

Твердофазное концентрирование фенольных веществ из водных экстрактов лекарственного растительного сырья на примере зверобоя (*Hypericum perforatum* L.)

*Е.А. Шилько, В.В. Милевская, З.А. Темердашев, Н.В. Киселева

Кубанский государственный университет,
350040, Российская Федерация, г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149

*Адрес для переписки: Шилько Елена Александровна, E-mail: elenashilko94@gmail.com

Поступила в редакцию 18 июля 2018 г., после доработки – 24 августа 2018 г.

Проведено изучение твердофазного извлечения фенольных соединений из экстрактов растительного сырья с использованием ряда концентрирующих материалов различного состава. В качестве сорбентов изучены материалы на основе октадецилсилана (Strata C18-E), сополимера стирола и дивинилбензола (Strata X) и графитированного углерода (Supelclean ENVI-Carb). Проведена сравнительная оценка сорбционных характеристик этих материалов в условиях конкурентной динамической сорбции фенольных соединений различного строения из их экстрактов. На основе полученных сорбционных характеристик («объемы до проскока» изучаемых соединений и динамические емкости сорбентов) оптимизированы условия десорбции 9 фенольных веществ; установлены степени извлечения и коэффициенты концентрирования для каждого соединения. Показано, что сорбентами с привитой группой C18 возможно отдельно извлекать флавоноиды и их гликозиды, а для одновременного извлечения и флавоноидов, и фенольных кислот целесообразно использовать полимерный тип сорбента, с использованием которого наблюдаются высокие степени извлечения компонентов, несмотря на различную природу растительной матрицы объектов: зверобоя (*Hypericum perforatum* L.), чабреца (*Thymus serpyllum* L.), крапивы (*Urtica dioica* L.), липы (*Tilia cordata* Mill.). Для фенолкарбонных и производных коричных кислот степени извлечения находятся в пределах 92–107 %, а для флавоноидов – 87–122 %. Обоснована перспективность использования графитированного сорбента для извлечения и концентрирования различных представителей фенольного ряда растительного происхождения.

Ключевые слова: твердофазная экстракция (ТФЭ), флавоноиды, фенольные кислоты, лекарственное растительное сырье, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2018, vol. 22, no. 3, pp. 303-314

DOI: 10.15826/analitika.2018.22.3.013

Solid phase concentration of phenolic compounds from the aqueous medicinal raw plant material extracts on the example of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.)

*E.A. Shil'ko, V.V. Milevskaya, Z.A. Temerdashev, N V. Kiseleva,

Kuban State University» (KubSU), ul. Stavropolskaia, 149, Krasnodar, 350040, Russian Federation

* Corresponding author: Elena A. Shil'ko, E-mail: elenashilko94@gmail.com

Submitted 18 July 2018, received in revised form 24 August 2018

The investigation of the phenolic compounds solid-phase extraction from the medicinal raw plant material extracts using several concentrating materials of various compositions was carried out. The sorbents based on the octadecylsilane (Strata C18-E), styrene-divinylbenzene copolymer (Strata X) and graphitized carbon (Supelclean ENVI-Carb) were studied. The comparative evaluation of their sorption parameters under the competitive dynamic sorption conditions of various phenolic compounds from their extracts was performed. On the basis of the sorption parameters ("breakthrough volumes" and dynamic sorbent capacities), the desorption conditions of 9 phenolic substances were optimized; recoveries and concentration factors for

each compound were established. It was shown that the flavonoids and their glycosides can be selectively extracted by C18 sorbents, and it was expedient to use a polymeric type of sorbent for the simultaneous extraction of both flavonoids and phenolic acids. In that case the high recoveries of phenolic components were observed, despite the different plant matrix of the following objects: St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.), thyme (*Thymus serpyllum* L.), nettle (*Urtica dioica* L.), linden (*Tilia cordata* Mill.). The recoveries for the phenolcarboxylic and cinnamic acid derivatives ranged from 92 to 107%, and for flavonoids – 87 to 122% respectively. The perspective of using graphitized carbon sorbent for the various phenolic compounds' extracting and concentrating were discussed.

Key words: solid phase extraction (SPE), flavonoids, phenolic acids, medicinal raw material, HPLC.

ВВЕДЕНИЕ

Экстракция активных компонентов из лекарственного растительного сырья (ЛРС) является важной стадией химического анализа, лимитирующей аналитический цикл. На данном этапе возможны очистка экстрактов растительного материала от мешающих компонентов, концентрирование целевых соединений, а также перевод их в аналитическую форму при необходимости [1]. С этими задачами достаточно успешно справляется твердофазная экстракция (ТФЭ), использование которой может быть эффективно при извлечении активных компонентов из сложной растительной матрицы. Растительные образцы, например, зверобой продырявленный, проявляющий ноотропные свойства в организме человека, содержат большое разнообразие компонентов, однако только определенные классы соединений отвечают за фармакологическую активность лекарственных растений, например, фенольные соединения [2]. В настоящее время для твердофазного извлечения фенольных веществ используются такие сорбционные материалы, как химически модифицированный силикагель [3-8], полимерные материалы [5, 9-14], молекулярно импринтированные [15] и ионообменные сорбенты [16-18]. Примеры использования различных сорбентов для извлечения фенольных соединений (ФС) из ЛРС представлены в табл. 1. Химически модифицированный силикагель с привитыми октадецильными группами используют, в основном, для очистки полученных экстрактов без концентрирования целевых соединений [4, 19-21]. В отличие от сорбентов с привитыми октадецильными группами полимерные материалы чаще применяются для целей концентрирования фенолкарбоновых кислот и флавоноидов [12]. На сегодняшний день материалы на основе графитированного углерода практически не используются для сорбции фенольных компонентов растительного происхождения [9, 12]. Однако, учитывая структуру и свойства углеродного сорбента [22, 23], представляет несомненный интерес проведение исследований, направленных на установление возможности концентрирования аналитов фенольного происхождения с использованием данного материала.

Другой важной задачей при проведении ТФЭ является десорбция фенольных кислот, флавоноидов и их гликозидов с сорбента элюентами для обе-

спечения приемлемой степени их извлечения. Для этих целей используют спирты, чаще всего метанол [9, 24], а для смыва фенолкарбоновых и коричных кислот – водно-спиртовые смеси различного состава [4, 11, 20] и смесь 0.2 М фосфорной кислоты с метанолом [3, 6, 8, 19]. Как видно из табл. 1, в большинстве случаев используют один тип сорбента для извлечения фенольных компонентов из экстрактов ЛРС без концентрирования соединений. В литературе также отсутствует сравнительный анализ эффективности сорбентов различной природы для концентрирования ФС из одного типа ЛРС. Данный пробел может быть устранен путем получения и сравнения основных сорбционных характеристик концентрирующих материалов относительно конкретных целевых веществ на фоне других компонентов комплексного состава образца.

Целью нашей работы являлось изучение основных сорбционных характеристик ряда концентрирующих материалов различной природы для целей твердофазного извлечения фенольных соединений из экстрактов растительного сырья на примере зверобоя продырявленного.

Экспериментальная часть

Объекты исследования – трава зверобоя (*Hypericum perforatum* L.), трава чабреца (*Thymus serpyllum* L.), листья крапивы (*Urtica dioica* L.), соцветия липы (*Tilia cordata* Mill.) торговой марки «Травы Кавказа» (Краснодарский край, г. Горячий Ключ). Перед анализом сырье измельчали до размеров частиц 0.5–1 мм.

Растворители, реагенты и стандартные образцы. Деионизованную воду с удельным сопротивлением 18.2 МОм·см (при 25 °С) получали на установке Milli-Q-UV (Millipore, Франция). Для приготовления элюента для ВЭЖХ применяли ацетонитрил (HPLC-S, «Biosolve BV», Netherland), муравьиную кислоту (85 %, «ЛенРеактив», Россия); для понижения pH экстрактов – соляную кислоту («х.ч.», «Реахим», Россия); для десорбции аналитов с сорбентов – метанол («х.ч.», ЗАО «Вектон», Россия). Идентификацию и оценку содержания аналитов проводили с применением стандартных образцов: 3,4-дигидроксibenзойная (3,4-ДБК), неохлорогеновая (НК) и хлорогеновая кислоты (ХК), (–)-эпикатехин (ЭПК), рутин (РТ), гиперозид (ГД), изокверцитрин (ИК), кверцитрин (КЦ), кверцетин (КВ) (Sigma-Aldrich, Германия).

Таблица 1

Примеры ТФЭ фенольных соединений ЛРС с использованием сорбентов различной природы

Table 1

SPE examples of phenolic compounds from medicinal raw plant material by applying different sorbents

Аналиты	Тип сорбента	Элюирование	Метод определения	R, %	Литература
3,4-дигидрок- сибензойная, кофейная и хлорогено- вая кислоты	BakerBond C18	вода-метанол (70:30;v/v)	ОФ-ВЭЖХ	-	[4]
	BakerBond quaternary amine N ⁺	0.2 М фосфорная кислота - метанол (1:1;v/v)	ОФ-ВЭЖХ	97-102	[3]
	Oasis HLB	метанол-вода, pH 2.5 (80:20;v/v)	ВЭЖХ	88-99	[11]
	МИП	метанол-уксусная кислота (9:1;v/v)	ВЭЖХ	77	[15]
	BakerBond quaternary amine N ⁺	0.2 М фосфорная кислота - метанол (1:1;v/v)	ОФ-ВЭЖХ	98.5 ± 0.5	[6]
	BakerBond quaternary amine N ⁺	0.2 М фосфорная кислота - метанол (1:1;v/v)	ОФ-ВЭЖХ	98.5 ± 0.5	[19]
	BakerBond quaternary amine N ⁺	0.2 М фосфорная кислота - метанол (1:1;v/v)	ОФ-ВЭЖХ	-	[8]
	C18	10% метанол	ОФ-ВЭЖХ	87	[20]
	Oasis HLB	метанол	ВЭЖХ	-	[14]
(-)-эпикатехин	Waters C18	16%-ый ацетонитрил (pH 2), этилацетат	ВЭЖХ	-	[21]
	C18 LiChrolut	метанол-1% уксусная кислота (90:10, v/v)	ВЭЖХ	85 ± 5	[10]
	Oasis HLB			70 ± 2	
	Bond Elut Plexa	метанол	УВЭЖХ	55.8	[22]
рутин	Bond Elut Plexa	метанол	УВЭЖХ	92.4	[22]
	Strata-X	метанол	ВЭЖХ	-	[9]
	C18 LiChrolut	метанол-1% уксусная кислота (90:10, v/v)	ВЭЖХ	94 ± 5	[10]
	Oasis HLB			60 ± 6	
	Waters C18	16%-ый ацетонитрил (pH 2), этилацетат	ВЭЖХ	-	[21]
кверцетин	Strata-X	метанол	ВЭЖХ	-	[9]
	Oasis MAX	метанол + 2% муравьиная кислота	ВЭЖХ	86 ± 3	[17]
кверцитрин	Bond Elut Plexa	метанол	УВЭЖХ	95.7	[22]
изокверцитрин	Bakerbond C18	80% метанол	ВЭЖХ	102.9	[7]

Примечания: «-» – нет данных; ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография; ОФ-ВЭЖХ – обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография; УВЭЖХ – ультра-высокоэффективная жидкостная хроматография; R – степень извлечения.

Оборудование. Хроматографическое определение компонентов осуществляли на жидкостном хроматографе «LC 20 Prominence» (Shimadzu, Япония) с дегазатором DGU-20A5, насосом LC20AD, автоматическим дозатором SIL-20A, термостатом колонок CTO-20AC и спектрофотометрическим детектором на основе диодной матрицы SPD-M20A. Экстракты зверобоя получали на микроволновой установке ETHOS EX («Milestone», Италия). Контроль pH проводили на pH-метр-ионере «Эксперт-001» (ООО «Эконикс-Эксперт», Россия).

Концентрирующие материалы. В качестве концентрирующих материалов использовали патроны Strata C18-E (Phenomenex, США), масса 100 мг, размер частиц 55 мкм, диаметр пор 7 нм; Strata X (Phenomenex, США), масса 100 мг, размер частиц 33 мкм, диаметр пор 85 нм; углеродный со-

рбент Supelclean Envi-Carb (Supelco, США), масса 500 мг, размер частиц 37-125 мкм. Активацию сорбентов на основе химически модифицированного силикагеля и полимерного материала проводили путем их последовательного промывания 1 мл деионизованной воды, 1 мл ацетонитрила/метанола и 5 мл деионизованной воды с учетом рекомендаций фирмы производителя [25]. Активацию углеродного сорбента осуществляли последовательным промыванием 5 мл деионизованной воды, 5 мл ацетонитрила/метанола и 15 мл деионизованной воды [26].

Приготовление экстракта ЛРС. Микроволновую экстракцию фенольных соединений из ЛРС проводили согласно [27], используя в качестве экстрагента деионизованную воду. pH полу-

ченного водного экстракта зверобоя составлял 5.00 ± 0.13 единиц.

Установление сорбционных характеристик исследуемых материалов. Для изучения процессов сорбции и десорбции компонентов с сорбентов использовали насос LC20AD (Shimadzu, Япония). Динамические кривые сорбции получали пропусканием водных экстрактов ЛРС через патроны с сорбентами со скоростью 1 мл/мин, контролируя содержание аналитов в каждой порции элюата методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием (ВЭЖХ-ДМД). Затем сорбент сушили в токе азота, используя генератор азота LCMS30-1 (Dornick Hunter, США). Десорбцию аналитов с поверхности сорбента проводили метанолом или ацетонитрилом. Содержание определяемых компонентов в экстрактах и элюатах устанавливали методом ВЭЖХ-ДМД. «Объемы до проскока» рассчитывали согласно подходу, описанному в работе [28]. Расчет динамической емкости для каждого типа сорбента проводился по формуле [29]:

$$DE = \frac{C_0 * V_b}{m * 1000},$$

где DE – динамическая емкость сорбента, моль/г; C_0 – концентрация аналита в исходном растворе (экстракте), моль/л; V_b – «объем до проскока» аналита, мл; m – масса сухого сорбента, г.

Установление степени извлечения фенолкарбоновых кислот и флавоноидов из экстрактов ЛРС на сорбентах Strata C18-E, Strata X и Supelclean ENVI-Carb. Для расчета степени извлечения каждого соединения пропускали определенный объем экстракта ЛРС через патрон с сорбентом, принимая во внимание установленные «объемы до проскока» соединений, затем сушили сорбент в токе азота и проводили десорбцию аналитов метанолом или ацетонитрилом. Степень извлечения аналитов рассчитывали по формуле:

$$R = \frac{m_1}{m_2} * 100,$$

где R – степень извлечения аналита, %; m_1 – масса аналита в элюате, мкг; m_2 – масса аналита в исходном экстракте, мкг.

Коэффициенты концентрирования рассчитывали как отношение концентраций аналитов в элюате к их концентрациям в исходном экстракте ЛРС.

Хроматографическое определение фенолкарбоновых кислот и флавоноидов в экстрактах ЛРС. Определение фенолкарбоновых кислот и флавоноидов осуществляли в условиях, аналогичных [27]. Для хроматографирования аналитов использовали колонку Luna C18 100A, 250×2.0 мм, 5 мкм (Phenomenex, США), снабженную предколонкой C18 4×2.0 мм, 5 мкм (Phenomenex, США). Градуировочные зависимости для изучаемых фитоконпонентов получали с использованием стандартных образцов [30]. Линейность отклика сигнала опреде-

ляли для 8 уровней концентраций всех соединений, для рутина – 12 уровней концентрации растворов основного вещества; в каждом случае проводили не менее трех параллельных измерений для одной концентрации раствора. Все градуировочные кривые строили по данным 6 параллельных измерений. Для рутина градуировочный график линейен в диапазоне 1–200 мкг/мл, для всех остальных соединений – 1–100 мкг/мл с коэффициентами корреляции ≥ 0.998 . Пределы обнаружения аналитов составляли для фенолкарбоновых кислот – 0.10–0.13 мкг/мл, флавоноидов и их гликозидов – 0.07–0.20 мкг/мл. Пределы определения для фенолкарбоновых кислот составили 0.49–0.78 мкг/мл, флавоноидов – 0.32–1.2 мкг/мл [27]. Экспериментальные данные обрабатывали в программной среде LCMS Solution (Shimadzu, Япония).

Результаты и обсуждения

На процесс концентрирования ФС сорбентами различной природы влияет множество факторов: материал сорбента, pH среды, физико-химические свойства сорбируемых веществ, природа растительной матрицы и другие [29]. Наличие матричного эффекта затрудняет процедуру твердофазного извлечения соединений из экстрактов лекарственного растительного материала, поэтому установление сорбционных характеристик концентрирующих материалов целесообразнее проводить на реальном образце [29], так как создать искусственные смеси, приближенные по составу к реальным, весьма проблематично. Существует ряд сорбционных характеристик, которые активно используют для установления возможности концентрирования во время процедуры ТФЭ аналитов различной природы. Одним из основных сорбционных параметров является «объем до проскока» (V_b), который определяется на уровне 5–10 % от исходной концентрации соединения в растворе. Динамическая емкость сорбентов служит критерием для сравнения эффективности различных концентрирующих материалов, так как позволяет учитывать разницу в массах сорбентов, что важно, например, при использовании коммерчески доступных концентрирующих патронов [29].

В качестве объекта исследования был выбран зверобой продырявленный, так как данный вид ЛРС содержит одновременно такие группы веществ, как фенолкарбоновые кислоты, производные коричных кислот, флавоноиды и их гликозиды и другие. Возможность концентрирования соединений фенольного происхождения из водных экстрактов зверобоя устанавливали на октадецилсиликагеле Strata C18-E, сополимере стирола и дивинилбензола Strata X, а также графитированном материале Supelclean ENVI-Carb. Для этого рассчитывали «объемы до проскока» компонентов и динамические емкости сорбентов по отношению к ним на основе динамических кривых сорбции. Расчет проводили

Таблица 2

Сорбционные характеристики Strata C18-E по отношению к некоторым фенольным соединениям (pH = 5)

Table 2

Strata C18-E sorption parameters for several phenolic compounds (pH = 5)

Параметр	3,4-ДБК	НК	ХК	ЭПК	РТ	ГД	ИК
V_b , мл	-	-	-	0.2	0.3	0.4	0.8
ДЕ, $\cdot 10^{-7}$ моль/г	-	-	-	0.70 ± 0.07	9 ± 1	7 ± 0.7	5 ± 0.3

Примечания: «-» – нет данных; V_b – «объем до проскока»; ДЕ – динамическая емкость.

Таблица 3

Сорбционные характеристики Strata C18-E по отношению к некоторым фенольным соединениям (pH = 2)

Table 3

Strata C18-E sorption parameters for several phenolic compounds (pH = 2)

Соединение	V_b , мл ($S_r \leq 0.15$)	ДЕ, $\cdot 10^{-7}$ моль/г ($S_r \leq 0.15$)	Десорбция ацетонитрилом		Десорбция метанолом	
			R, %	K_{C18}	R, %	K_{C18}
3,4-дигидроксibenзойная кислота	0.1	0.33 - 2.7	-	-	-	-
Неохлорогеновая кислота	0.3		-	-	-	-
Хлорогеновая кислота	0.4		-	-	-	-
(-)-эпикатехин	0.7	2 - 19	83 ± 12	2	90 ± 1	5
Рутин	0.7		85 ± 4	2	99 ± 12	5
Гиперозид	0.6		98 ± 8	2	98 ± 14	5
Изокверцитрин	0.6		94 ± 8	2	105 ± 9	5
Кверцитрин	1.0		102 ± 9	2	79 ± 14	5

Примечание: «-» – нет данных; V_b – «объем до проскока»; ДЕ – динамическая емкость; R – степень извлечения; K_{C18} – коэффициент концентрирования аналитов на сорбенте Strata C18-E.

согласно подходу, описанному в работе [28]. С учетом возможной преждевременной десорбции фенолкарбоновых кислот с твердофазных сорбентов при применении водно-спиртовых извлечений [31] использовали водные экстракты зверобоя для целей концентрирования данных соединений.

Концентрирование фенольных веществ на сорбенте Strata C18-E из экстрактов зверобоя. Химически модифицированный силикагель обычно используют для извлечения неполярных или слабо полярных соединений [32]. Но данный

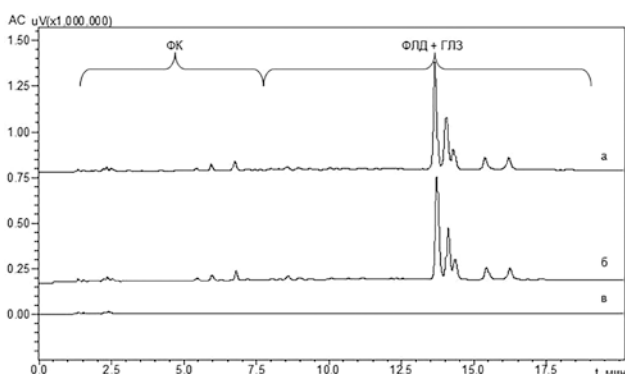


Рис. 1. Хроматограммы экстрактов зверобоя (а) после пропускания 0.5 мл с pH = 5 (б), 0.5 мл с pH = 2 (в) через сорбент Strata C18-E. ФК – фенолкарбоновые кислоты; ФЛД + ГЛЗ – флавоноиды и их гликозиды

Fig. 1. Chromatograms of St. John's Wort extract (a) after 0.5 ml with pH = 5 (б), 0.5 ml with pH = 2 (в) were passed through the sorbent Strata C18-E

тип сорбентов исследователями чаще всего применяется лишь для очистки полученных экстрактов от коэкстрактивных веществ без концентрирования целевых аналитов [4, 32, 33]. Возможность концентрирования ФС на данном типе сорбента оценивалась с использованием полученных «объемов до проскока» (V_b) аналитов и динамических емкостей сорбента по отношению к ним (табл. 2). Установлено, что удерживание фенольных кислот при pH = 5 на сорбенте Strata C18-E недостаточно для их концентрирования, а для большинства флавоноидов «объемы до проскока» меньше 1 мл.

С другой стороны, увеличить «объемы до проскока» возможно при более низких значениях pH экстрактов для перевода молекул фенольных соединений в неионную форму, что способствует их сродству к функциональным группам C18. Как видно на рис. 1, после сорбции из 0.5 мл водных извлечений зверобоя на Strata C18-E уже наблюдается «проскок» аналитов, а при низких значениях (pH = 2) происходит их удерживание, что подтверждается отсутствием регистрации пиков фенольных веществ.

В условиях низких значений pH исходных экстрактов были рассчитаны значения динамической емкости, приведенные в табл. 3.

Далее проводили оценку эффективности десорбции компонентов с поверхности Strata C18-E ацетонитрилом и метанолом. В этих условиях наблюдается коэффициент концентрирования флавоноидов, равный пяти, а степени извлечения (-)-эпикатехина, рутина, гиперозиды, изокверцитрина, кверцитрина

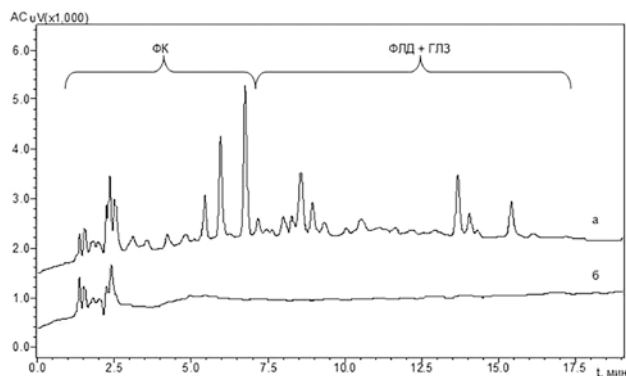


Рис. 2. Хроматограммы водных извлечений зверобоя после пропускания 1 мл экстракта через Strata C18-E (а) и Strata X (б). ФК – фенолкарбоновые кислоты; ФЛД + ГЛЗ – флавоноиды и их гликозиды

Fig. 2. Chromatograms of St. John's Wort aqueous extracts after 1 ml was passed through Strata C18-E (a) and Strata X (b)

и кверцетина составляют 90, 99, 98, 105, 79 и 118 % соответственно. Полученные результаты удовлетворительно согласуются с аналогичными характеристиками, полученными на сорбентах Waters C18, C18 Li Chrolut и Bakerbond C18 [7, 10, 21]. Концентрирование же фенольных кислот на данном типе сорбента проблематично ввиду малых значений «объемов до проскока», для этих целей требуется подбор других сорбционных материалов.

Концентрирование фенольных веществ на сорбенте Strata X из экстрактов зверобоя.

Концентрирование ФС из их экстрактов возможно на сорбенте полимерного состава, обладающего хорошо развитой поверхностью (площадь поверхности – 800 кв.м/г) в отличие от сорбента с приви-

тыми октадецильными группами [34]. В этом случае за счет возможных водородных, диполь-дипольных, гидрофобных и π-π взаимодействий между структурой фенольных веществ и материалом сорбента можно ожидать повышение эффективности концентрирования компонентов [25]. Как видно из полученных хроматограмм (рис. 2), фенолкарбоновые кислоты и флавоноиды сильнее удерживаются на полимерном материале, чем на Strata C18, что в результате приводит к увеличению «объемов до проскока» этих соединений.

В табл. 4 сведены данные основных сорбционных характеристик Strata X относительно компонентов фенольного строения. Для флавоноидов «объемы до проскока» составили от 3 до 6 мл, что на порядок превышает данный показатель для Strata C18-E. В условиях низких значений pH экстракта степень извлечения 3,4-дигидроксibenзойной, неохлорогеновой и хлорогеновой кислот составила 105-107 %, а (-)-эпикатехина, рутина, гиперозида, изокверцитрина, кверцитрина и кверцетина – от 90 до 112 % при концентрировании в 5 раз. Полученные значения превышают данные [9, 24], в которых концентрирование флавоноидов на сорбентах Strata X и Bond Elut Plexa не достигалось. Эти результаты позволяют считать данный материал перспективным для концентрирования ФС из экстрактов ЛРС, что позволит снизить пределы детектирования аналитов, особенно в случае «минорных» компонентов, а также их выделения из растительной матрицы для фармакологических целей.

Концентрирование фенольных веществ на сорбенте Supelclean ENVI-Carb из экстрактов зверобоя. С учетом сорбционных характеристик одним из перспективных сорбционных мате-

Таблица 4

Сорбционные характеристики Strata X по отношению к некоторым фенольным соединениям при различных pH

Table 4

Strata X sorption parameters for several phenolic compounds using different pH

Соединение	pH 5		pH 2				
	V_b , мл ($S_r \leq 0.15$)	ДЕ, $\cdot 10^{-6}$ моль/г ($S_r \leq 0.15$)	V_b , мл ($S_r \leq 0.10$)	ДЕ, $\cdot 10^{-6}$ моль/г ($S_r \leq 0.10$)	R_1 , %	R_2 , %	K_{sx}
3,4-дигидроксibenзойная кислота	1	0.35 – 0.99	5	1.7 – 3.7	82 ± 4	106 ± 1	5
Неохлорогеновая кислота	1		4		95 ± 11	106 ± 1	5
Хлорогеновая кислота	1		5		49 ± 3	107 ± 1	5
(-)-эпикатехин	6	1.3 – 9.8	6	2.2 - 12	83 ± 12	99 ± 1	5
Рутин	3		3		62 ± 3	105 ± 1	5
Гиперозид	4		6		78 ± 6	106 ± 1	5
Изокверцитрин	4		6		63 ± 5	107 ± 1	5
Кверцитрин	3		6		75 ± 7	112 ± 3	5

Примечание: V_b – «объем до проскока»; ДЕ – динамическая емкость; R_1 – степень извлечения при десорбции ацетонитрилом; R_2 – степень извлечения при десорбции метанолом; K_{sx} – коэффициент концентрирования аналитов на сорбенте Strata X.

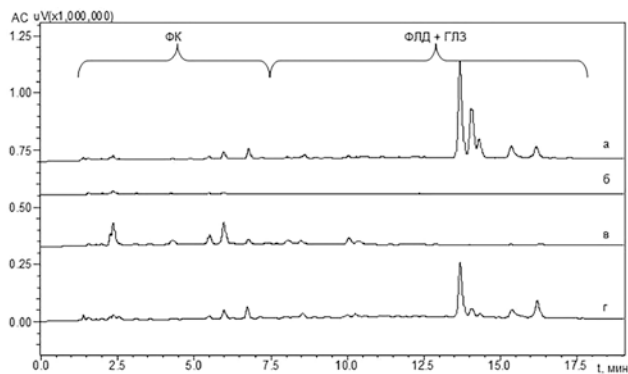


Рис. 3. Хроматограммы водных извлечений зверобоя (а) после пропускания через Supelclean ENVI-Carb 25 мл (б), 35 мл (в); 100 мл (г) экстракта. ФК – фенолкарбоновые кислоты; ФЛД + ГЛЗ – флавоноиды и их гликозиды

Fig. 3. Chromatograms of St. John's Wort aqueous extracts (a) after 25 ml (б), 35 ml (в); 100 ml (г) were passed through Supelclean ENVI-Carb

риалов можно рассматривать углеродный сорбент, обладающий высокой емкостью по сравнению с другими, однако возможность его применения для концентрирования веществ фенольного строения растительного происхождения практически не изучена [35, 36]. В результате проведенных нами исследований установлено, что при использовании графитированного материала Supelclean ENVI-Carb на-

блюдается увеличение удерживания компонентов зверобоя по сравнению с октадецилсиликагелем и сополимером стирола и дивинилбензола (рис. 3). Как видно, при пропускании через патрон 25 мл водного экстракта зверобоя на хроматограмме элюатов не наблюдается пиков целевых соединений, что свидетельствует об их концентрировании на поверхности сорбента, лишь после пропускания 35 мл наблюдается «проскок» фенолкарбоновых кислот, а флавоноиды регистрируются после пропускания более 60 мл экстракта. Анализ основных сорбционных характеристик Supelclean ENVI-Carb по отношению к ФС зверобоя показывает, что в этих условиях удается сконцентрировать данные аналиты в десятки раз (табл. 5).

Полученные значения динамической емкости Supelclean ENVI-Carb выше на порядок в сравнении с аналогичными характеристиками химически модифицированного силикагеля и полимерного сорбента, причем изменение pH незначительно влияет на показатели сорбции флавоноидов и фенолкарбоновых кислот на углеродном материале. Степень извлечения компонентов метанолом на Supelclean ENVI-Carb не превысила 62 % для кислот при $K_{EC} = 7.5$ и 40 % для флавоноидов при $K_{EC} = 30$. Данный показатель значительно уступает степеням извлечения соединений фенольного ряда на Strata C18-E (79–118% для флавоноидов) и Strata-X (106–107 % для кислот и 90–112 % для флавоноидов). Для достижения приемлемых степеней из-

Таблица 5

Сорбционные характеристики Supelclean ENVI-Carb по отношению к некоторым фенольным соединениям

Table 5

Supelclean ENVI-Carb sorption parameters for several phenolic compounds

Соединение	pH 5					pH 2	
	V_b , мл ($S_r \leq 0.2$)	ДЕ, $\cdot 10^{-6}$ моль/г ($S_r \leq 0.2$)	R_1 , %	R_2 , %	K_{EC}	V_b , мл ($S_r \leq 0.2$)	ДЕ, $\cdot 10^{-6}$ моль/г ($S_r \leq 0.2$)
3,4-дигидроксибензойная кислота	15	0.72 – 3.5	22 ± 3	62 ± 8	7.5	20	1.2 – 4.5
Неохлорогеновая кислота	20		<1	3 ± 1	7.5	22	
Хлорогеновая кислота	21		5 ± 1	16 ± 2	7.5	18	
(-)-эпикатехин	18	1.6 - 29	6 ± 1	10 ± 1	7.5	16	1.1 - 26
Рутин	60		<1	5 ± 1	30	46	
Гиперозид	64		<1	5 ± 1	30	42	
Изокверцитрин	70		<1	6 ± 1	30	42	
Кверцитрин	33		7 ± 1	40 ± 9	30	30	

Примечание: V_b – «объем до проскока»; ДЕ – динамическая емкость; R_1 – степень извлечения при десорбции ацетонитрилом; R_2 – степень извлечения при десорбции метанолом; K_{EC} – коэффициент концентрирования аналитов на сорбенте Supelclean ENVI-Carb.

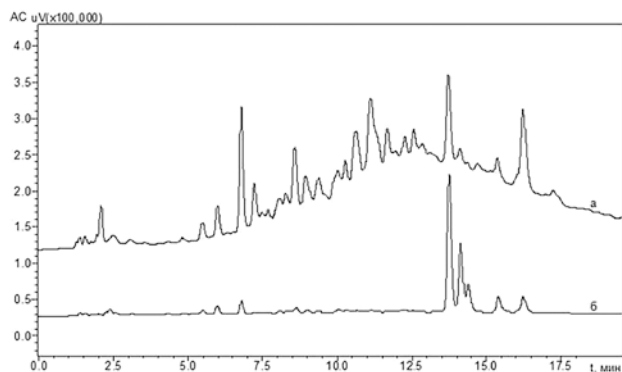


Рис. 4. Хроматограммы, полученные при десорбции ацетонитрилом с сорбента Supelclean ENVI-Carb фенольных соединений (а), содержащихся в водном экстракте зверобоя (б)

Fig. 4. Chromatograms of acetonitrile desorption from Supelclean ENVI-Carb sorbent of phenolic compounds (а), containing in St. John's Wort aqueous extracts (б)

влечения фенолкарбоновых кислот, флавоноидов и их гликозидов на сорбенте Supelclean ENVI-Carb, по-видимому, требуется дополнительная оптимизация состава элюирующей смеси.

При изучении десорбции соединений фенольного ряда с поверхности графитированного сорбента на хроматограммах регистрируются ранее не обнаруживаемые соединения (рис. 4).

В диапазоне времен удерживания от 7.7 минут до 12.56 минут на хроматограмме, полученной при десорбции компонентов зверобоя (рис. 4), наблюдается группа соединений с максимумом поглощения при $\lambda = 280 \pm 2$ нм, что, с учетом литературных данных [37], предположительно можно отнести к соединениям катехинового ряда. Возможность концентрирования аналитов на углеродном материале позволяет расширить круг идентифицированных соединений ЛРС.

Концентрирование кверцетина на различных сорбентах. Кверцетин – основной компонент многих лекарственных растений, поэтому находится в центре большинства исследований на стыке аналитической химии и фармакогнозии [2]. При изучении сорбции кверцетина нами замечено большое сродство к сорбентам Strata C18-E,

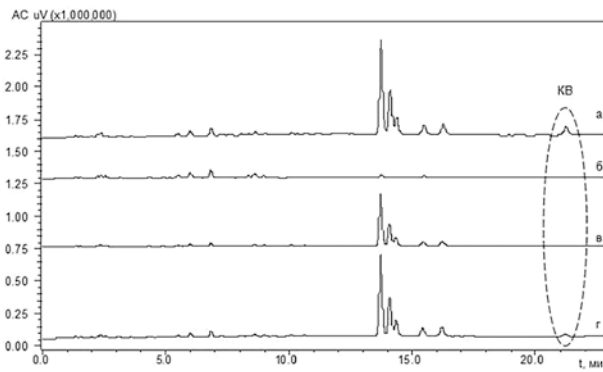


Рис. 5. Хроматограммы водных экстрактов зверобоя (а) после пропускания через сорбент Strata X: 6 мл (б), 30 мл (в); 60 мл (г) раствора. КВ – кверцетин

Fig. 5. Chromatograms of St. John's Wort aqueous extracts (а) after 6 ml (б), 30 ml (в); 60 ml (г) were passed through the sorbent Strata X

Strata X и Supelclean ENVI-Carb, выражающееся в медленной скорости насыщения им сорбентов на фоне уже достигнутого перенасыщения другими ФС зверобоя (рис. 5). Данные рис. 5 свидетельствуют о том, что при сорбции 30 мл экстракта зверобоя на хроматограмме наблюдаются пики всех изучаемых ФС кроме кверцетина, что говорит о его сравнительно большем удерживании на материале сорбента Strata X. Как можно заметить, «проскок» для кверцетина достигается только после сорбции 60 мл экстракта, в то время как концентрация остальных компонентов в элюатах уже достигла первоначального уровня.

Учитывая данный факт, в настоящем исследовании получены только степени извлечения кверцетина на изучаемых сорбентах, исключая «объемы до проскока» и динамические емкости (табл. 6).

Оценка возможности применения разработанной схемы для извлечения и концентрирования фенольных соединений из экстрактов других растительных объектов. С учетом полученных выше результатов, показавших удовлетворительные степени извлечения, а также возможности концентрирования активных компонентов зверобоя на сорбенте Strata X, была рассмотрена возможность извлечения аналогичных компонен-

Таблица 6

Сорбционные характеристики различных концентрационных материалов по отношению к кверцетину

Table 6

Sorption parameters of different sorbents for quercetin

Сорбент	Strata C18-E				Strata X			Supelclean ENVI-Carb		
	$R_1, \%$	K'_{C18}	$R_2, \%$	K^2_{C18}	$R_1, \%$	$R_2, \%$	K_{SX}	$R_1, \%$	$R_2, \%$	K_{EC}
	110 ± 12	2	118 ± 16	5	39 ± 5	90 ± 3	5	<1	<1	30

Примечание: R_1 – степень извлечения при десорбции ацетонитрилом; R_2 – степень извлечения при десорбции метанолом; K'_{C18} – коэффициент концентрирования кверцетина на сорбенте Strata C18-E при десорбции ацетонитрилом; K^2_{C18} – коэффициент концентрирования кверцетина на сорбенте Strata C18-E при десорбции метанолом; K_{SX} – коэффициент концентрирования кверцетина на сорбенте Strata X; K_{EC} – коэффициент концентрирования кверцетина на сорбенте Supelclean ENVI-Carb.

Таблица 7

Степени извлечения фенольных соединений на сорбенте Strata X из экстрактов различных растительных объектов

Table 7

Recoveries of phenolic compounds with sorbent Strata X from the different raw plant material extracts

Соединение	Чабрец (<i>Thymus serpyllum</i> L.)	Крапива (<i>Urtica dioica</i> L.)	Липа (<i>Tilia cordata</i> Mill.)
3,4-дигидроксибензойная кислота	н.о.	н.о.	92 ± 9
Кофейная кислота	98 ± 3	99 ± 2	н.о.
Розмариновая кислота	93 ± 5	н.о.	н.о.
Хлорогеновая кислота	100 ± 1	107 ± 1	н.о.
Неохлорогеновая кислота	94 ± 1	94 ± 1	н.о.
(-)-Эпикатехин	н.о.	н.о.	90 ± 8
Рутин	122 ± 3	87 ± 1	98 ± 11
Кверцитрин	н.о.	н.о.	90 ± 15

Примечание: н.о. – не обнаружено.

тов из экстрактов других растительных образцов – чабреца (*Thymus serpyllum* L.), крапивы (*Urtica dioica* L.) и липы (*Tilia cordata* Mill.). Полученные данные показали, что возможно концентрирование изучаемых аналитов в 5 раз по сравнению с их исходными концентрациями в экстрактах лекарственных растений. Рассчитанные значения степеней извлечения компонентов из экстрактов чабреца, крапивы и липы сведены в табл. 7.

С использованием сорбента на полимерной основе наблюдаются высокие степени извлечения компонентов, несмотря на различную природу растительной матрицы объектов. Для фенол-карбоновых и коричных кислот степени извлечения находятся в пределах 92–107 %, а флавоноидов – 87–122 %. Полученные сорбционные характеристики позволяют считать перспективным использование полимерного сорбента для ТФЭ активных веществ из экстрактов лекарственных трав различного состава и для разработки унифицированного способа концентрирования компонентов фенольного происхождения для аналитических и фармацевтических целей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показана эффективность использования полимерных сорбентов на основе стирола и дивинилбензола в сравнении с октадецилсиликагелем и графитированным материалом для концентрирования растительных производных фенола различного строения из экстрактов лекарственных образцов. В оптимизированных условиях сорбции и десорбции степень извлечения 3,4-дигидроксибензойной, неохлорогеновой и хлорогеновой кислот на сорбенте Strata X составила около 101 %, а (-)-эпикатехина, рутина, гиперозида, изокверцитрина, кверцитрина и кверцетина – от 87 до 122% с коэффициентом концентрирования, равном 5. Исследование сорбции данных соединений на графитированном сорбенте показало перспективную возможность его применения для многократного

концентрирования веществ фенольного ряда из экстрактов ЛРС, за счет чего появляется возможность расширения круга идентифицируемых соединений. Наличие «эндкеппинга» у сорбентов Strata C18-E и понижение pH экстрактов обеспечивает концентрирование производных флавоноидов со степенями их извлечения от 79 до 105 %, однако, концентрирование фенольных кислот возможно только с использованием полимерного ($K_{sx} = 5$) и графитированного сорбентов ($K_{ec} = 7.5$).

Благодарности

Исследования проводили при финансовой поддержке РФФИ (проект № 18-33-00245-мол_а), с использованием научного оборудования ЦКП “Эколого-аналитический центр” Кубанского госуниверситета, уникальный идентификатор RFMEFI59317X0008.

Acknowledgments

This work was funded by RFBR according to the research project № 18-33-00245 with the use of the scientific equipment of the Ecological and Analytical Center, the unique identifier is RFMEFI59317X0008.

ЛИТЕРАТУРА

- Recent advances in solid-phase sorbents for sample preparation prior to chromatographic analysis / Y. Wen [et al.] // Trends. Analyt. Chem. 2014. V. 59. P. 26-41.
- Flavonoids: chemical properties and analytical methodologies of identification and quantitation in foods and plants / E. Corradini [et al.] // Nat. Prod. Res. 2011. V. 25. P. 469-495.
- Zgorka G., Hajnos A. The application of solid-phase extraction and reversed phase high-performance liquid chromatography for simultaneous isolation and determination of plant flavonoids and phenolic acids // Chromatographia. 2003. V. 57. P. 77-80.
- Kozyra M, Glowniak K. Phenolic acids in extracts obtained from the flowering herbs of *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. growing in Poland // Acta Soc. Bot. Pol. 2013. V. 82. P. 325-329.
- Preparation and quantification of the total phenolic products in Citrus fruit using solid-phase extraction coupled

with high-performance liquid chromatography with diode array and UV detection / H. Zeng [et al.] // J. Sep. Sci. 2016. V. 39. P. 3806-3817.

6. Glowniak K., Zgorka G., Kozyra M. Solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography of free phenolic acids in some Echinacea species // J. Chromatogr. A. 1996. V. 30. P. 25-29.

7. Extraction methods for the determination of phenolic compounds from *Equisetum arvense* L. herb / A. Oniszczuk [et al.] // Industrial Crops and Products. 2014. V. 61. P. 377-381.

8. Skrzypczak-Pietraszek E., Pietraszek J. Chemical profile and seasonal variation of phenolic acid content in basterd balm (*Melittis melissophyllum* L., Lamiaceae) // J. Pharm. Biomed. Anal. 2012. V. 66. P. 154-161.

9. Simultaneous determination of phenolic acids and flavonoids in *Lycium barbarum* Linnaeus by HPLC-DAD-ESI-MS / B. Stephen Inbaraj [et al.] // J. Pharm. Biomed. Anal. 2010. V. 51. P. 549-556.

10. Simultaneous determination of phenolic acids and flavonoids in rice using solid-phase extraction and RP-HPLC with photodiode array detection / M. Irakli [et al.] // J. Sep. Sci. 2012. V. 35. P. 1603-1611.

11. Ziakova A., Brandsteterova E. Application of different preparation techniques for extraction of phenolic antioxidants from Lemon Balm (*Melissa officinalis*) before HPLC analysis // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 2002. V. 25. P. 3017-3032.

12. Dvorackova E., Snoblova M., Hrdlicka P. Content of phenolic compounds in herbs used in the Czech Republic // Int. Food Res. J. 2014. V. 21. P. 1495-1500.

13. Koseoglu Yilmaz P., Kolak U. Determination of Phenolic Acids in *Atriplex hortensis* L. by Novel Solid-Phase Extraction and High-Performance Liquid Chromatography // Anal. Lett. 2016. V. 49. P. 2157-2164.

14. Characterization of phenolic compounds in *Erigeron breviscapus* by liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry / Y. Zhang [et al.] // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2007. V. 21. P. 2971-2984.

15. Comparison of several extraction methods for the isolation of benzoic acid derivatives from *Melissa officinalis* / G. Karasova [et al.] // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 2010. V. 33. P. 464-470.

16. Bioactive phenols in algae: The application of pressurized liquid and solid-phase extraction techniques / L. Onofrejeva [et al.] // J. Pharm. Biomed. Anal. 2010. V. 51. P. 464-470.

17. A comprehensive study on the phenolic profile of widely used culinary herbs and spices: rosemary, thyme, oregano, cinnamon, cumin and bay / A. Vallverdu-Queralta [et al.] // Food Chem. 2014. V. 154. P. 299-307.

18. Extraction and identification procedures of polyphenolic compounds and carbohydrates in *Phillyrea angustifolia* L. leaves / A. Romani [et al.] // Chromatographia. 1996. V. 42. P. 571-577.

19. Zgorka G., Kawka S. Application of conventional UV, photodiode array (PDA) and fluorescence (FL) detection to analysis of phenolic acids in plant material and pharmaceutical preparations // J. Pharm. Biomed. Anal. 2001. V. 24. P. 1065-1072.

20. Identification and Quantification of Caffeoylquinic Acids and Flavonoids from Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Heads, Juice, and Pomace by HPLC-DAD-ESI/MS / K. Shutz [et al.] // J. Agric. Food Chem. 2004. V. 52. P. 4090-4096.

21. Antioxidant compounds and antioxidant activity in Acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives / T. Mezadri [et al.] // J. Food Compost. Anal. 2008. V. 21. P. 282-290.

22. Pereira L. Porous Graphitic Carbon as a Stationary Phase in HPLC: Theory and Applications // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 2008. V. 31. P. 1687-1731.

23. Hennion M.-C. Graphitized carbons for solid-phase extraction // J. Chromatogr. A. 2000. V. 885. P. 73-95.

24. Magiera S., Zareba M. Chromatographic Determination of Phenolic Acids and Flavonoids in *Lycium barbarum* L. and Evaluation of Antioxidant Activity // Food Anal. Methods. 2015. V. 8. P. 2665-2674.

25. Simplified Solid Phase Extraction Solutions [Электронный ресурс]: <http://www.phenomenex.com>. (дата обращения: 28.05.2018).

26. SPE for analysis of environmental contaminants in water [Электронный ресурс]: <http://www.sigmaaldrich.com>. (дата обращения: 14.08.2018).

27. Экстракция и определение биологически активных компонентов зверобоя и препаратов на его основе / В.В. Милевская [и др.] // Журнал аналит. химии. 2016. Т. 71, № 7. С. 768-774.

28. Bielicka-Daszkiwicz K., Voelkel A. Theoretical and experimental methods of determination of the breakthrough volume of SPE sorbents // Talanta. 2009. V. 80. P. 614-621.

29. Сычев К.С., Даванков В.А. Материалы и методы пробоподготовки в хроматографии: твердофазное концентрирование и адсорбционная очистка // Сорбционные и хроматографические процессы. 2004. Т. 4, № 1. С. 5-28.

30. Определение фенольных соединений в лекарственных растениях семейства Яснотковых / В.В. Милевская [и др.] // Журнал аналит. химии. 2017. Т. 72, № 3. С. 273-279.

31. Extraction and Analysis of Polyphenols: Recent trends / C. Ajila [et al.] // Crit. Rev. Biotechnol. 2011. V. 31. P. 227-249.

32. Cobzac S., Gocan S. Sample preparation for high performance liquid chromatography: recent progress // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 2011. V. 34. P. 1157-1267.

33. Zgorka G., Glowniak K. Variation of free phenolic acids in medicinal plants belonging to the Lamiaceae family // J. Pharm. Biomed. Anal. 2001. V. 26. P. 79-87.

34. Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I) / A. Andrade-Eiroa [et al.] // Trends Anal. Chem. 2016. V. 80. P. 641-654.

35. Michel M., Buszewski B. Porous graphitic carbon sorbents in biomedical and environmental applications // Adsorption. 2009. V. 15. P. 193-202.

36. Quantitative Analysis of Matrine and Oxymatrine in *Sophora flavescens* Extract and Its Biopesticides by UPLC / S. Lim [et al.] // Journal of Agricultural Chemistry and Environment. 2014. V. 3. P. 64-73.

37. Gadkari P., Balaraman, M. Catechins: Sources, extraction and encapsulation: A review // Food Bioprod. Process. 2015. V. 93. P. 122-138.

REFERENCES

1. Wen Y., Chen L., Li J., Liu D., Chen L. Recent advances in solid-phase sorbents for sample preparation prior to chromatographic analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, 2014, vol. 59, pp. 26-41. doi: 10.1016/j.trac.2014.03.011

2. Corradini E., Foglia P., Giansanti P., Gubbiotti R., Samperi R., Lagana A. Flavonoids: chemical properties and analytical methodologies of identification and quantitation in foods and plants. *Natural Product Research*, 2011, vol. 25, no. 5, pp. 469-495. doi: 10.1080/14786419.2010.482054

3. Zgorka G., Hajnos A. The application of solid-phase extraction and reversed phase high-performance liquid chromatography for simultaneous isolation and determination of plant

- flavonoids and phenolic acids. *Chromatographia*, 2003, vol. 57, no. 1, pp. 77-80. doi: 10.1007/BF02492087
4. Kozyra M, Glowniak K. Phenolic acids in extracts obtained from the flowering herbs of *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. growing in Poland. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 2013, vol. 82, no. 4, pp. 325-329. doi: 10.5586/asbp.2013.039
 5. Zeng H., Liu Z., Zhao S., Shu Y., Song Y. Preparation and quantification of the total phenolic products in Citrus fruit using solid-phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography with diode array and UV detection. *Journal of Separation Science*, 2016, vol. 39, no. 19, pp. 3806-3817. doi: 10.1002/jssc.201600547
 6. Glowniak K., Zgorka G., Kozyra M. Solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography of free phenolic acids in some Echinacea species. *Journal of Chromatography A*, 1996, vol. 730, no. 1-2, pp. 25-29. doi: 10.1016/0021-9673(95)00877-2
 7. Oniszczuk A., Podgorski R., Oniszczuk T., Zukiewicz-Sobczak W., Nowak R., Waksmundzka-Hajnos M. Extraction methods for the determination of phenolic compounds from *Equisetum arvense* L. herb. *Industrial Crops and Products*, 2014, vol. 61, pp. 377-381. doi: 10.1016/j.indcrop.2014.07.036
 8. Skrzypczak-Pietraszek E., Pietraszek J. Chemical profile and seasonal variation of phenolic acid content in bastard balm (*Melittis melissophyllum* L., Lamiaceae). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2012, vol. 66, pp. 154-161. doi: 10.1016/j.jpba.2012.03.037
 9. Inbaraj B. Stephen, Lu H., Kao T., Chen B. Simultaneous determination of phenolic acids and flavonoids in *Lycium barbarum* Linnaeus by HPLC-DAD-ESI-MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2010, vol. 51, no. 3, pp. 549-556. doi: 10.1016/j.jpba.2009.09.006
 10. Irakli M., Samanidou V., Biliaderis C., Papadopyannis I. Simultaneous determination of phenolic acids and flavonoids in rice using solid-phase extraction and RP-HPLC with photodiode array detection. *Journal of Separation Science*, 2012, vol. 35, no. 13, pp. 1603-1611. doi: 10.1002/jssc.201200140
 11. Ziakova A., Brandsteterova E. Application of different preparation techniques for extraction of phenolic antioxidants from Lemon Balm (*Melissa officinalis*) before HPLC analysis. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2002, vol. 25, no. 19, pp. 3017-3032. doi: 10.1081/JLCL-120015888
 12. Dvorackova E., Snoblova M., Hrdlicka P. Content of phenolic compounds in herbs used in the Czech Republic. *International Food Research Journal*, 2014, vol. 21, no. 4, pp. 1495-1500.
 13. Koseoglu Yilmaz P., Kolak U. Determination of Phenolic Acids in *Atriplex hortensis* L. by Novel Solid-Phase Extraction and High-Performance Liquid Chromatography. *Analytical Letters*, 2016, vol. 49, no. 14, pp. 2157-2164. doi: 10.1080/00032719.2016.1145231
 14. Zhang Y., Shi P., Qu H., Cheng Y. Characterization of phenolic compounds in *Erigeron breviscapus* by liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2007, vol. 21, no. 18, pp. 2971-2984. doi: 10.1002/rcm.3166
 15. Karasova G., Lehotay J., Klodzinska E., Gadzala-Kopciuch R., Buszewski B. Comparison of several extraction methods for the isolation of benzoic acid derivatives from *Melissa officinalis*. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2010, vol. 51, no. 11, pp. 464-470. doi: 10.1080/10826070600678365
 16. Onofrejova L., Vasickova J., Klejdus B., Stratil P., Misurcova L. Bioactive phenols in algae: The application of pressurized-liquid and solid-phase extraction techniques. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2010, vol. 51, no. 2, pp. 464-470. doi: 10.1016/j.jpba.2009.03.027
 17. Vallverdu-Queralt A., Regueiro J., Martínez-Huelamo M., Rinaldi Alvarenga J., Leal L., Lamuela-Raventos R. A comprehensive study on the phenolic profile of widely used culinary herbs and spices: rosemary, thyme, oregano, cinnamon, cumin and bay. *Food Chemistry*, 2014, vol. 154, pp. 299-307. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.106
 18. Romani A., Baldi A., Mulinacci N., Vincieri F., Tattini M. Extraction and identification procedures of polyphenolic compounds and carbohydrates in Phillyrea (*Phillyrea angustifolia* L.) leaves. *Chromatographia*, 1996, vol. 42, no. 9-10, pp. 571-577. doi: 10.1007/BF02290294
 19. Zgorka G., Kawka S. Application of conventional UV, photodiode array (PDA) and fluorescence (FL) detection to analysis of phenolic acids in plant material and pharmaceutical preparations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2001, vol. 24, pp. 1065-1072.
 20. Shutz K., Kammerer D., Carle R., Schieber A. Identification and Quantification of Caffeoylquinic Acids and Flavonoids from Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Heads, Juice, and Pomace by HPLC-DAD-ESI. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, vol. 52, no. 13, pp. 4090-4096. doi: 10.1021/jf049625x
 21. Mezadri T., Villano D., Fernandez-Pachon M., Garcia-Parrilla M., Troncoso A. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2008, vol. 21, no. 4, pp. 282-290. doi: 10.1016/j.jfca.2008.02.002
 22. Pereira L. Porous Graphitic Carbon as a Stationary Phase in HPLC: Theory and Applications. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2008, vol. 31, pp. 1687-1731. doi: 10.1080/10826070802126429
 23. Hennion M.-C. Graphitized carbons for solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*, 2000, vol. 885, pp. 73-95.
 24. Magiera S., Zareba M. Chromatographic Determination of Phenolic Acids and Flavonoids in *Lycium barbarum* L. and Evaluation of Antioxidant Activity. *Food Analytical Methods*, 2015, vol. 8, no. 10, pp. 2665-2674. doi: 10.1007/s12161-015-0166-y
 25. Simplified Solid Phase Extraction Solutions. Available at: <http://www.phenomenex.com> (accessed 28 May 2018).
 26. SPE for analysis of environmental contaminants in water. Available at: <http://www.sigmaldrich.com> (accessed 14 August 2018).
 27. Milevskaya V.V., Statkus M.A., Temerdashev Z. A., Kiseleva N.V., Butyl'skaya T.S., Shil'ko E.A. Extraction and Determination of Biologically Active Components of St. John's Wort and Its Pharmaceutical Preparations. *Journal of Analytical Chemistry*, 2016, vol. 71, no. 7, pp. 741-747. doi: 10.1134/S1061934816070133
 28. Bielicka-Daszkiwicz K., Voelkel A. Theoretical and experimental methods of determination of the breakthrough volume of SPE sorbents. *Talanta*, 2009, vol. 80, no. 2, pp. 614-621. doi: 10.1016/j.talanta.2009.07.037
 29. Sychev K.S., Davankov V.A. *Materialy i metody probodgotovki v khromatografii: tverdofaznoe kontsentrirovaniye i adsorbtsionnaya ochistka* [Materials and methods for sample preparation in chromatography: solid-phase concentration and adsorption]. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2004, vol. 4, no. 1, pp. 5-28. (in Russian)
 30. Milevskaya V.V., Temerdashev Z.A., Butyl'skaya T.S., Kiseleva N.V. Determination of phenolic compounds in medicinal plants from the Lamiaceae family. *Journal of Analytical Chemistry*, 2017, vol. 72, no. 3, pp. 342-348. doi: 10.1134/S1061934817030091

31. Ajila C., Brar S., Verma M., Tyagi M., Godbout S., Valero J. Extraction and Analysis of Polyphenols: Recent trends. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2011, vol. 31, no. 3, pp. 227-249. doi: 10.3109/07388551.2010.513677
32. Cobzac S., Gocan S. Sample preparation for high performance liquid chromatography: recent progress. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2011, vol. 34, no. 13, pp. 1157-1267. doi: 10.1080/10826076.2011.588064
33. Zgorka G., Glowniak K. Variation of free phenolic acids in medicinal plants belonging to the Lamiaceae family. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2001, vol. 26, no. 1, pp. 79-87. doi: 10.1016/S0731-7085(01)00354-5
34. Andrade-Eiroa A., Canle M., Leroy-Cancellieri V., Cerda V. Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). *Trends in Analytical Chemistry*, 2016, vol. 80, pp. 641-654. doi: 10.1016/j.trac.2015.08.015
35. Michel M., Buszewski B. Porous graphitic carbon sorbents in biomedical and environmental applications. *Adsorption*, 2009, vol. 15, no. 2, pp. 193-202. doi: 10.1007/s10450-009-9170-0
36. Lim S., Jeong D., Choi G., Park B., Kim J. Quantitative Analysis of Matrine and Oxymatrine in *Sophora flavescens* Extract and Its Biopesticides by UPLC. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 2014, vol. 3, pp. 64-73. doi: 10.4236/jacen.2014.32008
37. Gadkari P., Balaraman, M. Catechins: Sources, extraction and encapsulation: A review. *Food and Bioproducts Processing*, 2015, vol. 93, pp. 122-138. doi: 10.1016/j.fbp.2013.12.004