

## Влияние природы модификатора на эффективность концентрирования рутина и кверцетина на наночастицах магнетита

**И.С. Решетникова<sup>1</sup>, С.С. Алексенко<sup>2</sup>, \*С.Н. Штыков<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, Российская Федерация, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83

<sup>2</sup>Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, Российская Федерация, 410012, г. Саратов, Театральная пл., 1

\*Адрес для переписки: Штыков Сергей Николаевич, E-mail: shtykovsn@mail.ru

Поступила в редакцию 28 марта 2019 г., после исправления – 24 мая 2019 г.

Методом химического соосаждения синтезированы магнитные наночастицы (МНЧ) магнетита, поверхность которых модифицирована диоксидом кремния, диоксидом кремния и полиэтиленимином и только полиэтиленимином. Полученные МНЧ охарактеризованы методами электрофоретического рассеяния света и просвечивающей электронной микроскопии. Показано, что на величину и знак дзета-потенциала МНЧ влияют природа модификатора и рН раствора. Изучено влияние рН, количества сорбента, времени сорбции, способа перемешивания раствора и найдены оптимальные условия сорбции кверцетина и рутина. Установлено, что сорбция указанных флавоноидов количественно происходит на магнетите, модифицированном как SiO<sub>2</sub>@ПЭИ так и только ПЭИ, протекает за 10 мин, однако степень извлечения выше на МНЧ, модифицированных ПЭИ, которая для кверцетина и рутина составляет 98 % и 86 %, соответственно. Показано, что степень извлечения кверцетина и рутина при десорбции 4 мл 0.1 М NaOH в течение 20 минут составляет 62 и 56 процентов, соответственно.

**Ключевые слова:** магнетит, наночастицы, магнитная твердофазная экстракция, флавоноиды, кверцетин, рутин, концентрирование.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2019, vol. 23, no. 2, pp. 265-273

DOI: 10.15826/analitika.2019.23.2.012

## Effect of modifier nature on the preconcentration efficiency of rutin and quercetin on the magnetite nanoparticles

**I.S. Reshetnikova<sup>1</sup>, S.S. Aleksenko<sup>2</sup>, \*S.N. Shtykov<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Saratov State University, Astrakhanskaya Str. 83, 410012 Saratov, Russian Federation

<sup>2</sup>Saratov State Vavilov Agrarian University, Teatralnaya Str. 1, 410012 Saratov, Russian Federation

\*Corresponding author: Sergei N. Shtykov, E-mail: shtykovsn@mail.ru

Submitted 28 March 2019, received in revised form 24 May 2019

Flavonoids belong to a wide group of polyphenols present in many plants, flowers and seeds, vegetables and fruits. Their antioxidant action helps protect the human body from the oxidative stress, cardiovascular illnesses, inflammation, cancer and many other diseases. Researchers pay the most attention to quercetin and its glycoside rutin, which are present in many plant and food objects. One of the problems of their determination in various objects is preconcentration, which should be quick and quantitative. In the last decade, the method of magnetic solid-phase extraction (MSPE) was proposed for the preconcentration of many biologically active substances. This method is based on the phenomenon of superparamagnetism, in which magnetic nanoparticles with adsorbed analyte are separated during several tens of second from the matrix solution by a permanent magnet. In our study the magnetic nanoparticles (MNPs) of magnetite, the surface of which was modified with SiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub> and polyethylenimine (PEI) and only PEI, are synthesized by the chemical co-precipitation method. The synthesized MNPs were characterized by the dynamic light scattering and transmission electron microscopy methods. It was shown that the magnitude and sign of the

zeta potential of the MNPs were influenced by the nature of the modifier and pH of the solution. The effect of pH, the amount of sorbent, the sorption time, and the method of mixing the solution were studied and the optimal conditions for the sorption of quercetin and rutin were found. It was established that the sorption of flavonoids quantitatively occurs on magnetite, modified both with SiO<sub>2</sub>@PEI and only PEI, but the degree of extraction is higher on MNPs modified with PEI, which for quercetin and rutin was 98% and 86%, respectively. The highest degree of extraction of quercetin and rutin from the volume of 4 ml at the concentration of 10<sup>-6</sup> - 10<sup>-5</sup> M was achieved at the pH of 10-11, the mechanical stirring time was 10 min and the mass of sorbent was 10 mg, the desorption time was 20 minutes. The modification of magnetite by PEI and the preconcentration of flavonoids were fast and could be used for their determination in objects.

**Key words:** magnetite nanoparticles, magnetic solid phase extraction, flavonoids, quercetin, rutin, preconcentration

## ВВЕДЕНИЕ

Флавоноиды (ФЛ) принадлежат к обширному классу полифенолов, присутствующих во многих растениях, цветах и семенах, овощах и фруктах [1, 2]. Их антиоксидантное действие позволяет защищать организм от окислительного стресса, раковых опухолей, сердечно-сосудистых, воспалительных и многих других заболеваний [2, 3]. Это объясняет постоянный интерес к сравнению биологической активности флавоноидов, а также разработке методов их разделения, концентрирования и определения в различных растительных, пищевых и фармацевтических объектах. По разным данным известно более четырех [4], шести [5] и даже восьми [6] тысяч флавоноидов, которые разделены на шесть разных классов. Наибольшее внимание исследователи уделяют кверцетину (КВ) и его гликозиду рутину (РУ), которые являются представителями группы широко распространенных в природе флавоноидов [7]. Оба представителя флавоноидов используют в фармацевтике как противовоспалительные, антигипертензивные, антигеморрагические, противоопухолевые, противовирусные и антибактериальные препараты [8, 9]. Основными источниками природных флавоноидов для человека являются овощи, фрукты и напитки.

В ряде обзоров [5, 6, 10-12] показано, что КВ и РУ в смеси с другими флавоноидами обычно определяют методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и капиллярного электрофореза, с использованием УФ- или масс-селективного детекторов. Большинство статей посвящено применению указанных методов для определения КВ, РУ и других флавоноидов в различных растениях, пищевых продуктах или фармацевтических препаратах [5, 6, 10-17]. Вместо водно-органических растворителей в качестве подвижных фаз в ВЭЖХ предложены также мицеллярные растворы, например додецилсульфата натрия [17]. Реже для определения флавоноидов применяют спектрофотометрический [4, 18], люминесцентный [19] и электрохимические [20, 21] методы анализа.

Следствием большого разнообразия и одновременного присутствия во многих объектах нескольких флавоноидов в различных концентрациях является большое внимание к методам их извлечения из объекта и концентрирования. Достоинства, недостатки и применение этих методов проанализированы в

обзорах [5, 6, 10, 11, 22, 23]. Наиболее часто для извлечения флавоноидов используют жидкостную экстракцию этанолом, реже сверхкритическую флюидную экстракцию или экстракцию паром под давлением [10]. Распространенным методом концентрирования флавоноидов является также твердофазная экстракция [24].

В последнее десятилетие для концентрирования многих биологически активных веществ получил метод магнитной твердофазной экстракции (МТФЭ) [25-28]. Его особенностью является использование магнитных наночастиц (МНЧ) в качестве сорбентов. Благодаря квантово-размерным эффектам, такие частицы обладают суперпарамагнитными свойствами, что позволяет быстро отделять их от жидкой матрицы при помощи внешнего магнитного поля, уменьшая затраты времени на пробоподготовку и время выполнения анализа. Магнитные свойства проявляются только в присутствии магнитного поля и зависят от природы сорбента, размера, формы, типа кристаллической решетки, микроструктуры его частиц, окружающей матрицы и других факторов. Вследствие высокой поверхностной энергии МНЧ, склонности к агрегации и окислению в растворе, а также для увеличения селективности и эффективности сорбции аналита поверхность наночастиц модифицируют, покрывая неорганическими и органическими реагентами.

Метод МТФЭ для концентрирования флавоноидов применяли всего в нескольких работах [29-32]. Для модифицирования МНЧ и определения лютеолина, кверцетина и кемпферола предложены оксид графена [29], диоксид кремния, покрытый смешанными мицеллами ионной жидкости (ИЖ) и бромида цетилтриметиламмония (СТАВ) (наночастицы МНЧ@SiO<sub>2</sub>@ИЖ-СТАВ) [30], диоксид кремния, покрытый ионной жидкостью на основе каликсарена [31], диоксид кремния, обработанный 3-(триметоксисилил)-пропилметакрилатом (MAPS), с дальнейшей дериватизацией 3-хлор-2-гидроксипропилом (НМ) и N,N-диметилдодециламином (МД) с получением сложных структур Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@MAPS@НМ и Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@МДНМ [32]. Недостатками предложенных методов являются многостадийная, многочасовая, а иногда многодневная процедура модификации МНЧ перед использованием в МТФЭ.

В связи с этим, цель работы состояла в разработке упрощенной процедуры модификации МНЧ при сравнении сорбционных свойств наночастиц

магнетита, модифицированных катионным полиэлектролитным полимером полиэтиленимином (ПЭИ),  $\text{SiO}_2$ , и  $\text{SiO}_2$ @ПЭИ для концентрирования кверцетина и рутина со спектрофотометрическим контролем эффективности процесса МТФЭ.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Реагенты.** Использовали кверцетин дигидрат «Alfa Aesar» (США), 97 % и рутин тригидрат «Alfa Aesar», 97 % (CAS 153-18-4, Бельгия); ПЭИ «Alfa Aesar» (США), 50 %-ный раствор в воде, тетраэтоксилан (ТЭОС), 98 % «Acros organics» (Германия),  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  «Aldrich», (Германия) оба 99.8 %;  $\text{NaOH}$  «Fluka» (Япония), 99.8 %, сульфит натрия «ТД «Химмед» (Россия), «ч.д.а.». Исходные рабочие растворы кверцетина и рутина концентрацией  $2 \cdot 10^{-4}$  М готовили растворением точной навески в 99 %-ном этаноле, ПЭИ с концентрацией 4 % готовили растворением точной навески в дистиллированной воде. Ацетатно-аммиачный буферный раствор (ААБ) готовили смешиванием необходимых количеств 2М растворов уксусной кислоты и аммиака.

**Аппаратура.** Значения дзета-потенциала в растворах получали на анализаторе Zetasizer Nano-Z (Malvern Instruments Ltd, Великобритания). Размеры наночастиц магнетита определяли методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) с использованием просвечивающего электронного микроскопа Zeiss Libra 120 (Германия). Измерение оптической плотности растворов и количественное определение флавоноидов проводили на спектрофотометре UV-1800 фирмы «Shimadzu» (Япония). Для контроля pH использовали pH-метр Mettler Toledo EL2 (Германия). Для магнитной сепарации применяли постоянный Nd-Fe-B магнит с (BH) макс = 40 МГсЭ.

**Методика синтеза и модификации магнитных наночастиц магнетита.** Наночастицы магнетита синтезировали в реакторе оригинальной конструкции методом химического осаждения по методике, описанной ранее [33]. Инертную среду в реакторе создавали пропуская азот (ГОСТ 9293-74). МНЧ модифицировали смешиванием полученной магнитной жидкости с водным раствором ПЭИ в течение 15 минут. Критерием оптимальной концентрации полиэлектролита являлось максимальное и устойчивое значение  $\zeta$ -потенциала наночастиц. После покрытия наночастицы промывали 3 раза деионизованной водой. Модификацию МНЧ тетраэтоксиланом проводили по методу Штобера [34] смешиванием полученной магнитной жидкости со спиртовым раствором ТЭОС в щелочной среде в атмосфере азота при 40 °С и скорости перемешивания 2000 оборот/мин в течение 6 ч. Полученные наночастицы МНЧ@ $\text{SiO}_2$  промывали один раз этанолом и два раза деионизованной водой. Для последующей модификации наночастицы МНЧ@ $\text{SiO}_2$  обрабатывали водным раствором ПЭИ в течение 15 минут, затем наночастицы МНЧ@ $\text{SiO}_2$ @ПЭИ промывали три раза деионизованной водой. Общие формулы флавоноидов, ПЭИ и ТЭОС приведены на рис. 1.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

### Характеризация синтезированных МНЧ

На сорбцию и концентрирование влияет большое число факторов, таких как химическая природа поверхности сорбента, pH среды, время сорбции, масса сорбента, способ перемешивания раствора. Поскольку коллоидный раствор магнетита неустойчив, а его наночастицы сорбируют КВ и РУ очень плохо, их поверхность модифицировали тремя способами: покрытием диоксидом кремния (МНЧ@ $\text{SiO}_2$ ), катионным полиэлектролитом ПЭИ (МНЧ@ПЭИ), и в две стадии,

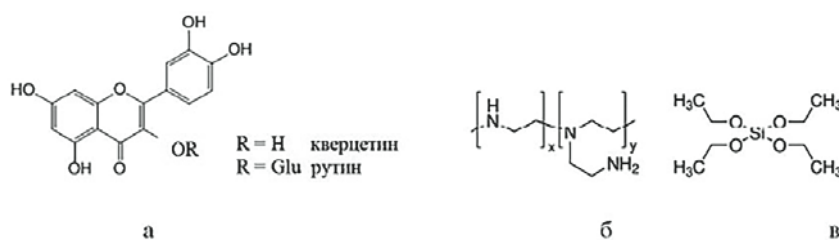


Рис. 1. Общие формулы (а) флавоноидов, (б) ПЭИ, (в) ТЭОС.

Fig. 1. General formulas of (a) flavonoids, (b) PEI, (c) TEOS.

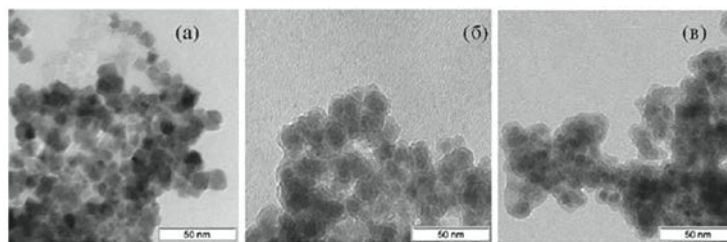


Рис. 2. ПЭМ микрофотографии МНЧ магнетита, модифицированного (а) ПЭИ, (б)  $\text{SiO}_2$  и (в)  $\text{SiO}_2$ @ПЭИ.

Fig. 2. TEM images of magnetite MNPs modified by (a) PEI, (b)  $\text{SiO}_2$ , (c)  $\text{SiO}_2$ @ПЭИ.

последовательно покрывая диоксидом кремния, а затем ПЭИ, получая наночастицы магнетита МНЧ@SiO<sub>2</sub>@ПЭИ. Модификация МНЧ оболочкой из диоксида кремния связана с необходимостью улучшения их химической стабильности в широком интервале рН и облегчением последующей модификации поверхности силикагеля [35].

На рис. 2 представлены микрофотографии наномангнетита модифицированного указанными тремя способами. Их анализ показывает, что полученные наночастицы имеют форму близкую к сферической. Средний размер наночастиц МНЧ@ПЭИ, МНЧ@SiO<sub>2</sub> и МНЧ@SiO<sub>2</sub>@ПЭИ составили 10 ± 2 нм, 6.9 ± 1.1 нм и 6.7 ± 0.9 нм.

### Влияние рН на дзета-потенциал модифицированных МНЧ

Значение ζ-потенциала характеризует заряд коллоидных частиц, определяет стабильность их дисперсии в растворе, а также влияет на взаимодействие между наночастицами и аналитом. Чем больше дзета-потенциал, тем стабильнее коллоидный раствор МНЧ. На рис. 3 представлена зависимость ζ- потенциала МНЧ, покрытых SiO<sub>2</sub>, ПЭИ и SiO<sub>2</sub>@ПЭИ от значения рН раствора. Видно, что МНЧ, покрытые диоксидом кремния, при рН более 3 имеют отрицательный ζ-потенциал (рис. 3, кривая 1), что подтверждает образование покрытия, а вид зависимости от рН соответствует известным данным [34]. МНЧ, модифицированные ПЭИ, (рис. 3, кривая 2), наоборот, заряжены положительно. Наибольший ζ-потенциал (+38 – +40 мВ) наблюдается при рН 3-5, далее он уменьшается и при рН более 8 стабилизируется на уровне +10 - +12 мВ, что также соответствует данным литературы [33].

Другой вид зависимости ζ- потенциала от рН при сорбции ПЭИ обнаружен для МНЧ, предварительно покрытых SiO<sub>2</sub> (рис. 3, кривая 3). Видно, что с одной стороны величина положительного ζ-потенциала в интервале рН 3-6 немного ниже, чем при модификации наночастиц магнетита ПЭИ, с другой – этот потенциал

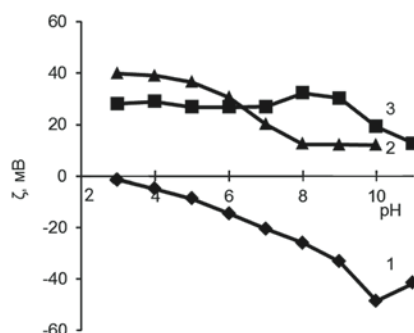


Рис. 3. Зависимость дзета-потенциала наночастиц МНЧ, покрытых (1) SiO<sub>2</sub>, (2) ПЭИ и (3) SiO<sub>2</sub>@ПЭИ от рН среды.

Fig. 3. Dependence of zeta-potential of nanoparticles coated with (1) SiO<sub>2</sub>, (2) PEI and (3) SiO<sub>2</sub>@PEI on the pH of the medium.

сохраняет практически постоянное значение в области +30 мВ до рН 9. Таким образом предварительное покрытие диоксидом кремния позволило придать поверхности наночастиц отрицательный заряд (рис. 3, кривая 1) и увеличить интервал сорбции положительно заряженных молекул ПЭИ на 3-4 единицы рН в щелочную область.

### Сорбция кверцетина и рутина

Эффективность сорбции КВ и РУ оценивали по их остаточному содержанию в исходном растворе спектрофотометрическим методом. Градуировочные графики определения КВ и РУ по собственному поглощению и по поглощению их комплексов с ПЭИ приведены в табл. 1. Градуировочные графики, построенные для комплексов КВ-ПЭИ и РУ-ПЭИ, применяли при десорбции данных флавоноидов, так как в этом случае происходил частичный переход полиэлектролита с поверхности сорбента в раствор с образованием комплексов флавоноид-ПЭИ (рис. 4). Видно, что интервалы линейности при определении флавоноидов для обоих вариантов одинаковы, однако наклон градуировочных графиков при образовании комплексов флавоноид-ПЭИ больше, что связано с ростом оптической плотности при действии катионного полиэлектролита на π-систему реагентов.

Таблица 1

Метрологические параметры определения флавоноидов и их комплексов с ПЭИ, рН 11

Table 1

Metrological parameters for the determination of flavonoids and their complexes with PEI, pH 11

Система	Интервал линейности	Уравнение	R <sup>2</sup>
КВ	1·10 <sup>-6</sup> - 5·10 <sup>-5</sup>	y = 0.11x + 0.01	0.9998
РУ	1·10 <sup>-6</sup> - 5·10 <sup>-5</sup>	y = 0.12x + 0.01	0.9997
КВ-ПЭИ	1·10 <sup>-6</sup> - 5·10 <sup>-5</sup>	y = 0.23x + 0.02	0.9988
РУ-ПЭИ	1·10 <sup>-6</sup> - 5·10 <sup>-5</sup>	y = 0.20x + 0.02	0.9996

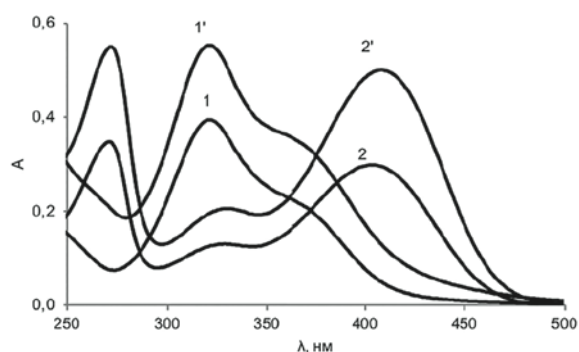


Рис. 4. Спектры поглощения (1) кверцетина, (2) рутина и их комплексов с ПЭИ (1', 2'), рН 11. ААБ. C<sub>фл</sub> = 2·10<sup>-5</sup> М. ω<sub>ПЭИ</sub> = 0.05 %.

Fig. 4. Absorption spectra of (1) quercetin, (2) rutin and their complexes with PEI (1', 2'), pH 11. C<sub>Fl</sub> = 2·10<sup>-5</sup> M. ω<sub>PEI</sub> = 0.05 %.



Таблица 2

Влияние pH на степень извлечения кверцетина и рутина наночастицами магнетита, покрытыми SiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>@ПЭИ и ПЭИ и извлечение их комплексов с ПЭИ (КВ-ПЭИ и РУ-ПЭИ) C<sub>ФЛ</sub> = 10<sup>-5</sup> М. m<sub>сорб</sub> = 10 мг. t<sub>сорб</sub> = 20 мин

Table 2

Effect of pH on the degree of extraction of quercetin and rutin as well as their complexes with PEI using the magnetite nanoparticles coated with SiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>@PEI and PEI. C<sub>Fl</sub> = 1 · 10<sup>-5</sup> M, m<sub>MNPs</sub> = 10 mg, t = 20 min

Модификатор	pH	4	5	6	7	8	9	10	11
SiO <sub>2</sub>	R <sub>КВ-ПЭИ</sub> , %	13 ± 1	15 ± 2	1 ± 1	3 ± 1	9 ± 1	1 ± 1	5 ± 2	1 ± 1
	R <sub>РУ-ПЭИ</sub> , %	0	0	4 ± 1	12 ± 2	8 ± 1	2 ± 1	9 ± 2	5 ± 1
SiO <sub>2</sub>	R <sub>КВ</sub> , %	7 ± 1	4 ± 2	7 ± 1	10 ± 3	17 ± 2	4 ± 1	2 ± 1	2 ± 1
	R <sub>РУ</sub> , %	8 ± 3	4 ± 1	3 ± 1	4 ± 1	1 ± 0	8 ± 1	2 ± 1	1 ± 1
SiO <sub>2</sub> @ ПЭИ	R <sub>КВ</sub> , %	-	-	66 ± 1	74 ± 1	96 ± 2	82 ± 1	71 ± 1	15 ± 2
	R <sub>РУ</sub> , %	-	-	51 ± 2	71 ± 3	85 ± 1	75 ± 1	71 ± 2	12 ± 1
ПЭИ	R <sub>КВ</sub> , %	-	-	90 ± 1	92 ± 1	91 ± 1	90 ± 2	93 ± 1	97 ± 1
	R <sub>РУ</sub> , %	-	-	-	63 ± 1	69 ± 2	82 ± 1	80 ± 2	85 ± 3

Степень извлечения (%) рассчитывали по формуле:

$$R = \frac{C_0 - C}{C_0} \cdot 100\%$$

где C<sub>0</sub> и C (ммоль/л) – концентрации растворенного вещества в исходном растворе и в надосадочной жидкости после сорбции, соответственно.

Закономерности сорбции кверцетина и рутина изучали на наночастицах МНЧ@SiO<sub>2</sub>, наночастицах МНЧ@ПЭИ, наночастицах МНЧ@SiO<sub>2</sub>@ПЭИ. Кроме того рассматривали вариант сорбции комплексов КВ и РУ с ПЭИ при добавлении последнего в анализируемый раствор, содержащий флавоноиды и наночастицы МНЧ@SiO<sub>2</sub>.

**Влияние pH среды.** pH является решающим фактором, влияющим на сорбцию аналита, так как заряд поверхности модифицированного сорбента и степень диссоциации аналита сильно зависят от кислотности среды. Влияние pH раствора исследовали в интервале pH 3-11. В табл. 2 представлены степени извлечения КВ, РУ и их комплекса с ПЭИ на МНЧ, модифицированных разными способами.

Анализ таблицы позволяет сделать следующие заключения:

- сорбция РУ во всех случаях существенно меньше сорбции КВ, что можно объяснить как стерическими факторами и большей гидрофильностью РУ (для КВ и РУ IgP в системе октанол-вода равен 0.35 и -2.3, соответственно [36]), так и отсутствием заряда у РУ до pH 8, когда начинает диссоциировать его ОН-группа;
- сорбция магнетитом, модифицированным только диоксидом кремния, очень низкая, что соответствует данным литературы [37];
- сорбция КВ и РУ в виде комплекса с ПЭИ, т.е. при динамической модификации поверхности наночастиц МНЧ@SiO<sub>2</sub> также очень незначительна;

- предварительная модификация ПЭИ поверхности исходных МНЧ и МНЧ@SiO<sub>2</sub> резко увеличивает эффективность сорбции в щелочной среде;
- диапазон pH, в котором КВ и РУ сорбируются количественно, шире при прямой модификации МНЧ катионным полиэлектролитом ПЭИ и оптимальным является интервал pH 10-11.

Последние две закономерности позволяют сделать вывод о том, что сорбция данных флавоноидов определяется как электростатическими взаимодействиями между отрицательно заряженными депротонированными ОН-группами КВ и РУ и положительно заряженными катионными группами ПЭИ, так и образованием водородной связи между оставшимися недиссоциированными ОН-группами флавоноидов и первичными, вторичными или третичными непротонированными аминогруппами ПЭИ.

**Влияние массы сорбента.** Магнитные наночастицы обладают двумя преимуществами перед традиционными сорбентами, частицы которых имеют микрометровые размеры. Первое, как и у всех наночастиц, состоит в том, что они имеют большую активную поверхность в связи с высоким отношением доли молекул на поверхности к их доле в объеме МНЧ. Второе преимущество состоит в присутствии МНЧ явления суперпарамагнетизма, которое в отличие от наночастиц других веществ, позволяет реализовать быстрое (десятки секунд) отделение сорбента с аналитом от жидкой матрицы. Для поиска массы наномангнетита, необходимой для наибольшей степени извлечения флавоноидов, изменяли её величину от 4 до 14 мг (табл. 3). Видно, что при концентрации флавоноидов в интервале 10<sup>-6</sup> - 10<sup>-5</sup> М и времени сорбции 10 минут для их количественного извлечения достаточно 10 мг магнетита МНЧ@ПЭИ. Сравнение с данными работ [34] и [38], показывает, что в нашем случае для сорбции аналита необходимо в 10 и 50 раз, соответственно, меньше сорбента, а

**Таблица 3**

Влияние массы наночастиц на степень извлечения кверцетина и рутина наночастицами МНЧ@ПЭИ, рН 11.  $C_{\text{фл}} = 10^{-5}$  М,  $t = 20$  минут

**Table 3**

Effect of nanoparticle mass on the degree of extraction of quercetin and rutin by MNP@PEI nanoparticles, рН 11.  $C_{\text{Fl}} = 10^{-5}$  M,  $t = 10$  min

$m_{\text{сорб}}$ , мг	4	6	8	10	12	14
$R_{\text{КВ}}$ , %	86 ± 1	90 ± 2	91 ± 3	98 ± 1	98 ± 1	98 ± 1
$R_{\text{РУ}}$ , %	60 ± 2	71 ± 1	78 ± 2	85 ± 1	86 ± 1	86 ± 2

также требовалось значительно меньшее время для отделения от раствора и промывания осадка.

**Влияние времени твердофазной экстракции.**

В найденных оптимальных условиях в интервале 3-40 минут исследовали влияние времени твердофазной экстракции на степень извлечения и отделения сорбента от раствора при двух вариантах перемешивания: механическом и ультразвуковом (табл. 4). Видно, что при действии ультразвука максимальная

**Таблица 4**

Влияние времени сорбции на степень извлечения кверцетина и рутина наночастицами МНЧ@ПЭИ при механическом (мех) и ультразвуковом (УЗ) перемешивании, рН 11

**Table 4**

Effect of sorption time on the degree of extraction of quercetin and rutin by MNP@PEI nanoparticles with mechanical (мех) and ultrasonic (УЗ) mixing, рН 11

$t$ , мин	КВ		РУ	
	мех	УЗ	мех	УЗ
3	90 ± 1	95 ± 1	80 ± 1	72 ± 1
5	91 ± 2	92 ± 1	85 ± 1	73 ± 2
10	97 ± 1	90 ± 1	86 ± 2	75 ± 2
20	96 ± 3	85 ± 2	80 ± 2	80 ± 4
30	86 ± 4	85 ± 4	78 ± 1	76 ± 4
40	84 ± 3	77 ± 4	75 ± 3	71 ± 5
50	84 ± 2	75 ± 5	71 ± 1	70 ± 3

степень извлечения более гидрофобного кверцетина достигается уже через 3 минуты, а при механическом перемешивании через 10 минут. Увеличение времени УЗ обработки уменьшает степень извлечения, вероятно из-за частичной десорбции кверцетина и рутина. После 20 минут УЗ воздействия, коллоидный раствор мутнеет и частично теряет способность магнититься. Причиной этого может быть десорбция модификатора с поверхности МНЧ и, вследствие этого, рост размера наночастиц с потерей ими суперпарамагнетизма. Механическое перемешивание в течение 10 минут является оптимальным для сорбции обоих флавоноидов.

**Десорбция**

При изучении десорбции кверцетина и рутина апробировали элюенты, рекомендованные в работах [29-32]. Установлено, что, степень десорбции КВ и РУ при действии этанола и ацетонитрила, подкисленных уксусной кислотой, находится в интервале 1 – 10 %, т.е. очень незначительна (рис. 5). Причиной является, вероятно, многоцентровое взаимодействие этих флавоноидов с полиэлектролитом, включающее гидрофобные, электростатические взаимодействия и водородную связь, которые действуют во всем интервале рН. Подтверждением этому являются результаты работы [39], в которой показано, что в интервале рН 3-10 молекула ПЭИ содержит

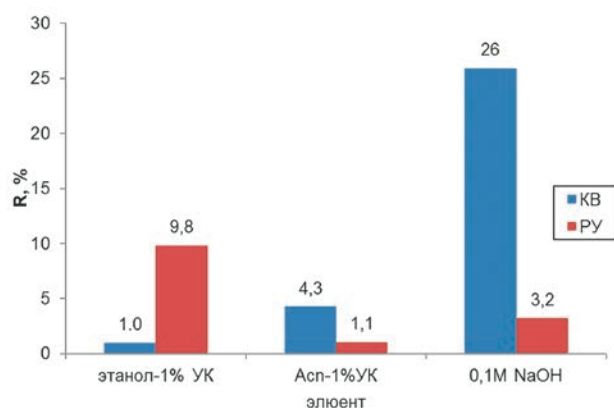


Рис. 5. Влияние природы элюента на степень десорбции флавоноидов  $V_{\text{элюента}} = 2$  мл.

Fig. 5. Effect of eluent nature on the degree of flavonoids desorption,  $V_{\text{eluent}} = 2$  mL

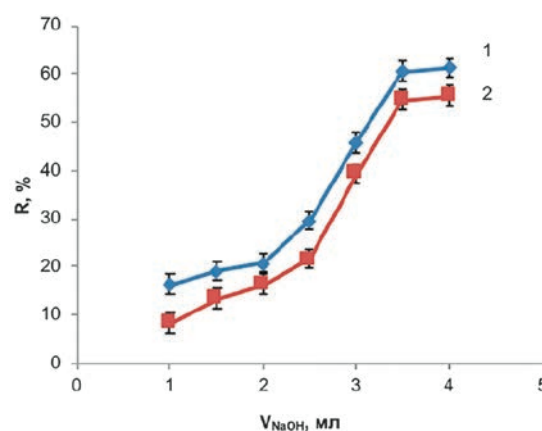


Рис. 6. Влияние объема 0.1 М NaOH и ультразвука на десорбцию флавоноидов,  $t = 20$  мин.

Fig. 6. Effect of 0.1 M NaOH and ultrasound on the desorption of flavonoids,  $t = 20$  min.

одновременно как протонированные, так и не протонированные аминогруппы.

Установлено, что лучшим элюентом для десорбции КВ и РУ является 0.1 М раствор NaOH. Для оптимизации десорбции варьировали объем элюента и время обработки ультразвуком. Из рис. 6 следует, что при использовании 3.5 – 4 мл 0.1 М гидроксида натрия и воздействии ультразвука в течение 20 минут степень десорбции КВ и РУ составляет 63 и 56 %, соответственно.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено сравнение сорбции кверцетина и рутина на наночастицах магнетита, модифицированных диоксидом кремния, (МНЧ@SiO<sub>2</sub>), катионным полиэлектролитом ПЭИ (МНЧ@ПЭИ), и в две стадии, последовательно диоксидом кремния, а затем ПЭИ, (МНЧ@SiO<sub>2</sub>@ПЭИ). Показано, что, несмотря на более широкий интервал pH, в котором сохраняется высокий положительный дзета-потенциал наночастиц (МНЧ@SiO<sub>2</sub>@ПЭИ), степень извлечения методом магнитной твердофазной экстракции выше для наночастиц, модифицированных непосредственно ПЭИ. Время, необходимое для синтеза наночастиц МНЧ@ПЭИ составляет 40–45 минут. Для сравнения на синтез магнитных наночастиц для извлечения флавоноидов в работе [29] требовалось не менее 12 часов, в работе [30] – 32 часа, работе [31] – 144 часа, работе [32] – 24 часа. Наибольшая степень извлечения кверцетина (96–98%) и рутина (85–86%) из объема 4 мл при их концентрации 10<sup>-6</sup> – 10<sup>-5</sup> М достигается при pH 10–11, времени механического перемешивания 10 минут и массе сорбента 10 мг, время десорбции составляет 20 минут. Таким образом предложенный способ модификации наномангнетита с помощью ПЭИ является простым, быстрым и позволяет количественно извлекать кверцетин и рутин из водных растворов.

## Благодарности

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 18-03-01029а.

## Acknowledgements

This work was supported by the Russian Foundation for Fundamental Research, project no. 18-03-01029а.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance / G. Agati [et al.] // *Plant Sci.* 2012. V. 196. P. 67–76.
2. Pietta P. G. Flavonoids as antioxidants // *J. Natur. Products.* 2000. V. 63, № 7. P. 1035–1042.
3. Panche A.N., Diwan A.D., Chandra S.R. Flavonoids: an overview // *J. Nutr. Sci.* 2016. V. 5, № 47. P. 1–15.
4. Malešev D., Kunti V. Investigation of metal–flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal–flavo-

- noid complexing reactions // *J. Serb. Chem. Soc.* 2007. V. 72, № 10. P. 921–939.
5. Flavonoids: chemical properties and analytical methodologies of identification and quantitation in foods and plants / E. Corradini [et al.] // *Nat. Product Res.* 2011. V. 25, № 5. P. 469–495
6. Зиятдинова Г.К., Будников Г.К. Природные фенольные антиоксиданты в биоаналитической химии: состояние проблемы и перспективы развития // *Успехи химии.* 2015. Т. 82, № 2. С. 194–224.
7. Зенкевич И. Г., Гущина С. В. Определение констант диссоциации соединений, окисляющихся кислородом воздуха в водных растворах (на примере кверцетина) // *Ж. аналит. химии.* 2010. Т. 65, № 4. С. 382–387.
8. Boots A. W., Haenen G. R. M. M., Bast A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical // *Eur. J. Pharm.* 2008. V. 585, № 2–3. P. 325–337.
9. Yang J., Guo J., Yuan J. In vitro antioxidant properties of rutin // *LWT-Food Sci. Technol.* 2008. V. 41, № 6. P. 1060–1066.
10. Определение биологически активных фенолов и полифенолов в различных объектах методами хроматографии / М.В. Кочетова [и др.] // *Успехи химии.* 2007. Т. 76 № 1. С. 88–100.
11. Advances of Modern Chromatographic and Electrophoretic Methods in Separation and Analysis of Flavonoids / E.H. Liu [et al.] // *Molecules.* 2008. V. 13, № 10. P. 2521–2544.
12. Ignat I., Volf I., Popa V.I. A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables // *Food Chem.* 2011. V. 126, № 4. P. 1821–1835.
13. Современные способы определения и идентификации флавоноидов горянки (epimedium) / О.А. Шевлякова [и др.] // *Вестн. Моск. ун-та. сер. 2. Химия.* 2016. Т. 57, № 3. С. 172–183.
14. Dadáková E., Kalinova J. Determination of quercetin glycosides and free quercetin in buckwheat by capillary micellar electrokinetic chromatography // *J. Sep. Sci.* 2010. V. 33, № 11. P. 1633–1638.
15. Особенности разделения флавоноидов методом обращенно-фазовой высокоэффективной хроматографии на колонке Luna 5u c18(2) / С.Г. Дмитриенко [и др.] // *Вестн. Моск. ун-та. сер. 2. химия.* 2012. Т. 53, № 6. С. 369–373.
16. Isocratic RP-HPLC method for rutin determination in solid oral dosage forms / V. Kuntić [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2007. V. 43, № 2. P. 718–721.
17. Жидкостная хроматография некоторых флавоноидов на обращенной фазе в водно-органических и модифицированных мицеллярных подвижных фазах / Е.Г. Сумина [и др.] // *Ж. аналит. химии.* 2014. Т. 69, № 12. С. 1295–1302.
18. Спектрофотометрическое определение флавоноидов в растительном сырье / А.В. Булатов [и др.] // *Аналитика и контроль.* 2012. Т. 16 № 4. С. 358–362.
19. A novel multi-purpose enzymatic system and procedures for the rapid fluorescent determination of flavonoids in herbal pharmaceuticals and plant materials / I. Veselova [et al.] // *Talanta.* 2017. V. 171. P. 108–114.
20. Gil E.S., Couto R.O. Flavonoid electrochemistry: a review on the electroanalytical applications // *Braz. J. Pharm.* 2013. V. 23, № 3. P. 542–558.
21. Ziyatdinova G., Kozlova E., Budnikov H. Poly(gallic acid)/MWNT-modified electrode for the selective and sensitive voltammetric determination of quercetin in medicinal herbs // *J. Electroanal. Chem.* 2018. V. 821. P. 73–81.
22. Stalikas C. D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids // *J. Separ. Sci.* 2007. V. 30, № 18. P. 3268–3295.

23. Feng W., Hao Z., Li M. Isolation and Structure Identification of Flavonoids // In: Flavonoids - From Biosyn. to Human Health. / Ed. by Justino G.C. Intech Open 2017. P. 17-43.

24. Твердофазное концентрирование фенольных веществ из водных экстрактов лекарственного растительного сырья на примере зверобоя (*Hypericum perforatum* L.) / Е.А. Шилько [и др.] // Аналитика и контроль. 2018. Т. 22. № 3. С. 303-314.

25. Магнитные сорбенты на основе наночастиц оксидов железа для выделения и концентрирования органических соединений / В.В. Толмачева [и др.] // Ж. аналит. химии. 2016. Т. 71, № 4. С. 339-356.

26. Пряжников Д.В., Киселев М.С., Кубракова И.В. Поверхностно-модифицированный магнитный наноразмерный сорбент для МТФЭ-ВЭЖХ-УФ определения 4-нонилфенола в природных водных объектах // Аналитика и контроль. 2015. Т. 19, № 3. С. 220-229.

27. Бесферментный электрохимический метод определения *E.coli* с использованием нанокомпозитов  $Fe_3O_4$  с оболочкой  $SiO_2$ , модифицированной ферроценом / А.Н. Козицина [и др.] // Ж. аналит. химии. 2015. Т. 70, № 5. С. 476-483.

28. Егунова О.Р., Константинова Т.А., Штыков С.Н. Магнитные наночастицы магнетита в разделении и концентрировании // Изв. Саратовск. ун-та. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. 2014. Т. 14. Вып. 4. С. 27-34.

29. A nanocomposite consisting of graphene oxide and  $Fe_3O_4$  magnetic nanoparticles for the extraction of flavonoids from tea, wine and urine samples / J. Wu [et al.] // *Microchim. acta*. 2015. V. 13. P. 2299-2306.

30. Mixed hemimicelles solid-phase extraction based on ionic liquid-coated  $Fe_3O_4/SiO_2$  nanoparticles for the determination of flavonoids in bio-matrix samples coupled with high performance liquid chromatography / H. He [et al.] // *J. Chromatogr. A*. 2014. V. 1324. P. 78-85.

31. Poly(calixarene ionic liquid) modified  $Fe_3O_4$  nanoparticles as new sorbent for extraction of flavonoids in fruit juice and green tea / K Hu [et al.] // *Microchem. J*. 2018. V. 143. P. 39-46.

32. Fabrication of N,N-dimethyldodecylamine functionalized magnetic adsorbent for efficient enrichment of flavonoids / Ch. Liu [et al.] // *Talanta*. 2019. V. 194. P. 771-777.

33. Сорбционно-флуориметрическое определение энрофлоксацина с применением наночастиц магнетита, модифицированных полиэтиленимином / О.Р. Егунова [et al.] // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, № 1. С. 48-52.

34. Sodipo B.K., Aziz A.A. Recent advances in synthesis and surface modification of superparamagnetic iron oxide nanoparticles with silica // *J. Magn. Magn. Mater*. 2016. V. 416. P. 275-291.

35. Урусов А.Е., Петракова А.В., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. Применение магнитных наночастиц в иммуноанализе // *Рос. нанотехнол.* 2017. Т. 12, № 9-10. С. 3-13.

36. Тонкослойная хроматография флавоноидов на силикагеле в модифицированных мицеллярных подвижных фазах на основе додецилсульфата натрия / Е.Г. Сумина [и др.] // Сорбц. хроматогр. процессы. 2014. Т. 14, № 1. С. 52-64.

37. Взаимодействие кверцетина с высокодисперсным силикагелем в водных суспензиях / О.А. Казакова О.А. [и др.] // *Коллоид. журн.* 2002. Т. 64. С. 461-467.

38. Direct isolation of flavonoids from plants using ultra-small anatase  $TiO_2$  nanoparticles / J. Kurepa J. [et al.] // *Plant J*. 2014. V. 77. P. 443-453.

39. Suh, J., Paik H-J., Hwang B.K. Ionization of Poly(ethylenimine) and Poly(allylamine) at Various pH's // *Bioorg. Chem.* 1994. V. 22, № 3. P. 318-327.

## REFERENCES

1. Agati G., Azzarello E., Pollastri S., Tattini M. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Science*, 2012, vol. 196, pp. 67-76. doi: 10.1016/j.plantsci.2012.07.014.
2. Pietta P.G. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 2000, vol. 63, no. 7, pp. 1035-1042. doi: 10.1021/np9904509.
3. Panche A.N., Diwan A.D., Chandra S.R. Flavonoids: an overview. *J. Nutr. Sci.* 2016, vol. 5, no. 47, pp. 1-15. doi:10.1017/jns.2016.41.
4. Malešev D., Kunti V. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 2007, vol. 72, no. 10, pp. 921-939. doi: 10.2298/JSC0710921M.
5. Corradini E., Foglia P., Giansanti P., Gubbio R., Samperi R. 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.
6. Ziyatdinova G.K., Budnikov G.K. Natural phenolic antioxidants in bioanalytical chemistry: state of the problem and development prospects. *Russian Chemical Reviews*, 2015, vol. 84, no. 2, pp. 194-224. DOI: 10.1070/RCR4436
7. Zenkevich I. G., Gushchina R. V. Determination of dissociation constants of species oxidizable in aqueous solution by air oxygen on an example of quercetin. *Journal of Analytical Chemistry*, 2010, vol. 65, no. 4, pp. 371-375. DOI: 10.1134/S1061934810040064
8. Boots A. W., Haenen G. R. M. M., Bast A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology*, 2008, vol. 585, no. 2-3, pp. 325-337. doi: 10.1016/j.ejphar.2008.03.008.
9. Yang J., Guo J., Yuan J. In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT - Food Science and Technology*, 2008, vol. 41, no. 6, pp. 1060-1066. doi: 10.1016/j.lwt.2007.06.010.
10. Kochetova, M. V., Semenistaya, E. N., Larionov, O. G., & Revina, A. A. Determination of biologically active phenols and polyphenols in various objects by chromatography. *Russian Chemical Reviews*, 2007, vol. 76, no. 1, pp. 79-90. doi: 10.1070/RC2007v076n01ABEH003632
11. Liu E.H., Qi L.W., Cao J., Li P., Li C.Y., Peng Y.B. Advances of Modern Chromatographic and Electrophoretic Methods in Separation and Analysis of Flavonoids. *Molecules*, 2008, vol. 13, no. 10, pp. 2521-2544. doi: 10.3390/molecules13102521.
12. Ignat I., Volf I., Popa V.I. A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 2011, vol. 126, no. 4, pp. 1821-1835. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.12.026.
13. Shevlyakova O.A., Ihalajnen A.A., Antokhin A.M., Taranchenko V.F., Goncharov V.M., Aksenov A.V., Mitrofanov D.A., Berizovskaya E.I., Rodin I. A., Shpigun O.A. [Modern methods for the determination and identification of Goryanka flavonoids (epimedium)]. *Moscow University Bulletin. 2. Chemistry*, 2016, vol. 57, no. 3, pp. 172-183 (in Russian).
14. Dadáková E., Kalinova J. Determination of quercetin glycosides and free quercetin in buckwheat by capillary micellar electrokinetic chromatography. *Journal of Separation Science*, 2010, vol. 33, no. 11, pp. 1633-1638. doi: 10.1002/jssc.200900809.



15. Dmitrienko S.G., Stepanova A.V., Kudrinskaya V.A., Apyari V.V. Features of the separation of flavonoids by reverse phase high performance chromatography on a Luna 5u C18 column (2). *Moscow University Bulletin. 2. Chemistry*, 2012, vol. 53, no. 6, pp. 369-373 (in Russian).
16. Kuntić V., Pejić N., Ivković B., Vujić Z., Ilić K., Mičić S., Vukojević V. Isocratic RP-HPLC method for rutin determination in solid oral dosage forms. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2007, vol. 43, no. 2, pp. 718-721. doi: 10.1016/j.jpba.2006.07.019.
17. Sumina E.G., Shtykov S.N., Sorokina O.N., Prozapas O.N., Uglanova V.Z. Liquid chromatography of some flavonoids on the reversed phase in aqueous-organic and modified micellar mobile phases. *Journal of Analytical Chemistry*, 2014, vol. 69, no. 12, pp.1179-11186. doi: 10.7868/S0044450214100156
18. Bulatov A.V., Falkova M.T., Pushina M.O., Moskvina L.N., Alekseeva G.M. Spectrophotometric determination of flavonoids in plant materials. *Analitika i kontrol' [Analytics and control]*, 2012, vol. 16, no. 4, pp. 358-362 (in Russian).
19. Veselova I., Malinina L., Barsukova M., Tokareva A., Buslova T., Sokolova L., Pirogov A., Shekhovtsova T. A novel multi-purpose enzymatic system and procedures for the rapid fluorescent determination of flavonoids in herbal pharmaceuticals and plant materials. *Talanta*. 2017, vol. 171, pp. 108–114. doi: 10.1016/j.talanta.2017.04.065
20. Gil E.S., Couto R.O. Flavonoid electrochemistry: a review on the electroanalytical applications. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2013, vol. 23, no. 3, pp. 542-558. doi: 10.1590/S0102-695X2013005000031
21. Ziyatdinova G., Kozlova E., Budnikov H. Poly(gallic acid)/MWNT-modified electrode for the selective and sensitive voltammetric determination of quercetin in medicinal herbs. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2018, vol. 821, pp. 73-81. doi:10.1016/j.jelechem.2017.12.071.
22. Stalikas C.D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, 2007, vol. 30, no. 18, pp. 3268-3295. doi 10.1002/jssc.200700261
23. Feng W., Hao Z., Li M. Isolation and Structure Identification of Flavonoids. In: *Flavonoids, from biosynthesis to human health / Ed. by Justino G.C. Intech Open*, 2017, pp. 17-43. doi: 10.5772/67810
24. Shil'ko E.A., Milevskaya V.V., Temerdashev Z.A., Kiseleva N.V. Solid-phase concentration of phenolic substances from aqueous extracts of medicinal plant raw materials on the example of Hypericum (*Hypericum perforatum* L.). *Analitika i kontrol' [Analytics and control]*, 2018, vol. 22, no. 3, pp. 303-314. doi: 10.15826/analitika.2018.22.3.013 (in Russian).
25. Tolmacheva V.V., Apyari V.V., Kochuk E.V., Dmitrienko S.G. Magnetic sorbents based on nanoparticles of iron oxides for the isolation and concentration of organic compounds. *Journal of Analytical Chemistry*, 2016, vol. 71, no. 4, pp. 321-338. doi: DOI: 10.1134/S1061934816040079
26. Pryazhnikov D.V., Kiseleva M.S., Kubrakova I.V. Magnetic surface-modified nanosized sorbent for MSPE-HPLC-UV determination of 4-nonylphenol in natural waters] *Analitika i kontrol' [Analytics and Control]*, 2015, vol. 19, no. 3, pp. 220-229. (in Russian)
27. Kozitsina A.N., Malysheva N.N., Uteпова I.A., Glazyrina Y.A., Matern A.I., Brainina K.Z., Chupakhin O.N. An enzyme-free electrochemical method for the determination of E. coli using Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocomposites with a SiO<sub>2</sub> shell modified by ferrocene. *Journal of Analytical Chemistry*, 2015, vol. 70, no. pp. 540-545. DOI: 10.1134/S1061934815050068
28. Egunova O.R., Konstantinova T.A., Shtykov S.N. [Magnetic magnetite nanoparticles in separation and concentration] *Izvestiia saratovskogo universiteta. Novaia serii. Seriiia Khimiiia. Biologiiia. Ekologiia*, 2014, vol. 14, no. 4, pp. 27-34 (In Russian).
29. Wu J., Xiao D., Zhao H., He H., Peng J., Wang C., Zhang C., He J. A nanocomposite consisting of graphene oxide and Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles for the extraction of flavonoids from tea, wine and urine samples. *Microchimica Acta*, 2015, vol. 13, pp. 2299-2306. doi:10.1007/s00604-015-1575-8.
30. He H., Yuan D., Gao Zh., Xiao D., He H., Dai H., Peng J., Li N. Mixed hemimicelles solid-phase extraction based on ionic liquid-coated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub> nanoparticles for the determination of flavonoids in bio-matrix samples coupled with high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 2014, vol. 1324, pp. 78–85. doi: 10.1016/j.chroma.2013.11.021.
31. Hu K, Qiao J, Wu X, Yang H, Huang Y, Zhang S Poly(calixarene ionic liquid) modified Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles as new sorbent for extraction of flavonoids in fruit juice and green tea. *Microchemical Journal*, 2018, vol. 143, pp. 39–46. doi:10.1016/j.microc.2018.07.029.
32. Liu Ch., Liao Y., Chen L., Li Y. Fabrication of N,N-dimethyl-dodecylamine functionalized magnetic adsorbent for efficient enrichment of flavonoids. *Talanta*, 2019, vol. 194, pp. 771-777. doi: j.talanta.2018.10.061.
33. Egunova O.R., Reshetnikova I.S., German S.V., Kazimirova K.O., Habibullin V.R., Zhelobickaya E.A., Shtykov S.N. [Sorption-fluorimetric determination of enrofloxacin using magnetite nanoparticles modified with polyethylenimine]. *Izvestiia saratovskogo universiteta. Novaia serii. Seriiia Khimiiia. Biologiiia. Ekologiia*, 2016, vol. 16, no. 1, pp. 48-52. doi:10.18500/1816-9775-2016-16-1-48-52 (In Russian)
34. Sodipo B.K., Aziz A.A. Recent advances in synthesis and surface modification of superparamagnetic iron oxide nanoparticles with silica. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2016, vol. 416, pp. 275–291. doi:10.1016/j.jmmm.2016.05.019.
35. Urusov A.E., Petrakova A.V., Zherdev A.V., Dzantiev B.B. [The use of magnetic nanoparticles in immunoassay]. *Rossiiskie nanotekhnologii [Russian nanotechnology]*. 2017, Vol. 12, no. 9-10, pp. 3-13.
36. Sumina E.G., Shtykov S.N., Sorokina O.N., Petrakova A.V., Uglanova V.Z. [Flavonoids thin layer chromatography on silica gel in modified micellar mobile phases based on sodium dodecyl sulfate]. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy [Sorption and chromatographic processes]*, 2014, vol. 14, no. 1, pp. 52-64 (In Russian).
37. Kazakova O.A., Gun'ko V.M., Lipkovskaya N.A., Voronin E.F., Pogorelyi V.K. Interaction of Quercetin with Highly Dispersed Silica in Aqueous Suspensions. *Colloid Journal*, 2002, vol. 64, no. 4. pp. 412-418.
38. Kurepa J., Nakabayashi R., Paunesku T., Suzuki M., Saito K., Woloschak G.E., Smalle J.A. Direct isolation of flavonoids from plants using ultra-small anatase TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Plant Journal*, 2014, vol. 77, pp. 443–453. doi:10.1111/tj.12361
39. Suh, J., Paik H.-J., Hwang B.K. Ionization of Poly(ethylenimine) and Poly(allylamine) at Various pH's. *Bioorganic Chemistry*, 1994, vol. 22, no. 3. pp. 318-327. doi:10.1006/bioo.1994.1025