

УДК 577.127.4; 542.06

ЭКСТРАКЦИЯ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ *KOENIGIA WEYRICHII* С ПОМОЩЬЮ ГЛУБОКОЙ ЭВТЕКТИЧЕСКОЙ СМЕСИ ХЛОРИД ХОЛИНА + ГЛИЦЕРИН

© Н.С. Цветов^{1*}, А.В. Коровкина², О.И. Паукшта³

¹ Институт химии и технологии редких элементов и минерального сырья им. И.В. Тананаева, ФИЦ «Кольский научный центр» РАН, ул. Ферсмана, 26а, Апатиты, 184209 (Россия), e-mail: n.tsvetov@ksc.ru

² ФИЦ «Кольский научный центр» РАН, ул. Ферсмана, 14, Апатиты, 184209 (Россия)

³ Геологический институт, ФИЦ «Кольский научный центр» РАН, ул. Ферсмана, 14, Апатиты, 184209 (Россия)

Koenigia Weyrichii (F. Schmidt) T.M. Schust. et Reveal, произрастающая на Кольском полуострове, содержит значительное количество флавоноидов в надземных частях растения, быстро наращивает биомассу и обладает устойчивостью к различным климатическим условиям. Это делает *K. Weyrichii* перспективным источником биологически активных веществ (БАВ) в Арктической зоне. Относительно новым методом извлечения БАВ из растений является применение глубоких эвтектических растворителей (deep eutectic solvents, DES), например, смесь хлорида холина с глицерином, показавшая высокую эффективность экстракции флавоноидов из других растений. Ранее DES не применялись для экстракции БАВ из *K. Weyrichii*. Целью настоящей работы является оценка эффективности ультразвуковой экстракции с использованием традиционных растворителей (вода, этанол) и DES хлорид холина + глицерин и оптимизация условий экстракции. Проведено сравнение общего содержания полифенолов, флавоноидов, антиоксидантной и антирадикальной активности в различных экстрактах. Установлено, что наиболее выгодные условия экстракции: содержание воды в DES – 17.5 масс.%, температура – 65 °С и время – 3 ч. При этом в идентичных условиях экстракции (температура и время) с помощью 60% этанола удастся извлечь больше целевых веществ, чем с помощью DES. Однако DES может рассматриваться как альтернатива использованию этанола. Полученные данные могут быть полезны для дальнейшего развития инновационных технологий экстракции БАВ из растительного материала, а также для использования *K. Weyrichii* в качестве источника БАВ в косметике и пищевой промышленности.

Ключевые слова: *Koenigia Weyrichii*, глубокие эвтектические растворители, флавоноиды, экстракция.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации МК-566.2020.11.

Введение

Koenigia Weyrichii, также часто называемая горец Вейриха, ранее называвшийся *Polygonum Weyrichii* Fr.Schmidt, но в настоящий момент относящаяся к роду *Koenigia* L. (*K. Weyrichii* (F. Schmidt) T.M. Schust. et Reveal) [1, 2], – многолетнее травянистое растение, натурализованное на территории Кольского полуострова в начале XX в. Растение широко распространено по всей территории региона. В сравнении с другими травянистыми растениями *K. Weyrichii* содержит в надземных частях (листьях и соцветиях) значительное количество флавоноидов [3]. На накопление флавоноидов влияют и различные факторы окружающей среды, например, длительный фотопериод и пониженные температуры, повышенная солнечная радиация, наблюдающиеся в Арктических широтах [4–7].

Цветов Никита Сергеевич – кандидат химических наук, научный сотрудник, e-mail: n.tsvetov@ksc.ru

Коровкина Анна Викторовна – научный сотрудник лаборатории медицинских и биологических технологий, e-mail: dokktor@list.ru

Паукшта Оксана Ивановна – инженер, e-mail: o.i.paukshta@mail.ru

Флавоноиды, содержащиеся в растениях, обладают антиоксидантными, кардио- и нейропротекторными, противоопухолевыми свойствами и рассматриваются в качестве основы для биологически активных добавок и функционального питания.

* Автор, с которым следует вести переписку.

ния. Поэтому развитие методов извлечения флавоноидов является актуальной научно-исследовательской задачей. В числе направлений исследований можно выделить поиск новых растворителей для извлечения флавоноидов из конкретного растительного материала.

Одними из перспективных экстрагентов являются глубокие эвтектические растворители (deep eutectic solvents, DES) – относительно новый класс органических растворителей, представляющих собой смеси кислот и оснований Бренстеда или Льюиса, температуры плавления которых значительно ниже, чем у индивидуальных компонентов, вследствие образования прочных водородных связей, впервые описанных в работах А. Abbott в 2003–2004 гг. [8, 9]. DES похожи по свойствам на ионные жидкости, однако обладают низкой токсичностью и биоразлагаемостью. С точки зрения технологического применения преимуществами DES являются низкая летучесть, негорючесть и низкая стоимость [10]. В состав DES обычно входит соль четвертичного аммонийного основания, например, хлорид холина, выполняющего роль акцептора водородных связей. Роль донора водородных связей выполняют многоосновные карбоновые кислоты, многоатомные спирты, сахара и т.д. К DES относится, например, смесь хлорида холина с глицерином в молярном соотношении 1 : 2. Температура плавления этой смеси $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ [11]. DES показывают высокую эффективность при экстракции биологически активных соединений из растительного материала, в частности, флавоноидов и других полифенольных веществ. Хорошие результаты по извлечению полезных веществ получены, в том числе, при использовании смеси хлорид холина + глицерин [12].

Поскольку DES являются достаточно вязкими средами, диффузия БАВ из растений и проникновение DES в структуру растительного материала осложнены, поэтому процессы экстракции проводят с дополнительной обработкой ультразвуком или микроволновым излучением [13]. Ультразвуковая экстракция активно используется для извлечения биологически активных соединений из растительного сырья, например, ягод и цветов [14, 15], при этом не вызывая деструкции целевых веществ [16].

Следует отметить, что по найденным литературным данным, ранее глубокие эвтектические растворители не применялись для извлечения флавоноидов именно из *K. Weyrichii* или растений того же семейства. Цель настоящей работы – оценка эффективности ультразвуковой экстракции с использованием традиционных растворителей (вода, этанол) и DES хлорид холина + глицерин для извлечения БАВ из *K. Weyrichii* и оптимизация условий экстракции.

Экспериментальная часть

Использованные реактивы: 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (99%, Sigma-Aldrich), реактив Фолина-Чокалтеу (2M, Sigma-Aldrich), аскорбиновая кислота (>99.7%, HUGESTONE, China), галловая кислота (98% Sigma-Aldrich), рутин ($\geq 94\%$, Sigma-Aldrich), молибдат аммония, дигидрофосфат калия, карбонат натрия, хлорид алюминия, уксусная кислота (все реактивы квалификации ХЧ, Вектон), концентрированная серная кислота (>94%, Невареактив), хлорид холина (99%, Xi'an Rongsheng Biotechnology Co., Ltd.), глицерин (98%, Вектон), этанол (96%, РФК) и дистиллированная вода.

Объекты исследования. Для экстракции были собраны соцветия *K. Weyrichii* на экспериментальной культивируемой площадке ПАБСИ РАН в г. Апатиты в июле 2019 года. Видовая принадлежность была подтверждена специалистами ПАБСИ КНЦ РАН. Соцветия были высушены на воздухе и хранились в соответствии с рекомендациями к высушиванию и хранению растительных материалов для медицины [17]. Для экстракции образцы были измельчены до крупности 1 мм и дополнительно высушены в воздушном термостате при $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 3 ч.

Экстракция. Поскольку DES представляют собой достаточно вязкие среды, для удобства работы их зачастую разбавляют водой. В то же время это может сказываться на эффективности экстракции, поэтому следует определять оптимальное содержание воды в экстрагенте на основе DES.

Для сравнительной оценки экстракционных свойств различных экстрагентов навески по 0.2 г растительного сырья смешивалось с 2 мл воды, 60% этанола, 95% этанола или смеси DES с водой в соотношении 7 : 3 по массе. Ультразвуковая обработка проводилась при $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 1 ч.

Эксперименты по оптимизации условий экстракции с помощью DES проводились в соответствии с полным факторным дизайном эксперимента, при котором тестируются все комбинации значений (уровней) варьируемых параметров, с тремя уровнями для трех параметров: содержание воды в экстрагенте, время экстракции и температура (табл. 1). Для сравнения была проведена оптимизация условий экстракции 60%

этанолом с подбором оптимальных времени и температуры (с теми же уровнями). В качестве аналитического сигнала было выбрано общее содержание флавоноидов, которое было использовано для построения поверхностей откликов.

Общее содержание фенольных компонентов (total phenolic content, TPC) определялось на основе метода, описанного в [18], с небольшими модификациями: 1 мл 0.2 М реактива Фолина-Чокалтеу смешивали с 0.2 мл экстракта, разбавленного в 100 раз. Через 5 мин к смеси добавляли 0.8 мл 5% карбоната натрия и оставляли при комнатной температуре в темноте на час. Оптическую плотность измеряли с помощью фотокориметра КФК-3-01 (ЗОМЗ, Россия, 2010 г.) при длине волны 765 нм. TPC выражается в мг эквивалента галловой кислоты (GAE) на 1 г растительного материала:

$$TPC = \frac{0.1 \cdot (A_{765} - b) \cdot V_{ext}}{a \cdot m_{plant}}, \text{ мг GAE/г,}$$

где A_{765} – оптическая плотность при длине волны 765 нм, а и b – коэффициенты линейного уравнения градуировочного графика (наклон и сдвиг соответственно), V_{ext} – объем экстрагента, m_{plant} – масса растительного материала.

Общее содержание флавоноидов (total flavonoid content, TFC) определялось по методике, описанной в [19, 20]. Для анализа экстракт разбавляли в 5 раз 70% этанолом, отбирали аликвоту 0.05 мл, смешивали с 0.1 мл 2% раствора хлорида алюминия в 95% этаноле и приливали 95% этанол до 2.5 мл. Измерение оптической плотности проводилось при длине волны 415 нм. Общее содержание флавоноидов в экстракте выражается в мг эквивалента рутина (RE) на 1 г растительного материала:

$$TFC = \frac{0.005 \cdot k \cdot A_{415} \cdot V_{ext}}{m_{plant}}, \text{ мг RE/г,}$$

где k – калибровочный коэффициент, A_{415} – оптическая плотность при длине волны 415 нм.

Таблица 1. Значения параметров в полном факторном дизайне эксперимента по оптимизации условий экстракции с помощью DES

Содержание воды, масс. %	Продолжительность, ч	Температура, °C
10	1	25
		50
		75
	3	25
		50
		75
	5	25
		50
		75
30	1	25
		50
		75
	3	25
		50
		75
	5	25
		50
		75
50	1	25
		50
		75
	3	25
		50
		75
	5	25
		50
		75

Общая антиоксидантная активность (total antioxidant activity, TAC) определялась фосфомолибдатным методом на основе [21]. Однако поскольку хлорид холина в присутствии фосфомолибдата аммония образует нерастворимые молибденовые сини [22], оригинальная методика была модифицирована. Для анализа отбирали аликвоту 5 мкл и смешивали с 2 мл 4 мМ молибдата аммония, 28 мМ дигидрофосфата калия в 0.6 М серной кислоте. Растворы нагревали 1.5 ч при 95 °С. Измерение оптической плотности проводилось при длине волны 805 нм. Градуировку осуществляли с использованием растворов аскорбиновой кислоты в этаноле в концентрационном диапазоне 1–20 мг/мл. Также было установлено отсутствие влияния природы растворителя (этанол, вода, используемый DES) на результаты градуировки. Общее содержание антиоксидантных веществ в экстракте выражается в мг эквивалента аскорбиновой кислоты (AAE) на 1 г растительного материала:

$$TAC = \frac{(A_{805} - b) \cdot V_{ext}}{a \cdot m_{plant}}, \text{ мг AAE/г}$$

где A_{805} – оптическая плотность при длине волны 805 нм а и b – коэффициенты линейного уравнения градуировочного графика (наклон и сдвиг соответственно), V_{ext} – объем экстрагента, m_{plant} – масса растительного материала.

Антирадикальная активность (free radical scavenging) определялась DPPH-методом [23]. Для анализа экстракт разбавляли в 400 раз 96% этанолом, отбирали аликвоту 0.05 мл и смешивали с 0.95 мл раствора DPPH в 95% этаноле (4 мг на 100 мл). Смеси термостатировали 30 минут при 30°C. Измерение оптической плотности проводилось при длине волны 505 нм. Степень ингибирования радикала:

$$I = \frac{100 \cdot (A^0 - A^s)}{A^0}, \%$$

где A^0 – оптическая плотность раствора сравнения, содержащего аликвоту 95% этанола, A^s – оптическая плотность измеряемого раствора с аликвотой разбавленного экстракта.

Обработка данных проводилась с помощью программного обеспечения MS Excel 2010. Поиск оптимальных условий экстракции в соответствии с методологией RSM (Response Surface Methodology) и обработка данных ANOVA проводился с помощью DesignExpert 7 (Stat-Ease), в качестве сигнала отклика было выбрано общее содержание флавоноидов.

Обсуждение результатов

Общее содержание полифенольных компонентов, флавоноидов и общая антиоксидантная активность экстрактов, полученных с использованием DES, 95% этанола, 60% этанола приведена на рисунке 1. Можно заметить, что по содержанию полифенольных компонентов большее значение наблюдается для экстрактов, полученных с помощью 60% этанола, превышая таковые для DES на 20 мг GAE/г. Однако указанный параметр для экстрактов с 95% этанолом и водой ниже, чем в случае DES на 5 и 19 мг RE/г соответственно. По общему содержанию флавоноидов экстракт на основе DES превосходит экстракт с 95% на 2 мг RE/г, но уступает экстрактам с 60% этанолом и водой на 32 и 7 мг RE/г соответственно. Общая антиоксидантная активность выше у экстракта на основе 60% этанола, превосходя экстракт на основе DES на 8 мг AAE/г, в то время как экстракты с 95% этанолом и водой обладают общей антиоксидантной активностью ниже, чем в случае DES на 5 и 13 мг AAE/г соответственно. Общая антирадикальная активность экстрактов на основе DES ниже, чем в случае использования 95 и 60% этанола на 1 и 5% соответственно, но выше, чем при использовании воды на 3% (рис. 2).

Отсюда можно заключить, что в целом 60% этанол более эффективен для извлечения БАВ в указанных условиях. Однако предполагается, что выход целевых групп веществ при использовании в качестве экстрагента DES возможно повысить, изменяя время и температуру экстракции, что связано с большей вязкостью глубоких эвтектик, по сравнению с этанолом.

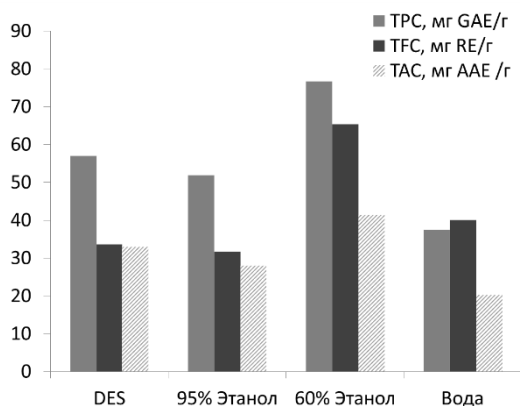


Рис. 1. Экспериментальные данные об общем содержании полифенольных компонентов (TPC), флавоноидов (TFC) и общей антиоксидантной активности (ТАС)

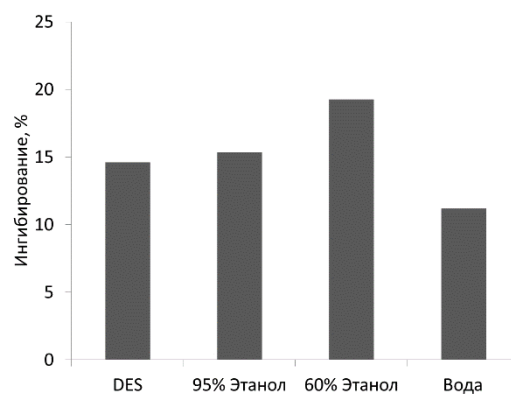


Рис. 2. Экспериментальные данные об антирадикальной активности экстрактов, % ингибирования свободного радикала DPPH

В результате экспериментов по оптимизации условий экстракции с помощью DES были получены значения общего содержания флавоноидов для каждой из выбранных комбинаций содержания воды в DES, температуры и времени. Экспериментальные данные описываются с помощью уравнения

$$TPC=67.3-3.03A+8.37B+1.48C-5.29AB-1.33AC-3.45BC-4.50A^2-8.62B^2-5.60C^2+5.79ABC+1.59A^2B+1.58A^2C+4.59AB^2+6.47AC^2-2.82B^2C-1.58BC^2,$$

где А – содержание воды, масс.%, В – температура, °С, С – время экстракции, ч.

Коэффициент $R^2 = 0.9082$, что показывает хорошее качество аппроксимации. Величина «Prob > F» меньше чем 0.05, показывает, что составляющая модели является значимой, как и члены В, АВ, В², С², АВС. Оптимальными условиями экстракции являются содержание воды 17.5 масс.%, температура 65 °С и время 3 ч.

По экспериментальным данным максимального извлечения флавоноидов удалось достичь при экстракции DES с 10 масс. % воды при температуре 50 °С в течение 3 ч (70 мг RE/г), в то время как с помощью 60% этанола максимальное извлечение флавоноидов достигло 75.8 мг RE/г при температуре 50 °С и экстракции в течение 1 ч.

Таблица 2. Результаты расчета ANOVA для экспериментов по оптимизации условий мацерации. А – содержание воды, масс.%, В – время экстракции, часы, С – температура, °С

	Sum of Squares	df	Mean Square	F-Value	p-value Prob > F
Model	3449.38	16	215.59	6.18	0.0030
A	33.00	1	33.00	0.95	0.3535
B	252.34	1	252.34	7.24	0.0227
C	7.86	1	7.86	0.23	0.6451
AB	336.02	1	336.02	9.64	0.0112
AC	21.33	1	21.33	0.61	0.4522
BC	142.83	1	142.83	4.10	0.0705
A ²	121.50	1	121.50	3.49	0.0915
B ²	447.21	1	447.21	12.83	0.0050
C ²	188.16	1	188.16	5.40	0.0425
ABC	267.96	1	267.96	7.69	0.0197
A ² B	10.13	1	10.13	0.29	0.6016
A ² C	10.03	1	10.03	0.29	0.6035
AB ²	84.33	1	84.33	2.42	0.1509
AC ²	167.27	1	167.27	4.80	0.0533
B ² C	31.73	1	31.73	0.91	0.3625
BC ²	10.03	1	10.03	0.29	0.6035
Residual	348.61	10	34.86		
Cor Total	3797.99	26			

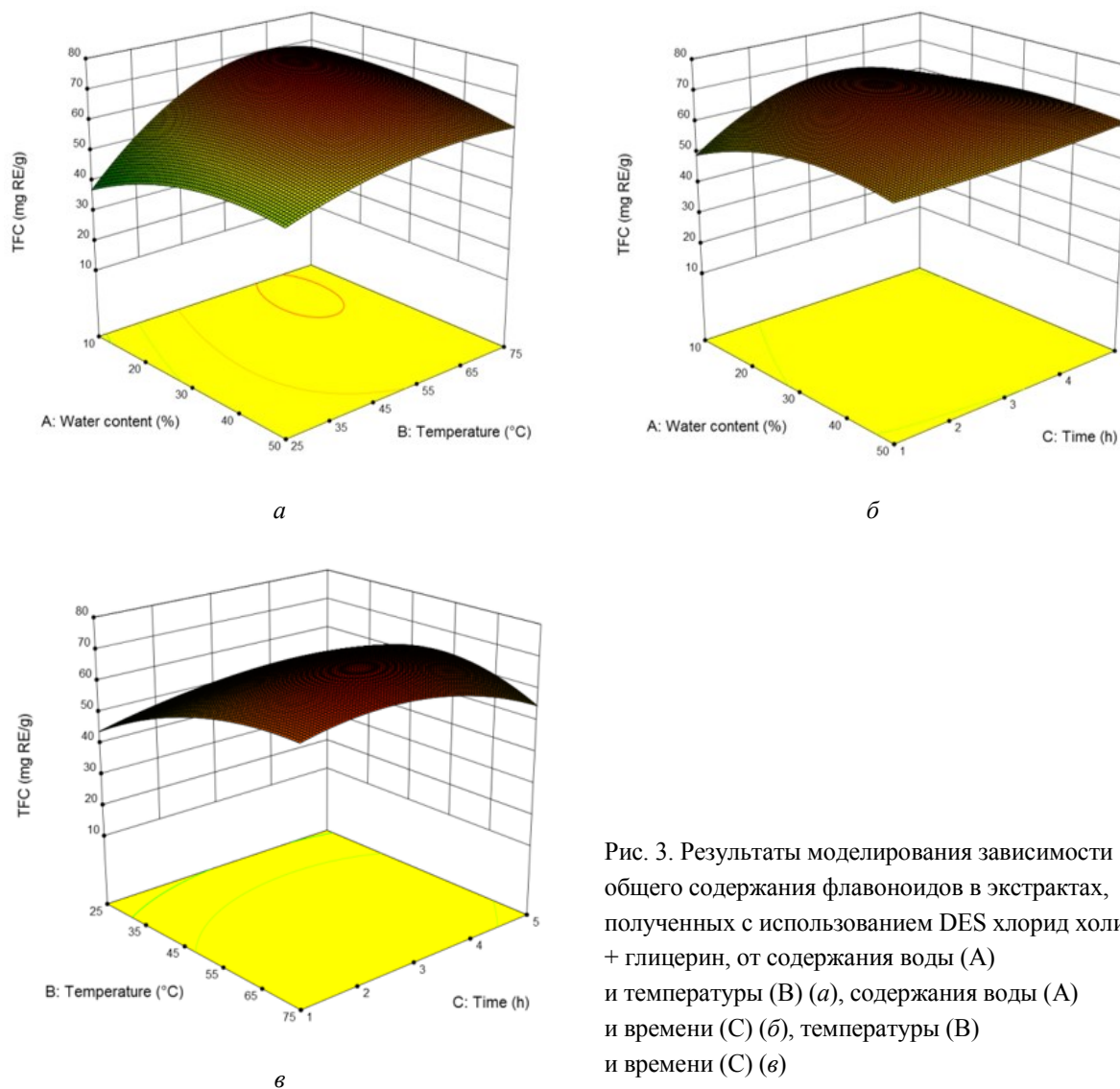


Рис. 3. Результаты моделирования зависимости общего содержания флавоноидов в экстрактах, полученных с использованием DES хлорид холина + глицерин, от содержания воды (A) и температуры (B) (а), содержания воды (A) и времени (C) (б), температуры (B) и времени (C) (в)

Выводы

1. С помощью глубокой эвтектической смеси хлорид холина + глицерин проведена экстракция БАВ из соцветий *K. Weyrichii*. Проведено сравнение общего содержания полифенольных компонентов, флавоноидов, общей антиоксидантной и антирадикальной активности экстрактов на основе DES, 95%, 60% этанола и воды. Показано, что наиболее эффективно БАВ извлекаются с помощью 60% этанола.

2. Проведена оптимизация условий экстракции с помощью рассматриваемого DES, рассчитаны наиболее выгодные условия экстракции: содержание воды в DES – 17,5 масс.%, температура – 65 °C и время – 3 ч.

3. Показано, что в идентичных условиях экстракции (температура и время) с помощью 60% этанола удается извлечь больше целевых веществ, чем с помощью DES.

Полученные данные могут быть полезны для оптимизации процессов извлечения БАВ из *K. Weyrichii* и оценки перспектив использования DES для получения экстрактов из изучаемого растения. Несмотря на то, что 60% этанол показал большую эффективность при экстракции БАВ, в ряде случаев использование рассматриваемого в настоящей работе DES может стать альтернативой традиционным растворителям.

Список литературы

1. Hassannejad S., Ghafarbi S.P. A Taxonomic Revision of Genus *Polygonum* L. sensu lato (Polygonaceae) for Flora of Iran // Annu. Res. Rev. Biol. 2017. P. 1.

2. Schuster T.M. et al. An updated molecular phylogeny of Polygonoideae (Polygonaceae): Relationships of *Oxygonum*, *Pteroxygonum*, and *Rumex*, and a new circumscription of *Koenigia* // *Taxon*. International Association for Plant Taxonomy. 2015. Vol. 64. N6. P. 1188. DOI: 10.12705/646.5.
3. Korovkina A. et al. Herbaceous plants growing in Arctic zones as potential perspective sources of valuable flavonoids // *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 2020. Vol. 613. 012058. DOI: 10.1088/1755-1315/613/1/012058.
4. Jaakola L., Hohtola A. Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants // *Plant. Cell Environ.* 2010. Vol. 33. Pp. 1239–1247. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2010.02154.x.
5. Korovkina A.V., Zhirov V.K. Environmental factors affecting flavonoid accumulation in plants *Polygonum weyrichii* growing in Murmansk region // *Regul. Mech. Biosyst.* Oles Honchar Dnipropetrovsk National University. 2019. Vol. 10. P. 553. DOI: 10.15421/021981.
6. Mayol M. et al. A multiscale approach to detect selection in nonmodel tree species: Widespread adaptation despite population decline in *Taxus baccata* L // *Evol. Appl.* 2020. Vol. 13. P. 143. DOI: 10.1111/eva.12838.
7. Yang L. et al. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors // *Molecules*. 2018. Vol. 23. P. 762. DOI: 10.3390/molecules23040762.
8. Abbott A.P. et al. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures // *Chem. Commun. The Royal Society of Chemistry*. 2003. Vol. 99. P. 70. DOI: 10.1039/b210714g.
9. Abbott A.P. et al. Deep Eutectic Solvents Formed Between Choline Chloride and Carboxylic Acids // *J. Am. Chem. Soc.* 2004. Vol. 126. P. 9142.
10. Tang B., Row K.H. Recent developments in deep eutectic solvents in chemical sciences // *Monatshefte für Chemie - Chem. Mon.* 2013. Vol. 144. P. 1427. DOI: 10.1007/s00706-013-1050-3.
11. Zhang Q.H. et al. Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications // *Chem. Soc. Rev.* 2012. Vol. 41. P. 7108. DOI: 10.1039/C2cs35178a.
12. Ruesgas-Ramón M., Figueroa-Espinoza M.C., Durand E. Application of Deep Eutectic Solvents (DES) for Phenolic Compounds Extraction: Overview, Challenges, and Opportunities // *J. Agric. Food Chem.* 2017. Vol. 65. P. 3591. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b01054.
13. Cunha S.C., Fernandes J.O. Extraction techniques with deep eutectic solvents // *TrAC Trends Anal. Chem.* 2018. Vol. 105. P. 225. DOI: 10.1016/j.trac.2018.05.001.
14. Макарова Н.В., Еремеева Н.Б. Сравнительное изучение влияния ультразвуковых воздействий на экстракцию антиоксидантных соединений ягод черники (*Vaccinium myrtillus* L.) // *Химия растительного сырья*. 2020. №1. С. 167–177. DOI: 10.14258/jcrpm.2020014425.
15. Валеева А.Р., Макарова Н.В., Валиулина Д.Ф. Сравнительная характеристика влияния технологии экстракции на антиоксидантные свойства для плодов и цветков боярышника (*Crataegus*) // *Химия растительного сырья*. 2020. №1. С. 157–166. DOI: 10.14258/jcrpm.2020015168.
16. Зибарева Л.Н., Филоненко Е.С. Влияние ультразвукового воздействия на экстракцию биологически активных соединений растений семейства *Caryophyllaceae* // *Химия растительного сырья*. 2018. №2. С. 145–151. DOI: 10.14258/jcrpm.2018023703.
17. Waterhouse A.L. *Determination of Total Phenolics*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. 2003.
18. Ainsworth E.A., Gillespie K.M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent // *Nat. Protoc.* 2007. Vol. 2. P. 875. DOI: 10.1038/nprot.2007.102.
19. Беликов В.В., Шрайбер М.С. Методы анализа флавоноидов // *Фармация*. 1970. Т. 19. С. 66.
20. Korovkina A.V., Tsvetov N.S., Nikolaev V.G. Flavonoid content and antioxidant activity of extracts of *Polygonum Weyrichii* Fr. Schmidt // *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 2020. Vol. 421. P. 052044. DOI: 10.1088/1755-1315/421/5/052044.
21. Prieto P., Pineda M., Aguilar M. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E // *Anal. Biochem.* 1999. Vol. 269. P. 337. DOI: 10.1006/abio.1999.4019.
22. Wheeldon L.W., Collins F.D. Studies on phospholipids. 3. Determination of choline // *Biochem. J.* 1958. Vol. 70. P. 43. DOI: 10.1042/bj0700043.
23. Blois M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical // *Nature*. 1958. Vol. 181. P. 1199. DOI: 10.1038/1811199a0.

Поступила в редакцию 29 апреля 2021 г.

После переработки 12 августа 2021 г.

Принята к публикации 20 августа 2021 г.

Для цитирования: Цветов Н.С., Коровкина А.В., Паукшта О.И. Экстракция флавоноидов из *Koenigia weyrichii* с помощью глубокой эвтектической смеси хлорид холина + глицерин // *Химия растительного сырья*. 2021. №4. С. 199–206. DOI: 10.14258/jcrpm.2021049530.

Tsvetov N.S.^{1*}, Korovkina A.V.², Paukshta O.I.³ EXTRACTION OF FLAVONOIDS FROM *KOENIGIA WEYRICHII* USING DEEP EUTECTIC MIXTURE OF CHOLINE CHLORIDE + GLYCERINE

¹ Institute of Chemistry and Technology of Rare Elements and Mineral Resources named after I.V. Tananaeva, Federal Research Center "Kola Science Center" RAS, ul. Fersmana, 26a, Apatity, 184209 (Russia), e-mail: n.tsvetov@ksc.ru

² Laboratory of Medical and Biological Technologies, Federal Research Center "Kola Scientific Center" RAS, ul. Fersmana, 14, Apatity, 184209 (Russia)

³ Geological Institute, Federal Research Center "Kola Science Center" RAS, ul. Fersmana, 14, Apatity, 184209 (Russia)

Koenigia Weyrichii (F. Schmidt) T.M. Schust. et Reveal, which grows on the Kola Peninsula, contains a significant amount of flavonoids in the aerial parts of the plant, rapidly builds up biomass, and is resistant to various climatic conditions. This makes *K. Weyrichii* a promising source of biologically active substances (BAS) in the Arctic zone. A relatively new method for extracting biologically active substances from plants is the use of deep eutectic solvents (DES), for example, a mixture of choline chloride with glycerol, which has shown high efficiency in the extraction of flavonoids from other plants. Previously, DES was not used for the extraction of biologically active substances from *K. Weyrichii*. The aim of this work is to evaluate the efficiency of ultrasonic extraction using traditional solvents (water, ethanol) and DES choline chloride + glycerol and to optimize the extraction conditions. Comparison of the total content of polyphenols, flavonoids, antioxidative, and antiradical activity in various extracts is carried out. It was found that the most favorable conditions for extraction are: water content in DES – 17.5 wt%, temperature – 65 °C, and time – 3 hours. At the same time, under identical extraction conditions (temperature and time), more target substances can be extracted with 60% ethanol than with DES. However, DES can be seen as an alternative to using ethanol. The data obtained can be useful for the further development of innovative technologies of the extraction of biologically active substances from plant material. Also, *K. Weyrichii* may be considered as a source of biologically active substances in cosmetics and the food industry.

Keywords: *Koenigia Weyrichii*, deep eutectic solvents, flavonoids, extraction.

References

1. Hassannejad S., Ghafarbi S.P. *Annu. Res. Rev. Biol.*, 2017, p. 1.
2. Schuster T.M. et al. *Taxon. International Association for Plant Taxonomy*, 2015, vol. 64, no. 6, p. 1188. DOI: 10.12705/646.5.
3. Korovkina A. et al. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, 2020, vol. 613, 012058. DOI: 10.1088/1755-1315/613/1/012058.
4. Jaakola L., Hohtola A. *Plant. Cell Environ.*, 2010, vol. 33, pp. 1239–1247. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2010.02154.x.
5. Korovkina A.V., Zhirov V.K. *Regul. Mech. Biosyst. Oles Honchar Dnipropetrovsk National University*, 2019, vol. 10, p. 553. DOI: 10.15421/021981.
6. Mayol M. et al. *Evol. Appl.*, 2020, vol. 13, p. 143. DOI: 10.1111/eva.12838.
7. Yang L. et al. *Molecules*, 2018, vol. 23, p. 762. DOI: 10.3390/molecules23040762.
8. Abbott A.P. et al. *Chem. Commun. The Royal Society of Chemistry*, 2003, vol. 99, p. 70. DOI: 10.1039/b210714g.
9. Abbott A.P. et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, vol. 126, p. 9142.
10. Tang B., Row K.H. *Monatshefte für Chemie - Chem. Mon.*, 2013, vol. 144, p. 1427. DOI: 10.1007/s00706-013-1050-3.
11. Zhang Q.H. et al. *Chem. Soc. Rev.*, 2012, vol. 41, p. 7108. DOI: 10.1039/C2cs35178a.
12. Ruesgas-Ramón M., Figueroa-Espinoza M.C., Durand E. *J. Agric. Food Chem.*, 2017, vol. 65, p. 3591. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b01054.
13. Cunha S.C., Fernandes J.O. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 2018, vol. 105, p. 225. DOI: 10.1016/j.trac.2018.05.001.
14. Makarova N.V., Yeremeyeva N.B. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2020, no. 1, pp. 167–177. DOI: 10.14258/jcprm.2020014425. (in Russ.).
15. Valeyeva A.R., Makarova N.V., Valiulina D.F. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2020, no. 1, pp. 157–166. DOI: 10.14258/jcprm.2020015168. (in Russ.).
16. Zibareva L.N., Filonenko Ye.S. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2018, no. 2, pp. 145–151. DOI: 10.14258/jcprm.2018023703. (in Russ.).
17. Waterhouse A.L. *Determination of Total Phenolics*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. 2003.
18. Ainsworth E.A., Gillespie K.M. *Nat. Protoc.*, 2007, vol. 2, p. 875. DOI: 10.1038/nprot.2007.102.
19. Belikov V.V., Shrayber M.S. *Farmatsiya*, 1970, vol. 19, p. 66. (in Russ.).
20. Korovkina A.V., Tsvetov N.S., Nikolaev V.G. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, 2020, vol. 421, p. 052044. DOI: 10.1088/1755-1315/421/5/052044.
21. Prieto P., Pineda M., Aguilar M. *Anal. Biochem.*, 1999, vol. 269, p. 337. DOI: 10.1006/abio.1999.4019.
22. Wheeldon L.W., Collins F.D. *Biochem. J.*, 1958, vol. 70, p. 43. DOI: 10.1042/bj0700043.
23. Blois M.S. *Nature*, 1958, vol. 181, p. 1199. DOI: 10.1038/1811199a0.

Received April 29, 2021

Revised August 12, 2021

Accepted August 20, 2021

For citing: Tsvetov N.S., Korovkina A.V., Paukshta O.I. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 4, pp. 199–206. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2021049530.

* Corresponding author.