

## ИННОВАЦИОННЫЕ БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ЭКСТРАКЦИИ КВЕРЦЕТИНА ИЗ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

© 2024 г. А.Г. Погорелов\*,<sup>#</sup>, Л.Г. Ипатова\*, А.И. Панаит\*,  
А.А. Станкевич\*, А.К. Юнусова\*, В.Н. Погорелова\*

*\*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,  
Институтская ул., 3, Пущино Московской области, 142290, Россия*

*<sup>#</sup>E-mail: agpogorelov@rambler.ru*

Поступила в редакцию 08.02.2024 г.

После доработки 15.06.2024 г.

Принята к публикации 19.06.2024 г.

Предложен метод экстракции кверцетина из растительной клетки, основанный на сочетанном действии ультразвука и метастабильной фракции водного раствора. Такая обработка вызывает более эффективное выделение цитоплазматической компоненты за счет травления и/или механического разрушения оболочки растительной клетки. Окисленная фракция раствора обладает наиболее выраженными экстрагирующими свойствами, но воздействует на кверцетин, окисляя хромофорную часть молекулы. По критерию сохранности пигмента лучшей экстрагирующей средой является восстановленная фракция воды. Для анализа образцов экстракта использовали аналитические методы: UV-Vis-спектрометрию, гель электрофорез белков, <sup>1</sup>H-ЯМР-спектрометрию и QCM-взвешивание, а также сканирующую электронную микроскопию.

*Ключевые слова: кверцетин, электрохимически активированный водный раствор, ультразвуковая экстракция, UV-Vis-спектрометрия, гель электрофорез белков, сканирующая электронная микроскопия.*

DOI: 10.31857/S0006302924040049, EDN: NHYWDY

Кверцетин и его производные обладают рядом полезных качеств, включая антиоксидантные свойства [1–4]. Физиологическая активность делает эту группу флавоноидов востребованной для целей медицины, производства функциональных пищевых продуктов и косметических препаратов, что заставляет искать источники натурального кверцетина. Высокое содержание данного вещества находят в слое шелухи лука (ШЛ), который формируют отмершие клетки [5]. Промышленная переработка этого овоща сопровождается накоплением больших объемов отходов в виде ШЛ. Их рациональное использование в качестве вторичного сырья позволит производить продукцию с добавленной стоимостью и к тому же снизить нагрузку на окружающую среду [6].

Натуральные вещества выделяют из отходов переработки растительного сырья посредством экстракции, и кверцетин не является исключением [7, 8]. С этой целью применяют, как правило, органические растворители, а также обработку сырья водной средой, нагретой до высокой тем-

пературы, и/или с экстремально измененным значением pH [9]. Такие сложные подходы разработаны в связи с необходимостью разрушить целлюлозную стенку растительной клетки. При этом происходит изменение молекулы экстрагируемого вещества и, следовательно, непрогнозируемое изменение ее свойств, а также привнесение технологических примесей в целевой продукт.

Показано, что фракции электрохимически активированного водного раствора (ЭХАР), проявляя псевдоферментативную активность, расщепляют растительные полисахариды [10]. Это позволяет нам предложить ЭХАР в качестве «зеленой» альтернативы химическим агентам, используемым для экстракции веществ из растительного сырья. Метастабильные фракции ЭХАР (анолит, католит) обладают еще одним полезным свойством: восстанавливаясь со временем до воды, они не содержат загрязняющих ингредиентов, которые зачастую экологически небезопасны и трудно удаляются из экстракта.

В данном исследовании в качестве фактора, усиливающего эффект ЭХАР, использовали воздействие ультразвуком. Такой технологический прием отличается простотой, низкой стоимостью и экологичностью [11–14]. Стимулирующее дей-

*Сокращения: ШЛ — шелуха лука, ЭХАР — электрохимически активированный водный раствор, ОВП — окислительно-восстановительный потенциал.*

ствие ультразвука на процесс экстракции обусловлено наличием интенсивного перемешивающего потока, уменьшением вязкости экстрагирующей жидкости и возникновением кавитации. Таким образом, цель данного исследования состояла в изучении экстракции кверцетина из растительной клетки в результате сочетанного действия метастабильной фракции ЭХАР и ультразвука, которые относят к «зеленым» физическим воздействиям.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Подготовка препарата.** В эксперименте сравнивали эффективность экстракции кверцетина из ШЛ в воду или фракции ЭХАР. Для эксперимента использовали питьевую воду из городского водопровода со значением кислотности (pH) 7.2 и окислительно-восстановительным потенциалом (ОВП), равным 360 мВ. Анолит и католит получали посредством коммерческого электролизера СТЕЛ-Универсал (ООО «ИЭСТ», Москва). Значение pH водного раствора регистрировали с помощью прибора HI98120 (Hanna, Германия), а ОВП — ST20R (Ohaus, Китай). Показатели водных фракций следующие: анолит — pH 2.2 и ОВП — 800 мВ, католит — pH 8.2 и ОВП — 800 мВ. Для экстракции готовили фрагменты образца размером 5×5 мм, которые помещали в экстрагирующую водную среду в отношении 1 : 100 (по весу) с последующей их обработкой в течение 40 мин ультразвуком. Взвесь частиц из полученного экстракта осаждали центрифугированием при 800 g, после чего супернатант пропускали через фильтр с эффективным размером поры 0.2 мкм. Полученный раствор анализировали посредством UV-Vis-спектрометрии, гель-электрофореза белков, ЯМР-спектрометрии и микровзвешивания сухого остатка. Тонкий рельеф поверхности образца изучали с помощью сканирующей электронной микроскопии.

**UV-Vis-спектрометрия.** Эффективность экстракции оценивали посредством анализа спектров поглощения водных экстрактов. Кварцевую кювету заполняли 4 мл анализируемого раствора, оптическую плотность которого регистрировали на спектрофотометре UV-2401PC (Shimadzu, Япония). Для спектрометрии в UV-диапазоне экстракт ШЛ желтого цвета разбавляли в 20 раз. В качестве сравнения использовали кварцевую кювету, наполненную водой, анолитом или католитом, для экстрактов, приготовленных на воде или соответствующих фракциях ЭХАР.

**Гель-электрофорез белков.** В качестве разделяющей основы брали 10%-й акриламидный гель (акриламид : бисакриламид в отношении 37 : 1) на буферном растворе следующего состава: 0.375 М Трис-HCl (pH 8.8), 0.1% персульфата аммония, 0.1% додецилсульфата натрия, 0.01% TEMED.

В составе фокусирующего 5%-го акриламидного геля уменьшили концентрацию Трис-HCl до 0.125 М (pH 6.8). Буфер для электродов содержал 0.025 М Трис-HCl (pH 8.3) и 0.19 М глицина. Образцы экстрактов разводили в лизирующем буфере (2% додецилсульфата натрия, 10% глицерина, 5% 2-меркаптоэтанола, 0.004% бромфенолового синего, 0.063 М Трис-HCl, pH 6.8), далее кипятили на водяной бане в течение 5 мин. По мере остывания до комнатной температуры 20 мкл препарата вносили в ячейку пластины акриламидного геля, где при 20 мА проводили электрофорез в течение 2 ч. Разделенные на геле белки прокрашивали красителем Кумасси R-250, а их массу нормировали с помощью молекулярных маркеров (Thermo Fisher Scientific Baltics, Литва).

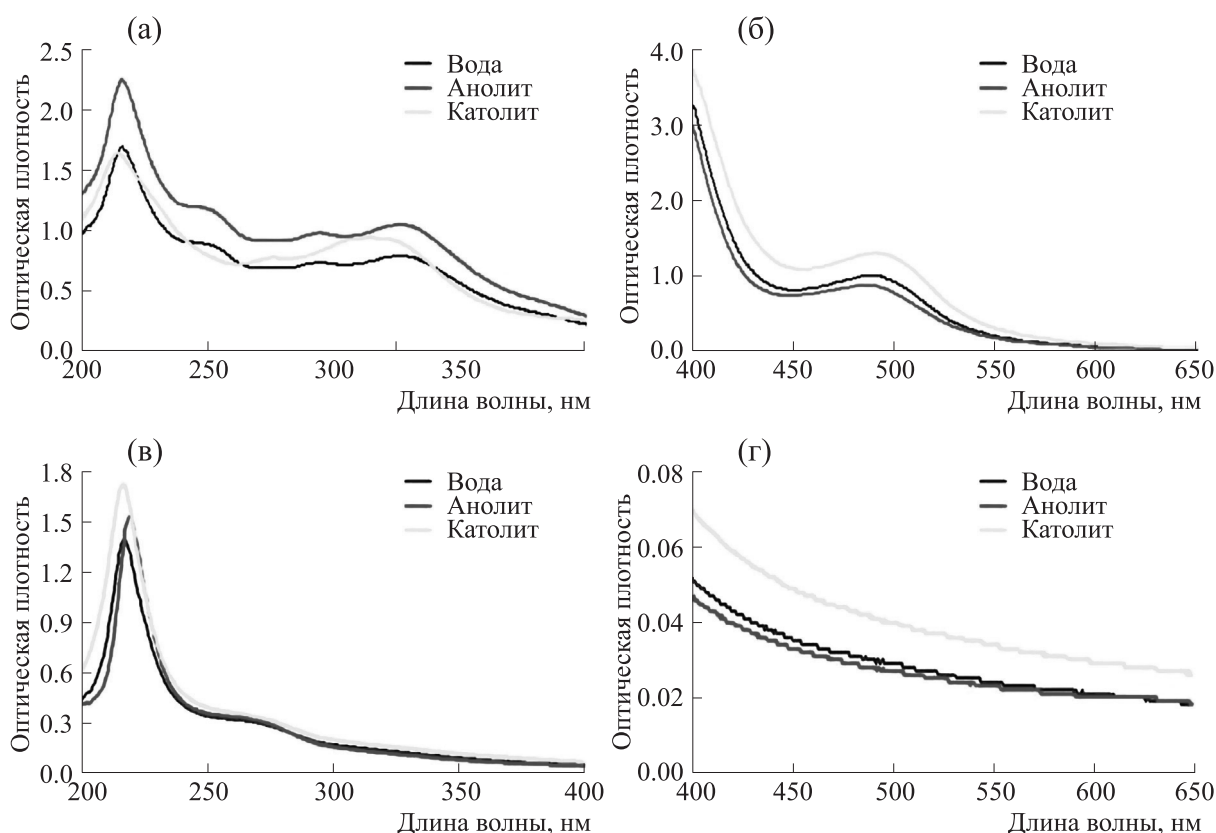
**<sup>1</sup>H-ЯМР-спектрометрия.** В исследуемый экстракт ШЛ объемом 570 мкл добавляли 30 мкл фосфатного буферного раствора, содержащего тетраметилсилан и D<sub>2</sub>O. Регистрацию <sup>1</sup>H-ЯМР-спектров проводили при температуре 298 К на спектрометре AVANCE III 600 (Bruker, Германия) с рабочей частотой 598.95 МГц (по протонам). Спектры экстрактов ШЛ регистрировали с помощью стандартных импульсных последовательностей, имеющихся в библиотеке программы zg и zgpg. Для улучшения отношения сигнал/шум накапливали 256 сканов. Калибровку спектров осуществляли по тетраметилсилану (водные растворы), их сравнение проводили в области 7–8 ppm, регистрируя сигналы от ароматических колец, характерных для группы флавоноидов.

**Сканирующая электронная микроскопия.** Наличие механических повреждений в оболочке растительной клетки изучали с помощью сканирующей электронной микроскопии. Для этого фрагмент ШЛ трижды отмывали в дистиллированной воде, сушили в струе инертного газа (N<sub>2</sub>) и крепили серебряным клеем на поверхность держателя образцов электронного микроскопа. Затем в среде аргоновой плазмы на поверхность препарата напыляли слой платины, используя установку JFC-1600 (JEOL, Япония). Тонкую структуру рельефа изучали в сканирующем электронном микроскопе JSM-6390A (JEOL, Япония) при ускоряющем напряжении 20 кВ в режиме вторичных электронов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**UV-Vis-спектрометрия экстракта.** В данной работе регистрируют спектры поглощения экстрактов, извлеченных посредством обработки образцов ШЛ ультразвуком в воде или фракциях ЭХАР (рис. 1).

Спектры поглощения водных экстрактов для ШЛ желтого цвета (рис. 1а,б) и бесцветного образца (рис. 1в,г) были получены после 40 мин об-



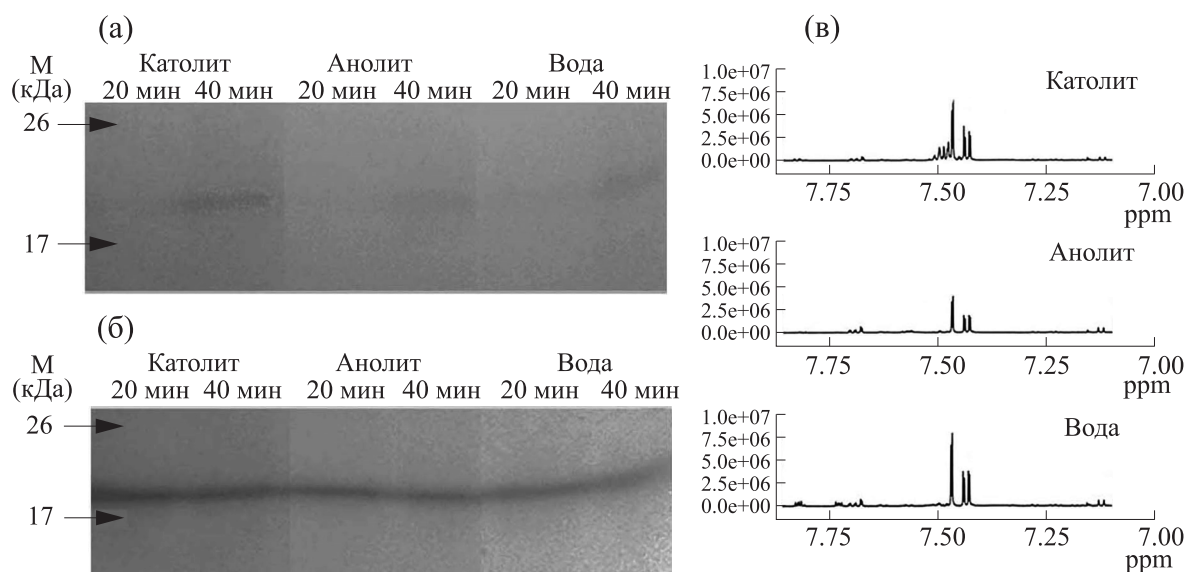
**Рис. 1.** Спектры поглощения экстрактов шелухи лука, полученных после 40 мин обработки ультразвуком в воде, анолите или католите: (а) – UV-спектры экстрактов шелухи желтого цвета, разбавленных в 20 раз; (б) – спектры в видимой области для тех же, но неразбавленных экстрактов; (в) – UV-спектры неразбавленных экстрактов для неокрашенного образца; (г) – спектры тех же экстрактов в видимой области.

работки ультразвуком. Общему содержанию органических компонент в растворе соответствует интенсивность неспецифического спектра поглощения в UV-диапазоне с пиком на линии в области 220 нм. Анализ таких спектров, полученных для экстракта окрашенной ШЛ (рис. 1а), указывает на анолит как наиболее эффективный экстрагирующий агент. Отметим, что наличие кверцетина в ШЛ увеличивает в десятки раз оптическую плотность экстракта, если сравнивать с препаратом непигментированного образца (рис. 1в).

Цвет служит визуальным критерием наличия в ШЛ кверцетина – пигмента, содержащего хромофорную группу, которая окрашена в желто-оранжевом диапазоне. По этой причине в спектре поглощения водного раствора кверцетина присутствует характерный пик в области 490 нм, что позволяет оценить полноту извлечения целевого продукта. Относительно низкий уровень спектра поглощения в видимой области для экстракта на анолите (рис. 1б) следует интерпретировать с учетом физико-химических свойств этой фракции водного раствора. Дело в том, что анолит обладает аномально высоким ОВП, что вызывает окисле-

ние кверцетина и, как следствие, уменьшение интенсивности характерного пика поглощения. Как и для спектра поглощения в UV-диапазоне, оптическая плотность спектров поглощения в видимой области для экстракта ШЛ желтого цвета (рис. 1б) в десятки раз выше, чем такого спектра у препарата, полученного из непигментированного образца (рис. 1г). Таким образом, во всем диапазоне длин волн интенсивность спектра поглощения экстракта формирует преимущественно компонента, которая обусловлена содержанием в растворе кверцетина.

В видимой области спектра поглощения на пик пигмента (490 нм) накладывается фон, который формирует боковое плечо UV-спектра. Другими словами, спектр поглощения натурального кверцетина представляет собой суперпозицию характерного спектра и фона. Однако, учитывая преобладающий вклад пигмента во всем диапазоне длин волн, значение оптической плотности экстракта на длине волны 490 нм характерного пика можно использовать для сравнения анализируемых препаратов. Это утверждение корректно, по крайней мере, для водной среды, в которой не окисляется хромофорная часть пигмента. Для



**Рис. 2.** Гель-электрофорез белков, содержащихся в экстракте шелухи лука желтого цвета после 20 и 40 мин обработки ультразвуком в католите, анолите или воде: (а) — неокрашенный гель, (б) — тот же гель, окрашенный Кумасси R-250, (в) —  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектры тех же экстрактов после 40 мин обработки ультразвуком. М — маркер молекулярной массы, кДа.

ШЛ желтого цвета, например, отношение содержания кверцетина в экстракте на воде и на католи равно значению 0.89.

При рассмотрении UV-спектров поглощения экстрактов (рис. 1б) видна зависимость их формы от экстрагирующей среды, что обусловлено, возможно, модификацией части выделенного вещества. Учитывая то, что носителем хромофорной части природного кверцетина является (глико)пептид, изменение свойства этой молекулы может показать метод гель-электрофореза, детализирующего белковую композицию экстракта.

**Гель-электрофорез и  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектроскопия экстракта.** Данные электрофореза белков в экстракте ШЛ желтого цвета в воду и водные фракции ЭХАР представлены на рис. 2.

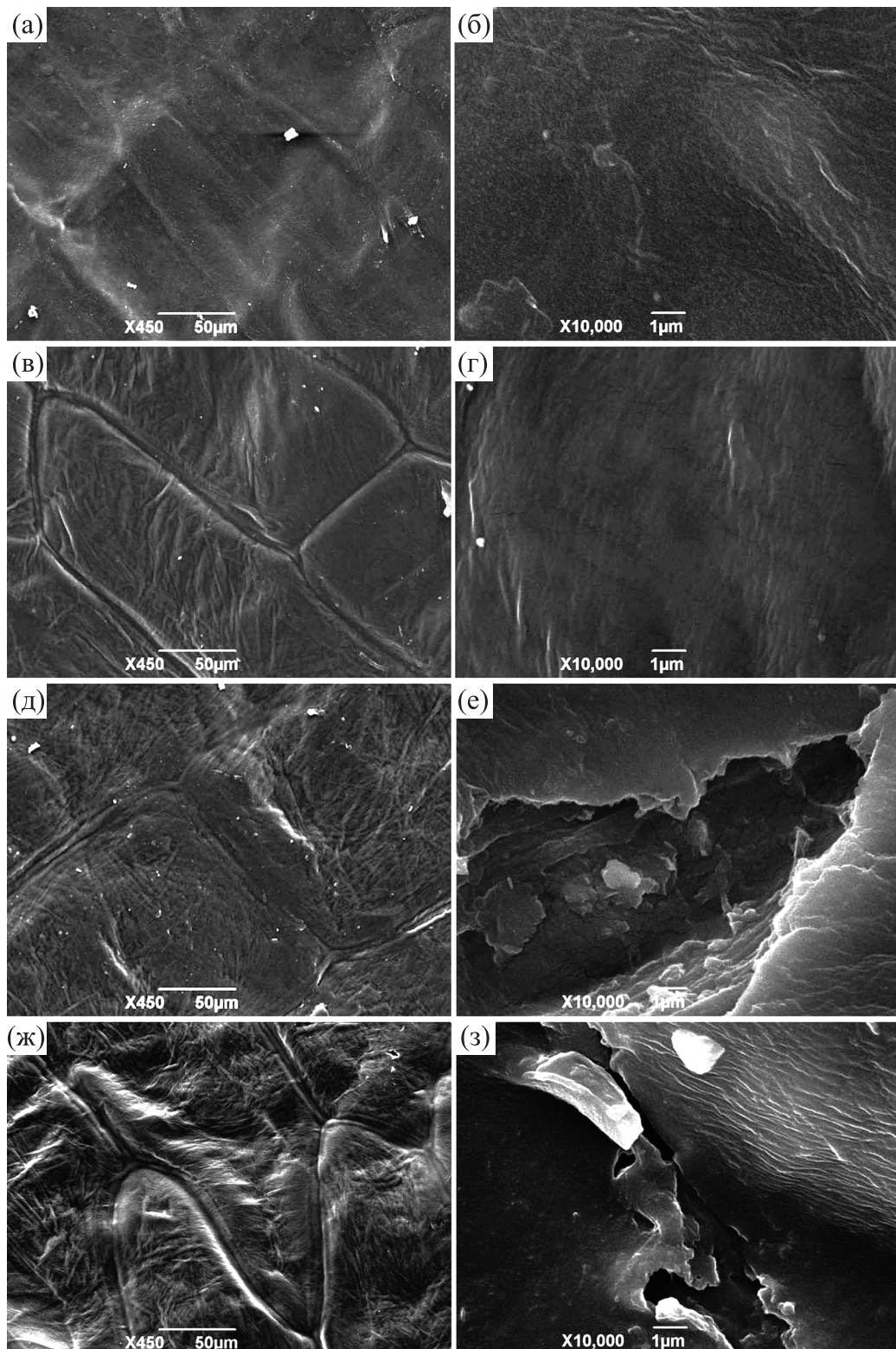
Для неокрашенного геля (рис. 2а) только на полосе, соответствующей 40 мин экстракции, локализован желтый пигмент с молекулярной массой между 17 и 26 кДа, соответствующий кверцетину. Эффект особенно выражен для образца в католите, но слабо визуализируется для экстракта ШЛ в анолите. Отметим, что для этого экстракта кроме основной полосы визуализируется слабоокрашенное пятно розового цвета (не показано), свидетельствующее о наличии дополнительной группы пигментов. Этот результат согласуется с предположением о модификации кверцетина под действием окисленной фракции ЭХАР и, следовательно, изменении спектральных характеристик экстракта.

На рис. 2б показан тот же гель, но после окрашивания Кумасси R-250, из которого следует

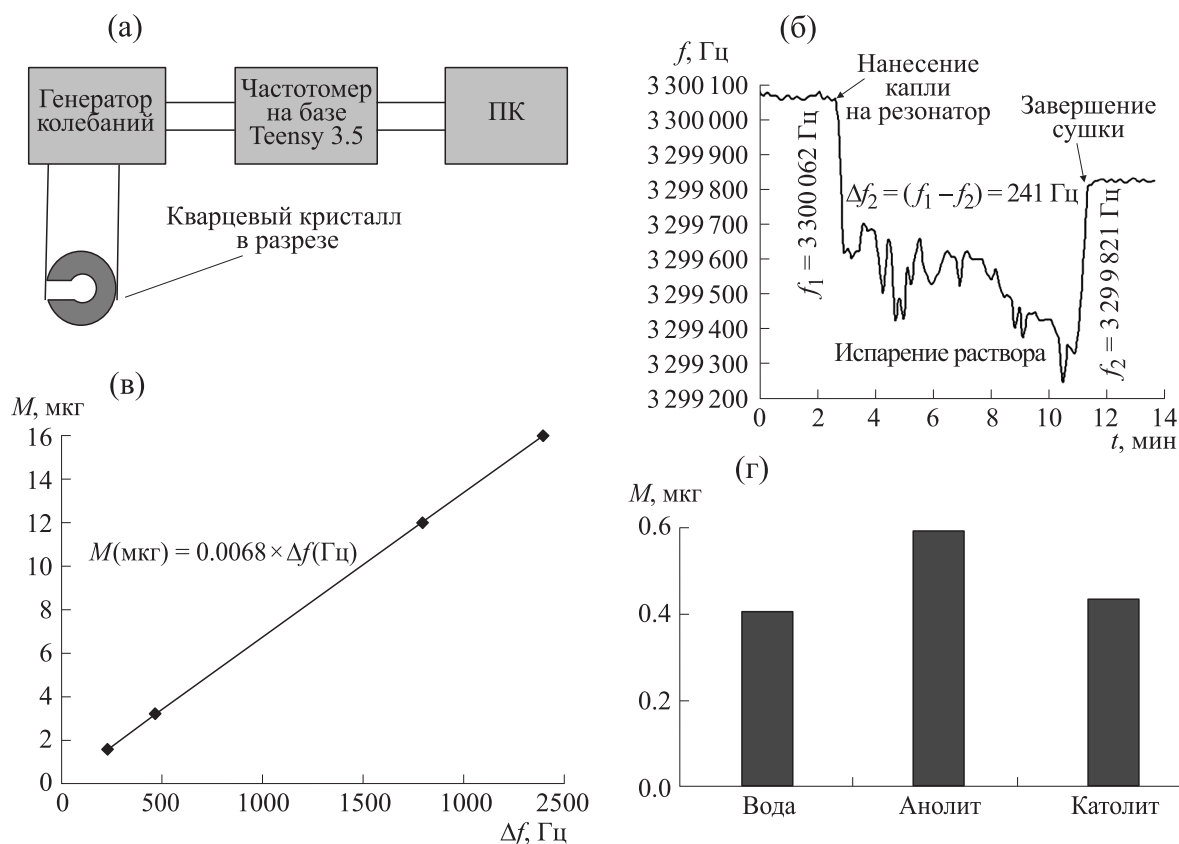
совпадение полос пигмента и белка. Это наблюдение подтверждает сопряжение хромофорной части с пептидом в структуре молекулы натурального кверцетина. В структуре окрашенного геля (рис. 2б) отсутствуют дополнительные полосы, возможно, из-за недостаточной чувствительности используемой версии метода. В экстракте, соответствующем 20 мин воздействия, метод гель-электрофореза не регистрирует наличие цветного рефлекса (рис. 2а), при том что в экстракте присутствует белок (рис. 2б). По-видимому, количества вещества в этом препарате не достаточно для визуализации хромофорной составляющей.

Результаты ЯМР-спектроскопии приведены на рис. 2в. Анализ полученных  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектров указывает на то, что при экстракции в случае католи появляются дополнительные сигналы в области ароматических соединений. Однако при интерпретации данных ЯМР-спектроскопии следует принимать во внимание то, что класс соединений, содержащих в структуре молекулы ароматические кольца, не ограничен только кверцетином и его производными, хотя это вещество и вносит основной вклад в состав исследуемых экстрактов.

**Сканирующая электронная микроскопия.** Эффективность экстракции из растительного сырья обусловлена полнотой разрушения целлюлозной оболочки растительной клетки. Эффект фракций ЭХАР изучали с помощью сканирующей электронной микроскопии, исследуя сохранность тонкой структуры ШЛ (рис. 3).



**Рис. 3.** Изображения поверхности шелухи лука желтого цвета после 40 мин экстракции ультразвуком: (а) и (б) — образец выдержан 40 мин в воде без обработки ультразвуком, (в) и (г) — результат обработки ультразвуком в воде; (д) и (е) — результат обработки ультразвуком в анолите; (ж) и (з) — результат обработки ультразвуком в католите. Микрофотографии получены посредством сканирующей электронной микроскопии в режиме вторичных электронов.



**Рис. 4.** Особенности QCM-микровзвешивания с помощью кварцевого резонатора сухого остатка, содержащегося в 2 мкм капле водного экстракта: (а) — блок-схема QCM-прибора; (б) — изменение со временем резонансной частоты кварцевого кристалла при высыхании капли водного раствора, нанесенной на его поверхность, показаны начало и завершение испарения воды; (в) — калибровочная линия зависимости сдвига ( $\Delta f$ ) резонансной частоты (в Гц) кварцевого кристалла от веса сухого остатка, содержащегося в капле эталонного водного раствора; (г) — вес сухого остатка в капле (2 мкм) экстракта шелухи лука желтого цвета после 40 мин обработки ультразвуком в катодите, анолите или воде.

На рис. 4 приведены микрофотографии препаратов ШЛ желтого цвета, полученных после 40 мин обработки ультразвуком в воде, анолите или катодите, а для сравнения — изображение поверхности препарата, который выдержан в воде, но без воздействия ультразвуком. При малом увеличении ( $450\times$ ) видны контуры отдельных клеток, формирующих поверхностный сухой слой лука. Анализ изображений, снятых при высоком увеличении, показывает наличие механических дефектов на поверхности клетки после обработки ШЛ в среде водных фракций ЭХАР. Кроме того, видна тонкая клеточная структура, что свидетельствует об удалении целлюлозной оболочки. Таким образом, ультразвуковая обработка в катодите и анолите обеспечивает более полное механическое разрушение структуры ШЛ, что является условием эффективной экстракции цитоплазматической компоненты растительной клетки.

**QCM-взвешивание сухого остатка экстракта.** Данный метод гравиметрии востребован в случае, когда объема анализируемого раствора недоста-

точно, чтобы выпариванием получить сухое вещество в количестве, необходимом для его аналитического взвешивания. Метод QCM-взвешивания ранее был апробирован для определения веса сухого остатка в объеме 2 мкл [10]. В основе лежит регистрация изменения резонансной частоты кварцевого кристалла после нанесения на его поверхность пленки (осадка) [15, 16]. Особенности определения веса с помощью рассматриваемого гравиметрического подхода поясняет рис. 4.

Концентрация веществ, указанная на диаграмме (рис. 4г), рассчитана для соответствующего водного раствора после 40 мин экстракции. Для того чтобы выполнить пересчет на сухой вес исходного образца, следует учесть разбавление ШЛ в экстрагирующей среде. Отметим, что QCM-взвешивание не обладает избирательностью, т.е. определяется суммарный вес всех нелетучих компонентов, содержащихся в исследуемой жидкости. Другими словами, микровзвешивание дублирует спектрометрию в области неспецифических UV-спектров. Действительно,

результаты QCM-измерения (рис. 4г) согласуются с данными спектрометрии (рис. 1а,в) и подтверждают заключение о том, что для ШЛ анолит наиболее эффективен как экстрагирующий агент, хотя в экстракте на католите лучше сохраняется цвет пигмента и, следовательно, молекула кверцетина (рис. 1б).

Завершая обсуждение результатов, можно сделать следующие выводы. Сочетанное действие фракций ЭХАР и ультразвука улучшает выделение веществ из растительной клетки шелухи лука, что подтверждено разными методами после сравнительного изучения полученных экстрактов. Обработка в католите и анолите вызывает более полное удаление и/или разрушение оболочки растительной клетки и, в результате, более эффективную экстракцию цитоплазматической компоненты растительной клетки. Действие окисленной фракции ЭХАР неоднозначно, так как анолит обладает наиболее выраженными экстрагирующими свойствами, но при этом меняет свойства кверцетина, окисляя хромофорную часть молекулы. По критерию сохранности пигмента лучшим экстрагирующим раствором является восстановленная фракция ЭХАР – католит. Это важный фактор, учитывая то, что экстракт шелухи лука востребован как натуральный краситель в промышленных объемах для пищевых технологий при производстве продуктов и полуфабрикатов питания [17, 18].

### БЛАГОДАРНОСТИ

Весь комплекс спектральных измерений и морфологические наблюдения выполнены с использованием приборной базы ЦКП «Структурно-функциональные исследования биосистем» при ИТЭБ РАН (Пушино).

### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 20-16-00019, <https://rscf.ru/project/20-16-00019/>).

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Katsampa P., Valsamedou E., Grigorakis S., and Makris D. P. A green ultrasound-assisted extraction process for the recovery of antioxidant polyphenols and pigments from onion solid wastes using Box–Behnken experimental design and kinetics. *Industrial Crops and Products*, **77**, 23 (2015). DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.09.039
2. Milea S. A., Aprodu I., Vasile A. M., Barbu V., Râpeanu G., Bahrim G. E., and Stănciuc N. Widen the functionality of flavonoids from yellow onion skins through extraction and microencapsulation in whey proteins hydrolysates and different polymers. *J. Food Engineer.*, **251**, 29 (2019). DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2019.02.003
3. Celano R., Docimo T., Piccinelli A. L., Gazzerо P., Tucci M., Di Sanzo R., Carabetta S., Campone L., Russo M., and Rastrelli L. Onion peel: turning a food waste into a resource. *Antioxidants*, **10**, 304 (2021). DOI: 10.3390/antiox10020304
4. Kumar M., Barbhai M., Hasan M., Dhumal S., Singh S., Pandiselvam R., Rais N., Natta S., Senapathy M., Sinha N., and Amarowicz R. Onion (*Allium cepa* L.) peel: A review on the extraction of bioactive compounds, its antioxidant potential, and its application as a functional food ingredient. *J. Food Sci.*, **87**, 4289 (2022). DOI: 10.1111/1750-3841.16297
5. Prodromidis P., Mourtzinis I., Biliaderis C., and Moschakis T. Stability of natural food colorants derived from onion leaf wastes. *Food Chem.*, **386**, 132750 (2022). DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.132750
6. Chadorshabi S., Hallaj-Nezhadi S., and Ghaseмпour Z. Red onion skin active ingredients, extraction and biological properties for functional food applications. *Food Chem.*, **386**, 132737 (2022). DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.132737
7. Yaqub A., Iqbal Z., Toyota T., Chaudhary N., Altaf A., Ahmad S., Majid M., and Liaqat L. Ultrasonic extraction of onion (*Allium cepa*) peel dye, its applications on silk fabric with bio-mordants and its antibacterial activity. *Clin. Med. Bio. Chem.*, **8** (6) (2020), <https://www.researchgate.net/publication/348298070>
8. Celano R., Docimo T., Piccinelli A., Gazzerо P., Tucci M., Di Sanzo R., Carabetta S., Campone L., Russo M., and Rastrelli L. Onion peel: turning a food waste into a resource. *Antioxidants*, **10**, 304 (2021). DOI: 10.3390/antiox10020304
9. Manzoор M., Singh J., Gani A., and Noor N. Valorization of natural colors as health-promoting bioactive compounds: phytochemical profile, extraction techniques, and pharmacological perspectives. *Food Chem.*, **362**, 130141 (2021). DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.130141
10. Pogorelov A. G., Gulín A. A., Pogorelova V. N., Panait A. I., Stankevich A. A., and Pogorelova M. A. Impact of a redox balance on polysaccharides in an aqueous solution. *Phys. Wave Phenomena*, **30**, 209 (2022). DOI: 10.3103/S1541308X22030086

11. Chemat F., Rombaut N., Sicaire A., Meullemiestre A., Fabiano-Tixier A., and Abert-Vian M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrason. Sonochem.*, **34**, 540 (2017). DOI: 10.1016/j.ultsonch.2016.06.035
12. Benucci I., Lombardelli C., Mazzocchi C., and Esti M. Natural colorants from vegetable food waste: recovery, regulatory aspects, and stability – a review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Safety*, **21**, 2715 (2022). DOI: 10.1111/1541-4337.12951
13. Hu Y., Yan B., Chen Z., Wang L., Tang W., and Huang C. Recent technologies for the extraction and separation of polyphenols in different plants: a review. *J. Renewable Mater.*, **10**, 1472 (2022). DOI: 10.32604/jrm.2022.018811
14. Yusoff I. M., Taher Z. M., Rahmat Z., and Chua L. S. A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins. *Food Res. Int.*, **157**, 111268 (2022). DOI: 10.1016/j.foodres.2022.111268
15. Kaur K., Mohammadpour R., Jaramillo I., Ghandehari H., Reilly C., Paine R., and Kelly K. Application of a quartz crystal microbalance to measure the mass concentration of combustion particle suspensions. *J. Aerosol Sci.*, **137**, 105445 (2019). DOI: 10.1016/j.jaerosci.2019.105445-105458
16. Couturier G., Vatinel S., Boisgard R., Aimé J., and Chabli A. Quartz crystal microbalance and evaporation of sessile droplets. *J. Appl. Phys.*, **106**, 054906 (2009). DOI: 10.1063/1.3204661.
17. Ren F., Nian Y., and Perussello C. Effect of storage, food processing and novel extraction technologies on onions flavonoid content: A review. *Food Res. Int.*, **132**, 108953 (2020). DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108953
18. Benito-Román Ó., Blanco B., Sanz M., and Beltrán S. Freeze-dried extract from onion (*Allium cepa* cv. Horcal) skin wastes: Extraction intensification and flavonoids identification. *Food Bioproducts Processing*, **130**, 92 (2021). DOI: 10.1016/j.fbp.2021.09.005

## Innovative Biophysical Approaches for Quercetin Extraction from Plant Cells

**A.G. Pogorelov\*, L.G. Ipatova\*, A.I. Panait\*, A.A. Stankevich\*,  
A.K. Yunusova\*, and V.N. Pogorelova\***

*\*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences,  
Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

The method for the extraction of quercetin from plant cells with the use of ultrasound in combination with metastable fraction from aqueous solution is proposed. The procedure enabled more efficient isolation of the cytoplasmic part due to etching and/or mechanical destruction of the cell membrane. The oxidized water fraction has the most pronounced extracting properties, but changes the properties of quercetin by oxidizing the chromophore part of the molecule. According to the criterion of pigment preservation, the best extraction solution is the reduced water fraction. To analyze the extract samples the following analytical methods were used: UV-Vis spectrometry, protein gel electrophoresis, <sup>1</sup>H-NMR spectrometry, and QCM weighing, as well as scanning electron microscopy.

*Keywords: quercetin, electrochemically activated aqueous solution, ultrasonic extraction, UV-Vis spectrometry, protein gel electrophoresis, scanning electron microscopy*