и получения функциональных пищевых ингредиентов, в частности, коричневого пигмента меланина [3].

На сегодняшний день в связи с увеличением загрязнения внешней среды отходами химических и микробиологических производств наличие в ряде зон и даже регионов России повышенного радиоактивного фона, широкое внедрение в медицину, ветеринарию и пищевые отрасли антибиотиков, возрастает роль пищевых добавок и ингредиентов, обладающих защитным, диетическим и лечебно-профилактическим действием для всех категорий населения и особенно детей. Наиболее перспективны в этом отношении ингредиенты натурального происхождения, не оказывающие побочного действия и обладающие выраженным защитным эффектом.

В полной мере этим требованиям отвечает меланин. Все виды меланиновых пигментов являются длинноцепочечными полимерами с большим молекулярным весом и сложной кристаллической структурой [4]. Они обладают высокой биологической активностью. Так, хорошо известно ингибирующее действие меланинов на процесс перекисного окисления липидов, вызываемый различными прооксидантами [5, 6], протекторное действие, обеспечивающее надежную защиту клеточных систем от факторов мутагенной и канцерогенной природы, а также способность дезактивировать свободные радикалы [7], противовирусная, антибактериальная и антигрибковая активность [8], антиоксидантная активность [9]. Механизм защитного действия меланинов связан с их способностью поглощать свободные радикалы и связывать прооксидантные ионы металлов переходной валентности в неактивные комплексы [10].

Меланины получают химическим и микробиологическим синтезом, а также экстракцией из животного и растительного материала. Основными растительными источниками меланина являются чага березового гриба, но возобновление данного сырья в природных условиях является длительным процессом [7], и лужга подсолнечника с наличием балластной фракции и низким содержанием пигмента, что не всегда экономически целесообразно [8].

В связи с этим в качестве перспективного сырьевого источника для выделения меланина целесообразно рассмотреть лужгу гречихи посевной – многотоннажные отходы переработки зерна гречихи в крупу и муку, – отличающуюся отсутствием балластной фракции и высоким содержанием локализованного в наружных слоях клетчатой стенки всей зерновой оболочки коричневого пигмента.

Несмотря на то, что меланины относительно хорошо изучены, биохимические особенности меланина из альтернативных сырьевых источников требуют более детального изучения свойств пигмента, что обусловило цель данной работы – исследование химического состава гречневой лужги *Fagopyrum esculentum* с последующим выделением меланина и изучением его функциональных свойств.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись образцы лужги гречихи посевной *Fagopyrum esculentum*, полученные с предприятий по переработке зерна гречихи: сорта Девятка репродукция РС-2 – ЭС, Красноуфимский район Свердловской области (образец № 1), сорта Девятка репродукция РС-1, Целинный район Алтайского края (образец № 2); водорастворимый меланин, выделенный из лужги гречихи посевной *Fagopyrum esculentum*.

Гречишную лужгу очищали от примесей и пыли, определяли органолептические показатели по ГОСТ 27558-87, затем измельчали в мельнице, просеивали через сито с размером пор от 1,5 до 4 мм. При исследовании состава образца лужги использованы стандартные методы: содержание влаги – по ГОСТ 13586.5-2015, золы – по ГОСТ 10847-74, клетчатки – по ГОСТ 31675-2012, пектиновых веществ – по ГОСТ 29059-91. Содержание полифенольных веществ определяли методом Фолина–Чокальтеу по Р 4.1.1672-03 (калибровочная кривая построена по галловой кислоте).

Выделение меланина проводили методом экстракции лужги гречихи 4% NaOH при гидромодуле 1:20. В колбу с обратным холодильником помещали 100 г промытой и измельченной лужги гречихи, приливали

раствор NaOH и нагревали на кипящей водяной бане при постоянном перемешивании в течение 2 ч. Затем экстракт охлаждали, осадок отфильтровывали под вакуумом. Вторичную экстракцию проводили аналогично, используя гидромодуль 1:10. Фильтраты объединяли, подкисляли до значения pH = 2 10%-м раствором HCl, при этом происходило осаждение меланина. Образовавшийся темно-коричневый осадок отфильтровывали под вакуумом с использованием мембранных фильтров «Мембрана Владипор типа МФАС-ОС-2», промывали дистиллированной водой до нейтрального значения pH и высушивали при температуре 35 °C (рисунок 1).



Рисунок 1 – Внешний вид меланина, выделенного из образца № 2 лузги гречихи посевной
 Figure 1. Appearance of melanin isolated from sample No. 2 of buckwheat husk

Сорбционную способность экстракта меланина определяли путем его взаимодействия с растворами соли меди в щелочной среде, так как ранее [11] показано, что в щелочной среде сорбционная способность максимальна по сравнению с кислой. Данный факт важен с точки зрения метаболизма меди, поскольку известно, что экскреция происходит главным образом через кишечник со щелочной средой.

Растворы выдерживали в термостате, а осадки отделяли фильтрованием. Измерения оптической плотности растворов проводили на спектрофотометре Shimadzu UV1800, по результатам строили градуировочный график зависимости концентрации связанных ионов меди от оптической плотности. Связывающую способность определяли путем взаимодействия 10 мл раствора меланина с 4%-м раствором CuSO₄. Растворы выдерживали в термостате в течение 1 ч и при T = 37 °C, имитируя температуру организма человека. Полученные осадки отделяли фильтрованием и производили измерения оптической плотности растворов при длине волны 620 нм.

Исследование антиоксидантной активности (АОА) образца экстракта меланина проводили по ГОСТ Р 54037-2010.

Результаты и их обсуждение

В ходе определения органолептических показателей установлено, что лузга окрашена в темно-коричневый цвет и состоит из грубых толстостенных клеток, частично заполненных коричневыми пигментами, толщина стенок – 0,14–0,16 мм, запах – выраженный, присущий гречневой крупе, вкус слабый, свойственный гречневой крупе.

Результаты определения состава образца лузги гречихи представлены в таблице 1.

Таблица 1. Состав образцов гречневой лузги
 Table 1. Composition of buckwheat husk samples

Состав, %	Образец № 1	Образец № 2
влага	4,50 ± 0,10	4,30 ± 0,10
зола	2,20 ± 0,10	1,90 ± 0,10
клетчатка (в пересчете на сухое вещество)	24,70 ± 0,30	26,50 ± 0,30
пектиновые вещества	7,20 ± 0,10	7,70 ± 0,10
меланин	15,70 ± 0,40	16,20 ± 0,40
полифенольные вещества	0,25 ± 0,03	0,32 ± 0,03

В ходе исследований установлено, что отличительной особенностью лужги гречихи является ее низкая зольность и довольно высокое содержание клетчатки. Пищевые волокна лужги гречихи отличает высокая влагоудерживающая способность, что является важным технологическим преимуществом, а также высокая сорбционная способность по отношению к солям тяжелых металлов, фенола и формальдегида, что повышает ее физиологическую ценность. Исследованиями [3] установлено, что полифенольные вещества лужги гречихи состоят преимущественно из флавонов и флавононов.

Из анализа результатов, представленных в таблице 1, видно, что экспериментальные данные по образцам лужги сопоставимы и отличаются несущественно. Данный факт позволяет сделать вывод, что лужга, полученная при переработке гречихи уральского и сибирского регионов, может быть использована для дальнейшей переработки с целью получения функциональных пищевых ингредиентов, в частности пищевого красителя меланина.

Пектин, наряду с технологическими свойствами, обладает целым спектром доказанных функциональных свойств, участвуя в организме человека в следующих процессах: увеличивает всасывание кальция и магния; сдвигает pH внутренней среды кишечника в кислую сторону, оказывая бактерицидное действие; связывает желчные кислоты, обеспечивая гипохолестеринемический эффект; способствуя более быстрому выведению токсинов и недоокисленных веществ из организма; обладает адсорбирующим действием и т.д. [12]. Все виды меланиновых пигментов являются длинноцепочечными полимерами с большим молекулярным весом и сложной кристаллической структурой. Они обладают высокой биологической активностью. Так, хорошо известны ингибирующее действие меланинов на процесс перекисного окисления липидов, вызываемый различными прооксидантами, протекторное действие, обеспечивающее надежную защиту клеточных систем от факторов мутагенной и канцерогенной природы, а также способность дезактивировать свободные радикалы, противовирусная, антибактериальная и антигрибковая активность, антиоксидантная активность [10].

Одним из наиболее важных показателей физиологической активности природных веществ является их сорбционная способность, характеризующая количество миллиграммов иона металла, связанное одним граммом вещества. Сорбционная способность биологически активных веществ дает основание рекомендовать их для включения в рационы лечебно-профилактического питания с целью очищения организма от тяжелых металлов.

Для характеристики сорбционной способности в качестве металла обычно выбирают свинец, являющийся эталоном при анализе лекарственных веществ на содержание тяжелых металлов. В тоже время медь относится к числу тяжелых металлов, которые могут загрязнять пищевые продукты. Связывание меди в реакции комплексообразования с меланином лежит в основе профилактики возможных последствий ее попадания в организм человека в избыточных количествах. Известно, что медь как тяжелый металл связывается с карбоксильными, фосфатными группами биомолекул, снижая активность ферментов и купируя метаболические процессы.

Результаты изучения сорбционной способности меланина по отношению к ионам меди представлены на рисунке 2.

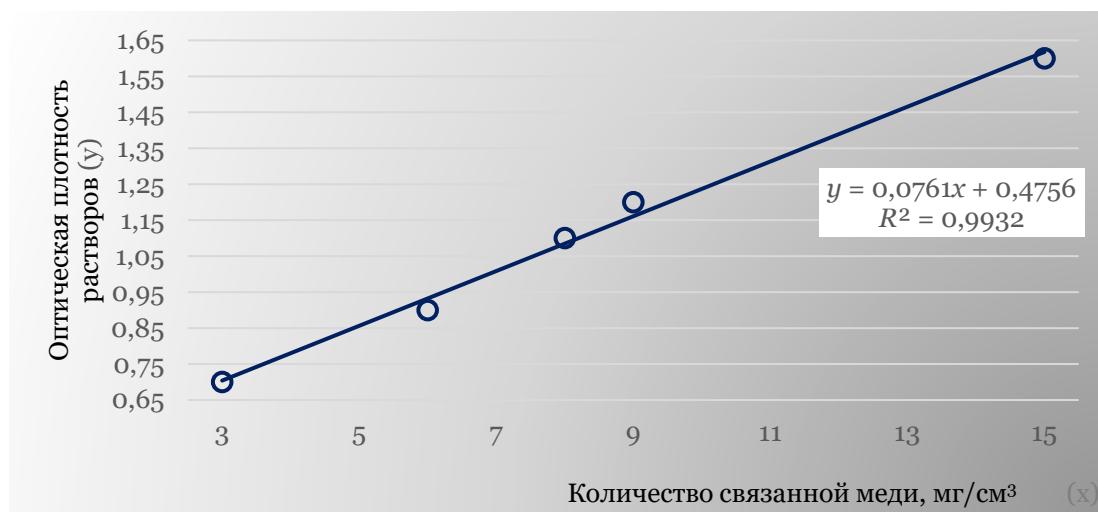


Рисунок 2 – Количество меди, связанной 0,5%-м раствором экстракта меланина
 Figure 2. The amount of copper bound with a 0.5% solution of melanin extract

Как можно видеть из представленных данных, наблюдается прямо пропорциональная зависимость между количеством вносимого 0,5%-го раствора меланина и количеством связанной им меди из раствора (таблица 2), что подтверждает возможность использования полученного меланина в качестве детоксиканта при попадании в организм солей тяжелых металлов.

Таблица 2. Оптическая плотность испытуемых растворов
Table 2. Optical density of the tested solutions

Опыт	4%-й раствор CuSO ₄ , см ³	0,5%-й раствор экстракта меланина, см ³	Вода, см ³	Оптическая плотность	Количество связанной меди, мг/см ³
1	2	0,0	8,0	0,7	3,5
2	2	1,0	7,0	0,9	6,0
3	2	2,0	6,0	1,1	8,3
4	2	4,0	4,0	1,2	9,5
5	2	6,0	2,0	1,6	15,0

Таким образом, чем выше значение сорбционной способности, тем меланин более эффективен как детоксикант. На практике 1 г меланина из гречневой лузги связывает 966,6 мг меди при теоретической емкости меланина равной 2250 мг меди, рассчитанной по содержанию гидроксильных групп в молекуле (2,25%). Меланин образует комплекс с медью благодаря наличию функциональных группировок, в том числе гидроксильных (спиртовых) и фенольных групп, аминных и амидных групп, конденсированные бензольные кольца, фенольные структуры и карбонильные группы [13].

Стоит сказать, что адекватная обеспеченность организма медью приводит к улучшению фибринолитической активности крови, снижая риск развития сердечно-сосудистых заболеваний. Избыточное поступление меди в организм ведет к отложению ее в тканях (болезнь Вильсона). Развивается цирроз печени, гепатолентикулярная дегенерация: образуется плохо растворимый комплекс меди с аминокислотами, который откладывается в чечевидном ядре мозга, клетках печени и селезенки, сетчатке глаза. Возникают дегенеративные изменения в органах, светобоязнь. При болезни Вильсона содержание меди увеличивается практически в 100 раз по сравнению с нормой [14, 15]. Повышение меди в крови встречается при таких заболеваниях, как лейкомия, лимфома, ревматоидный артрит, цирроз, нефрит.

При исследовании антиоксидантной активности (АОА) экстракта образца меланина оценку образовавшихся хелатов Fe (II) с α,α'-дипиридиллом проводили по оптической плотности раствора при 522 нм. В результате получилось, что АОА 1 г экстракта меланина соответствует АОА 0,056 г рутина, что хорошо согласуется с литературными данными: значения АОА экстракта меланина для аскорбиновой и галловой кислот составляют 0,034 и 0,128 г соответственно [10]. Антиоксидантный механизм экстракта меланина может быть обусловлен как его реакцией с активными формами кислорода, так и со способностью утилизировать свободные радикалы. Таким образом, меланин может быть использован как пищевой краситель растительного происхождения, обладающий дополнительно антиоксидантными свойствами.

Заключение

Установлено, что отличительной особенностью лузги гречихи сибирского и уральского регионов является низкая зольность, довольно высокое содержание клетчатки – 24,7–26,5%, достаточное содержание пектиновых веществ – 7,2–7,7% и меланина – 15,7–16,2%. Данный факт позволяет сделать вывод, что лузга может быть использована для дальнейшей переработки с целью получения функциональных пищевых ингредиентов, в частности, пищевого красителя меланина. В эксперименте установлена способность выделенного из гречневой лузги образца меланина связывать ионы тяжелых металлов, в частности, меди в щелочной среде, аналогичной среде кишечника, при температуре организма человека $T = 37^{\circ}\text{C}$. Данный факт позволяет рекомендовать исследуемый образец меланина к использованию в качестве детоксиканта при отравлениях солями тяжелых металлов, а также для профилактики ряда заболеваний. Результаты исследований показали, что один грамм 0,5%-го раствора экстракта меланина гречневой лузги связал 966,6 мг/мл меди, а АОА одного грамма экстракта меланина соответствует АОА 0,056 г рутина. Таким образом, выделенные из лузги гречихи водорастворимые образцы меланина могут использоваться как пищевые красители, а также как антиоксиданты и биосорбенты, что позволяет рекомендовать их в качестве функциональных пищевых ингредиентов в составе продуктов питания.

Литература

1. Шекуров В.Н., Таренко Б.И., Шекуров К.В. Углубленная переработка шелухи гречихи // Вестник Казанского технологического университета. 2014. № 5. С. 205–207.
2. Заболотная А.М., Лим Л.А., Реутов В.А., Ануфриев А.В., Руденко А.А., Ярыгин Д.В., Хребтов А.А. Некоторые аспекты комплексной технологии переработки лужки гречихи // Вестник Югорского государственного университета. 2015. № S2(37). С. 99–101.
3. Ванг И., Чен Д., Фенг И. Состояние процесса производства и разработка стратегий в отношении продуктов из гречихи в Китае // Вестник ОрелГАУ. 2010. № 4(25). С. 9–14.
4. Solano F. Melanins: skin pigments and much more—types, structural models, biological functions, and formation routes. *New Journal of Science*. 2014, Article ID 498276, 28 p.
5. Eisenman H.C., Casadevall A. Synthesis and assembly of fungal melanin. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2012, V. 93, no. 3, pp. 931–940.
6. Ghiani S., Baroni S., Burgio D. Characterization of human hair melanin and its degradation products by means of magnetic resonance techniques. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 2008, V. 46, no. 5, pp. 471–479.
7. Прутенская Е.А., Васильев А.С., Лебедева Е.Ю., Ущиповский И.В., Сильченко В.А. Сравнительная характеристика структуры меланинов различного происхождения // Символ науки. 2016. № 11-3. С. 11–13.
8. Ананько Г.Г., Теплякова Т.В., Бардашева А.В., Ильичева Т.Н. Меланины из глубинной культуры *Inonotus obliquus* и их противовирусная активность в отношении вируса простого герпеса 2 типа // Успехи медицинской микологии. 2015. Т. XIV. С. 384–388.
9. Грачева Н.В., Желтобрюхов В.Ф. Способ получения меланина из лужки подсолнечника и исследование его антиоксидантной активности // Вестник Казанского технологического университета. 2016. Т. 19. № 15. С. 154–157.
10. Ushakova N., Dontsov A., Sakina N., Bastrakov A., Ostrovsky M. Antioxidative properties of melanins and ommochromes from black soldier fly *Hermetia illucens*. *Biomolecules*. 2019, V. 9, no. 9, pp. 408–419.
11. Михеева Л.А., Февралева М. А., Брынских Г.Т., Тры А.В. Изучение комплексообразующей способности пектина по отношению к меди и свинцу // Ульяновский медико-биологический журнал. 2017. № 2. С. 111–116.
12. Школьникова М.Н., Аверьянова Е.В. Пектин как функциональный пищевой ингредиент в составе зефира // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия «Пищевые и биотехнологии». 2017. Т. 5. № 1. С. 35–44.
13. Rassabina A.E., Gurjanov O.P., Beckett R.P., Minibayeva F.V. Melanin from the Lichens *Cetraria islandica* and *Pseudevernia furfuracea*: structural features and physicochemical properties. *Biochemistry (Moscow)*. 2020, V. 85, pp. 623–628.
14. Хайменова Т.Ю., Винницкая Е.В., Бакулин И.Г., Шкурко Т.В., Никитина А.В. Болезнь Вильсона–Коновалова: современные методы диагностики и лечения // Фарматека. 2016. № S5. С. 81–85.
15. Таратина О.В., Ломакина Е.Ю., Белоусова Е.А., Стацук Г.А. Гематологические манифестации болезни Крона: описание двух клинических наблюдений // Альманах клинической медицины. 2017. Т. 45. № 5. С. 429–438.

References

1. Shekurov V.N., Tarenko B.I., Shekurov K.V. Advanced processing of buckwheat husk. *Bulletin of Technological University*. 2014, no. 5, pp. 205–207 (In Russian).
2. Zabolotnaya A.M., Lim L.A., Reutov V.A., Anufriev A.V., Rudenko A.A., Yarygin D.V., Khrebtov A.A. Some aspects of the complex technology of processing buckwheat husk. *Bulletin of Ugra State University*. 2015, no. S2 (37), pp. 99–101 (In Russian).
3. Wang I., Cheng D., Feng I. The state of the production process and the development of strategies in relation to buckwheat products in China. *Bulletin of Oryol State Agrarian University*. 2010, no. 4, pp. 9–14 (In Russian).
4. Solano F. Melanins: skin pigments and much more—types, structural models, biological functions, and formation routes. *New Journal of Science*. 2014, Article ID 498276, 28 p.
5. Eisenman H.C., Casadevall A. Synthesis and assembly of fungal melanin. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2012, V. 93, no. 3, pp. 931–940.
6. Ghiani S., Baroni S., Burgio D. Characterization of human hair melanin and its degradation products by means of magnetic resonance techniques. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 2008, V. 46, no. 5, pp. 471–479.
7. Prutenskaya E.A., Vasiliev A.S., Lebedev E.Yu., Uschapovsky I.V., Silchenko V.A. Comparative characteristics of the structure of melanins of various origins. *Science Symbol*. 2016, no. 11-3, pp. 11–13 (In Russian).
8. Ananko G.G., Teplyakova T.V., Bardasheva A.V., Ilyicheva T.N. Melanins from the deep culture of *Inonotus obliquus* and their antiviral activity against herpes simplex virus type 2. *Advances in Medical Mycology*. 2015, V. XIV, pp. 384–388 (In Russian).
9. Gracheva N.V., Zheltobryukhov V.F. Method of obtaining melanin from sunflower husk and research of its antioxidant activity. *Bulletin of Technological University*. 2016. V. 19, no. 15, pp. 154–157 (In Russian).

10. Ushakova N., Dontsov A., Sakina N., Bastrakov A., Ostrovsky M. Antioxidative properties of melanins and ommochromes from black soldier fly *Hermetia illucens*. *Biomolecules*. 2019, V. 9, no. 9, pp. 408–419.
11. Mikheeva L.A., Fevrалеva M.A., Brynskikh G.T., Try A.V. Study of complexing ability of pectin with respect to copper and lead. *Ulyanovsk Medico-biological Journal*. 2017, no. 2, pp. 111–116 (*In Russian*).
12. Shkolnikova M.N., Averyanova E.V. Pectin as a functional food ingredient in the composition of marshmallow. *Bulletin of South Ural State University. Series “Food and Biotechnologies”*. 2017, V. 5, no. 1, pp. 35–44 (*In Russian*).
13. Rassabina A.E., Gurjanov O.P., Beckett R.P., Minibayeva F.V. Melanin from the Lichens *Cetraria islandica* and *Pseudevernia furfuracea*: structural features and physicochemical properties. *Biochemistry (Moscow)*. 2020, V. 85, pp. 623–628.
14. Khaymenova T.Yu., Vinnitskaya E.V., Bakulin I.G., Shkurko T.V., Nikitina A.V. Wilson’s disease: modern methods of diagnosis and treatment. *Farmateka*. 2016, no. S5, pp. 81–85 (*In Russian*).
15. Taratina O.V., Lomakina E.Yu., Belousova E.A., Stashuk G.A. Hematologic manifestations of Crohn's disease: two clinical cases. *Almanac of Clinical Medicine*. 2017, V. 45, no. 5, pp. 429–438 (*In Russian*).

Статья поступила в редакцию 21.10.2020