

**СВЕРХКРИТИЧЕСКАЯ ФЛЮИДНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ  
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ БИОМАССЫ МХА  
*POLYTRICHUM COMMUNE***

**Н.А. Будаев** — Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, Архангельск, Россия. Эл. почта: n.budaev@narfu.ru

**Д.С. Косяков** — Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, Архангельск, Россия. ORCID: 0000-0001-5223-6857. Эл. почта: d.kosyakov@narfu.ru

**А.В. Фалёва** — Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, Архангельск, Россия. ORCID: 0000-0002-8565-6871. Эл. почта: a.bezumova@narfu.ru

**И.И. Пиковской** — Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, Архангельск, Россия. ORCID: 0000-0002-6149-6770. Эл. почта: i.pikovskoj@narfu.ru

**А.А. Онучина** — Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, Архангельск, Россия. ORCID: 0000-0002-8976-3797. Эл. почта: a.onuchina@narfu.ru

**А.Д. Ивахнов** — Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, Архангельск, Россия. ORCID: 0000-0003-2822-9192. Эл. почта: ivahnov-tema@yandex.ru

**Н.В. Ульяновский** — Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, Архангельск, Россия. ORCID: 0000-0003-4796-9313. Эл. почта: n.ulyanovsky@narfu.ru

© 2025 г. Поступила в редакцию 25.07.2025 г. Прошла рецензирование 28.08.2025 г.  
Принята в печать 28.08.2025 г.

Листостебельный мох Кукушкин лен (*Polytrichum commune*, *P. commune*) широко распространен в природе, активно используется в народной медицине и является перспективным возобновляемым сырьем для получения ценных биологически активных веществ. В настоящем исследовании предложен способ извлечения липофильных экстрактивных веществ из биомассы *P. commune* с использованием сверхкритической флюидной экстракции смесью диоксида углерода с ацетоном (9 : 1). Реализация планированного эксперимента с варьированием температуры, давления и продолжительности экстракции позволила установить оптимальные условия проведения процесса для достижения максимальных значений выхода экстрактивных веществ (> 1,5 %), содержания в них полифенолов и антиоксидантной активности экстракта. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии — масс-спектрометрии высокого разрешения изучен компонентный состав получаемых экстрактов, основу которых составляют стильбеновый флавонон коммунин А, дитерпеноиды и пентациклические тритерпеноиды, полиненасыщенные жирные кислоты и феофитин А, обладающие высокой антиоксидантной и биологической активностью.

**К л ю ч е в ы е с л о в а:** сверхкритическая флюидная экстракция, мох, *Polytrichum commune*, биологически активные вещества.

## ВВЕДЕНИЕ

Листостебельный мох Кукушкин лен (*Polytrichum commune*, *P. commune*) известен как один из самых крупных мхов на планете благодаря высоте растения,

достигающей 20 см (в отдельных случаях до 40—50 см). Благодаря неприхотливости к условиям окружающей среды *P. commune* широко распространен в природе и образует большие колонии в местах с повышенной влажностью — сырых заболочиваемых таежных лесах, мокрых лугах и болотах [1]. Большие объемы биомассы *P. Commune*, доступные для заготовки, делают это растение перспективным возобновляемым сырьем, которое может использоваться для получения ценных соединений и, прежде всего, биологически активных веществ для создания новых лекарственных препаратов, пищевых добавок, косметических средств и пр.

Широко известно применение *P. commune* в народной медицине (в т. ч. традиционной китайской [2]) для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта, легких, респираторных инфекций, а также в качестве эффективного антисептического средства. В основе высокой биологической активности мха лежит специфический компонентный состав продуцируемых им вторичных метаболитов, к которым относятся различные соединения полифенольной природы с высокой антиоксидантной и антимикробной активностью (фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды), сескви- и тритерпеноиды, жирные кислоты [3—6]. Несмотря на распространенность растения, его химический состав до сих пор считается малоизученным. Сравнительно недавно в качестве важнейших экстрактивных веществ *P. commune* идентифицированы флавононы со стильбеновыми структурными фрагментами — коммунины А и В (communin A, communin B) а также флавоноидный гликозид охиоэнзин (ohioensin, CAS: 121353-47-7), обладающие противомикробными, противовоспалительными и противоопухолевыми свойствами [2]. Наши последние исследования позволили обнаружить также ранее неизвестные метаболиты мха — дигидрохалконы (олигомеры 3-гидроксифлоретина (3-hydroxyphloretin, CAS: 57765-66-9)) и необычный димер дигидрокоричного бибензила, получивший название поликоммунин А (polyscommunin A) [7, 8]. Указанные соединения отличаются исключительными антиоксидантными свойствами и потенциально могут проявлять целый ряд других видов биологической активности. Вышесказанное позволяет рассматривать мох *P. commune* как возможный уникальный, не имеющий аналогов, источник ценных биологически активных веществ.

Эффективные методы извлечения экстрактивных веществ из биомассы мха *P. commune* к настоящему времени также практически не отработаны. Известно применение для этих целей мацерации в этаноле и метаноле в течение 48 ч при температуре 37 °С [9]. Для аналитических целей использовали 24-часовую экстракцию метанолом с последующей характеристикой элементного, полифенольного и жирно-кислотного состава полученного экстракта [10], а также ультразвуковая экстракция 50 %-ным водным этанолом для извлечения полифенольных компонентов [8]. Высокую эффективность показала жидкостная экстракция под давлением, использовавшаяся нами ранее [7] в двухстадийном варианте (*n*-гексан и 95 % водный ацетон) для аналитического извлечения липидной фракции и дигидрохалконов.

Для переработки растительного сырья в существенно больших масштабах наиболее перспективным представляется метод сверхкритической флюидной экстракции (СФЭ) диоксидом углерода [11, 12], отличающийся экологичностью и экспрессностью и обеспечивающий возможность извлечения лабильных биологически активных соединений в относительно мягких условиях

(низкие температуры, отсутствие гидролитических воздействий). Применение СФЭ для получения экстрактов мхов может повысить эффективность извлечения целевых компонентов и открыть возможности для создания новых препаратов с ценными свойствами.

Цель настоящего исследования заключается в разработке и оптимизации подхода к извлечению биологически активных соединений из мха *P. commune* с использованием метода СФЭ, характеристике компонентного состава и антиоксидантной активности получаемых экстрактов.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Объект исследования

Объект исследования — листостебельный мох *Polytrichum commune* — отбирали в болотистом бореальном лесу в Приморском районе Архангельской области в августе 2024 г. Растительный материал сушили при комнатной температуре и хранили в герметичной таре в темноте. Для процесса экстракции сухую биомассу измельчали на ультрацентрифужной мельнице ZM 200 (Retsch, Германия). В работе использовали 1 мм фракцию размера частиц сырья, которая составила 90 % от всей массы. Влажность сухого сырья (7,49 %) определяли на анализаторе влажности HG63 (Mettler Toledo, США).

### Исчерпывающая экстракция в аппарате Сокслета

Экстракцию органическими растворителями проводили в аппарате Сокслета. Масса экстрагируемого растительного сырья составила ~50 г. В качестве экстрагентов последовательно использовали *n*-гексан и ацетон. Продолжительность каждой экстракции составила 24 ч.

### Сверхкритическая флюидная экстракция

Сверхкритическую флюидную экстракцию диоксидом углерода проводили в проточном режиме с использованием экстракционной системы MV-10ASFE (Waters, США). Система включала плунжерные насосы для подачи диоксида углерода и соразтворителя, экстракционные сосуды из нержавеющей стали объемом 50 мл, термостат и коллектор для сбора экстрактов.

Образец растительного сырья (3,6 г) помещали в экстракционный сосуд и термостатировали в течение 15 мин для достижения заданной температуры. Далее подавали диоксид углерода, содержащий 10 % соразтворителя, в качестве которого использовали ацетон квалификации «о.с.ч.» (расходы жидкого CO<sub>2</sub> и ацетона составляли 1,8 и 0,2 мл/мин соответственно). Ацетон также использовали в качестве домывающего растворителя, подаваемого с расходом 1 мл/мин в линию после экстракционной ячейки. Полученные экстракты упаривали на ротаторном испарителе RV-10 (IKA, Германия) до объема 3 мл, разбавляли деионизированной водой и лиофилизировали в течение 48 ч на установке LGJ-20 (Vikumer, Китай). Сухой экстракт взвешивали на аналитических весах и определяли выход в пересчете на массу абсолютно сухого растительного сырья.

Для нахождения оптимальных параметров СФЭ реализовывали планируемый эксперимент с построением ротатбельного композиционного униформ-плана второго порядка [13—15]; при этом варьировали три параметра,

влияющие на эффективность экстракции — давление ( $X_1$ ), температуру ( $X_2$ ) и продолжительность экстракции ( $X_3$ ). В качестве выходных параметров использовали выход экстракта ( $Y_1$ ), общее содержание полифенолов ( $Y_2$ ) и величину антиоксидантной активности ( $Y_3$ ).

В качестве нулевого уровня исходных параметров использовали величины 25 МПа, 60 °С, 60 мин соответственно. Выбранные относительно высокие значения давления и продолжительности экстракции способствуют увеличению содержания биологически активных веществ в конечном экстракте; при этом влияние температуры на процесс извлечения достаточно сложно прогнозировать [16]. Шаг изменения был установлен на уровне 5 МПа, 15 °С и 15 мин; таким образом звездное плечо для использованной модели составило 1,682. Полученные в ходе экспериментальной работы данные обрабатывали в программном пакете MS Excel (Windows, США).

### **Анализ полученных экстрактов**

Антиоксидантную активность определяли фотохемилюминесцентным методом (тушение люминесценции, обусловленной присутствием активных форм кислорода) с использованием специализированного анализатора Photochem (Analytik Jena AG, Германия) в соответствии с известной процедурой [17] и с использованием коммерчески доступного набора реагентов для изучения липидорастворимых соединений (Analytik Jena AG, Германия). Калибровку проводили непосредственно перед анализом с использованием стандартных растворов тролокса в метаноле в диапазоне концентраций 0,5—3 мг/л.

Общее содержание полифенолов определяли фотометрически по методу Фолина—Чокальтеу [18] с незначительными модификациями. К 5 мл реактива Фолина—Чокальтеу (10 %-ный водный раствор) добавляли 1 мл метанольного раствора сухого экстракта с концентрацией 0,1—0,2 мг/мл. Полученный раствор выдерживали 5 мин при комнатной температуре, затем добавляли 4 мл раствора гидрокарбоната натрия с концентрацией 60 г/л и выдерживали 60 мин. Абсорбцию полученных окрашенных продуктов определяли при длине волны 750 нм УФ- и видимого спектра на спектрофотометре Specord 250 Plus (Analytik Jena AG, Германия) в кварцевой кювете с длиной оптического пути 1 см. Градуировочную кривую строили с использованием галловой кислоты (ГК) в качестве стандарта.

Во всех случаях выполняли не менее трех параллельных измерений, обработку экспериментальных данных проводили методами математической статистики. Полученные значения относительного стандартного отклонения для вышеописанных методов анализа не превышали 5 %.

Изучение компонентного состава полученных экстрактов проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) — масс-спектрометрии высокого разрешения (МСВР) с помощью ВЭЖХ системы Nexera (Shimadzu, Япония), состоящей из дегазатора DGU-20A, двух хроматографических насосов LC-30AD, диодно-матричного спектрофотометрического детектора SPD-M20A и термостата колонок CTO-20A, соединенной с масс-спектрометром высокого разрешения на основе орбитальной ионной ловушки Q Exactive Plus (Thermo Scientific, США). Хроматографическое разделение осуществляли на колонке Nucleodur PFP (2 × 150 мм, 1,8 мкм, Macherey-Nagel, Германия) с пентафторфенильной обращенной неподвижной фазой в режиме градиентного элюирования. В качестве компонентов подвижной

фазы использовали ацетонитрил (А) и воду (В) с добавкой муравьиной кислоты (0,1 %). Применяли следующую программу градиента: 0—2 мин — 10 % А, 2—20 мин — линейный подъем до 100 % А, 20—25 мин — 100— % А. После завершения анализа проводили уравнивание системы с исходным составом подвижной фазы (10 % А) в течение 5 мин. Скорость потока устанавливали на уровне 400 мкл/мин. Общее время анализа составляло 30 мин. Температура колонки — 40 °С. Объем ввода образца — 5 мкл. Диодно-матричный детектор (ДМД) работал в режиме сбора полного спектра в диапазоне длин волн 210—600 нм.

Масс-спектрометрическое детектирование проводили в режиме регистрации положительно и отрицательно заряженных ионов с использованием электрораспылительной ионизации (ЭРИ). Устанавливали оптимизированные в ходе предварительных экспериментов параметры ионного источника, обеспечивающие максимальную интенсивность масс-спектров анализов: давление осушающего газа — 30 psi (фунтов на квадратный дюйм), потоки распыляющего газа и газа завесы — 10 и 3 условных единицы, температура линии десольватации — 320 °С, температура осушающего газа — 150 °С, напряжение на капилляре — 3,2—3,5 кВ, радиочастотное напряжение на S-линзе — 55 у.е. Сканирование масс-спектров осуществляли в диапазоне  $m/z$  150—1500 при величине спектрального разрешения, равной 70000 (при  $m/z$  200). Регистрацию тандемных масс-спектров выполняли автоматически в диапазоне  $m/z$  ионов-продуктов 50—1500 с использованием функции информационно-зависимого сбора данных (Full-MS/dd-MS2). Соударительной фрагментации с энергией 30—50 эВ подвергали ионы-предшественники с интенсивностью сигнала выше  $5 \cdot 10^5$ , величина окна изоляции составляла 0,4 Да. В процессе регистрации использовали режим автоматического контроля (AGC) заполнения квадратной ловушки (C-Trap) с целевым значением количества ионов  $10^6$ .

Управление масс-спектрометром, сбор и первичную обработку данных осуществляли при помощи программного обеспечения Xcalibur (Thermo Scientific, США). Калибровку масс-спектрометра проводили перед анализом с использованием рекомендованной производителем стандартной смеси Pierce LTQ (Thermo Scientific, Waltham, США). Идентификацию детектируемых соединений осуществляли на основе их элементных составов (рассчитанных по точным массам), а также тандемных масс-спектров с использованием пакетов программного обеспечения Compound Discoverer, Freestyle (Thermo Fisher Scientific, США) и поиска в масс-спектрометрической базе данных mzCloud (HighChem, Словакия).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Оптимизация процедуры экстракции

Результаты исчерпывающей экстракции растительного сырья неполярным (*n*-гексан) и умеренно полярным (ацетон) органическими растворителями в аппарате Сокслета представлены в табл. 1. Достиженные выходы экстрактивных веществ составили 1,7 и 3,2 % от исходного материала, что говорит о существенном преимуществе ацетона как экстрагента, связанном с его высокой растворяющей способностью по отношению к полифенольным соединениям. Действительно, полученный ацетоновый экстракт содержал в три раза больше полифенольных соединений (в пересчете на галловую кислоту)

Таблица 1

**Выход экстракта, его антиоксидантная активность и содержание полифенольных соединений при экстракции по Сокслету биомассы мха *P. Commune***

Экстрагент	Выход, %	Содержание полифенолов*, мг/г	Антиоксидантная активность экстракта**, мг/г
Гексан	1,7	17,18 ± 0,3	159 ± 1,7
Ацетон	3,2	61,33 ± 0,7	329 ± 1,4

\* В эквиваленте галловой кислоты.

\*\* В эквиваленте тролокса.

и обладал в два раза большей антиоксидантной активностью по сравнению с гексановым.

Очевидно, что значительная антиоксидантная активность гексанового экстракта обусловлена, в основном, присутствием в нем липофильных соединений, к которым относятся ненасыщенные жирные кислоты, каротиноиды и производные хлорофилла. Несмотря на то, что детальное изучение их компонентного состава и разработка подходов к выделению из биомассы мха является актуальной задачей, фокус настоящего исследования был смещен на извлечение более широкого круга биологически активных компонентов, которое возможно при использовании сверхкритического диоксида углерода с добавкой ацетона как более полярного экстрагента, способного одновременно извлекать липофильные соединения и полифенолы. Последние представляют наибольший интерес среди всех вторичных метаболитов *P. Commune*, что обусловило применение нами в качестве экстрагента в СФЭ биомассы мха смеси диоксида углерода с ацетоном (10 %), которую использовали во всех дальнейших экстракционных экспериментах. Выбор ацетона в качестве соразтворителя обусловлен также его доступностью в промышленных масштабах, дешевизной, низкой токсичностью и успешным применением в качестве экстрагента для извлечения различных полифенольных соединений, в том числе из мхов [19].

В соответствии с выбранной стратегией планированного эксперимента выполнено двадцать экстракций растительного материала (табл. 2), шесть из которых находятся в центре экспериментального плана.

Полученные значения выхода экстрактивных веществ ( $Y_1$ ) варьировались в диапазоне от 0,78 % до 1,66 %. В результате проведения математической обработки экспериментальных данных и проверки полученных коэффициентов на значимость до возрастания критерия Фишера [20], получали регрессионное уравнение в сокращенном виде:

$$Y_1 = 1,17 + 0,11x + 0,1y + 0,11z + 0,1xz - 0,08y^2. \quad (1)$$

Проверка уравнения (1) с помощью критерия Фишера (F) показала, что его рассчитанное значение составляло 2,24, что меньше табличного (4,62). Коэффициент множественной корреляции ( $R_{y,x}$ ) был рассчитан по уравнению (2) и составил 0,79. Средняя ошибка аппроксимации ( $\bar{A}$ ) согласно уравнению (3) составила 9,72 %.

$$R_{y,x} = \frac{\sum(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x - \bar{x})^2 \sum(y - \bar{y})^2}}, \quad (2)$$

Таблица 2

Матрица планированного эксперимента и полученные значения целевых параметров выхода экстракта ( $Y_1$ ), содержания в нем полифенолов ( $Y_2$ ) и антиоксидантной активности экстракта ( $Y_3$ )

№	Результат в явном виде			Результат в кодированной форме			$Y_1$ , %	$Y_2^*$ , мг/г	$Y_3^{**}$ , мг/л
	$X_1$ , МПа	$X_2$ , °С	$X_3$ , мин	$x_1$	$x_2$	$x_3$			
1	20	45	45	-1	-1	-1	0,95	7,41 ± 0,01	61,36 ± 0,05
2	30	45	45	+1	-1	-1	0,78	16,22 ± 0,08	74,11 ± 0,03
3	20	75	45	-1	+1	-1	0,99	21,00 ± 0,05	78,78 ± 0,11
4	30	75	45	+1	+1	-1	1,04	9,35 ± 0,01	99,63 ± 0,01
5	20	45	75	-1	-1	+1	0,81	16,39 ± 0,06	68,18 ± 0,05
6	30	45	75	+1	-1	+1	1,44	18,61 ± 0,02	71,14 ± 0,02
7	20	75	75	-1	+1	+1	1,19	9,26 ± 0,02	112,84 ± 0,1
8	30	75	75	+1	+1	+1	1,21	19,74 ± 0,01	122,30 ± 0,09
9	16,6	60	60	-1,682	0	0	1,08	12,70 ± 0,01	56,60 ± 0,02
10	33,4	60	60	+1,682	0	0	1,66	13,28 ± 0,03	72,66 ± 0,1
11	25	34,77	60	0	-1,682	0	0,78	8,94 ± 0,03	60,05 ± 0,05
12	25	85,23	60	0	+1,682	0	1,33	28,46 ± 0,3	134,30 ± 0,09
13	25	60	34,77	0	0	-1,682	1,05	10,89 ± 0,03	94,60 ± 0,01
14	25	60	85,23	0	0	+1,682	1,44	16,33 ± 0,07	101,14 ± 0,01
15	25	60	60	0	0	0	1,31	12,20 ± 0,05	128,90 ± 0,01
16	25	60	60	0	0	0	1,13	13,90 ± 0,01	131,10 ± 0,07
17	25	60	60	0	0	0	1,25	17,20 ± 0,02	133,54 ± 0,04
18	25	60	60	0	0	0	1,23	21,00 ± 0,03	137,96 ± 0,1
19	25	60	60	0	0	0	1,14	18,50 ± 0,11	135,10 ± 0,04
20	25	60	60	0	0	0	0,96	14,20 ± 0,01	134,18 ± 0,02

\* В эквиваленте галловой кислоты.

\*\* В эквиваленте тролокса.

где  $x$  — экспериментальные данные;  $y$  — добавленные расчетные коэффициенты;  $\bar{x}$ ,  $\bar{y}$  — средние значения соответствующих величин.

$$\bar{A} = \frac{1}{k} \sum_{i=1}^k \left| \frac{y_i - \bar{y}_i}{y_i} \right| \cdot 100, \quad (3)$$

где  $y_i$  — расчетные коэффициенты;  $\bar{y}_i$  — средние значения расчетных коэффициентов;  $k$  — количество экспериментов.

Таблица 3

Статистические критерии достоверности полученных зависимостей целевых параметров от давления и температуры СФЭ

Целевой параметр	Мин. значение	Макс. значение	F	F <sub>расч.</sub>	R <sub>y,x</sub>	$\bar{A}$
Y <sub>1</sub> , %	0,78	1,66	2,24	4,62	0,79	9,72
Y <sub>2</sub> , мг/г*	7,41	28,46	3,95	4,5	0,52	22,38
Y <sub>3</sub> , мг/г**	56,60	137,96	4,87	4,95	0,99	3,48

\* В эквиваленте галловой кислоты.

\*\* В эквиваленте тролокса.

Таким образом, эмпирическое уравнение (1) можно считать адекватным. Аналогичным образом получены регрессионные уравнения для целевых параметров Y<sub>2</sub> (4) и Y<sub>3</sub> (5), статистические критерии для которых указаны в табл. 3.

$$Y_2 = 16,5 + 2,45y + 1,4z + 1,9xz; \quad (4)$$

$$Y_3 = 133,3 + 5,35x + 19,3y + 5,2z - 2,65xz + 6,6yz - 23,8x^2 - 12,3y^2 - 12,06z^2. \quad (5)$$

Получение достоверных регрессионных уравнений позволило построить поверхности отклика целевых параметров на изменение температуры и давления сверхкритического флюида (рис. 1–3), а также определить оптимальные значения данных параметров для получения экстракта (табл. 4). Ожидается, что продолжительность экстракции и давление положительно влияют на величину выхода экстрактивных веществ Y<sub>1</sub> [21], в то время как увеличение температуры выше 60 °С не оказывает значительного эффекта (рис. 1).

Более того, при температурах выше 67 °С наблюдается некоторое снижение эффективности экстракции. Вероятно, дальнейшее увеличение выхода экстрактивных веществ возможно при добавлении больших количеств соразвителя, что не представляется целесообразным из экономических и экологических соображений.

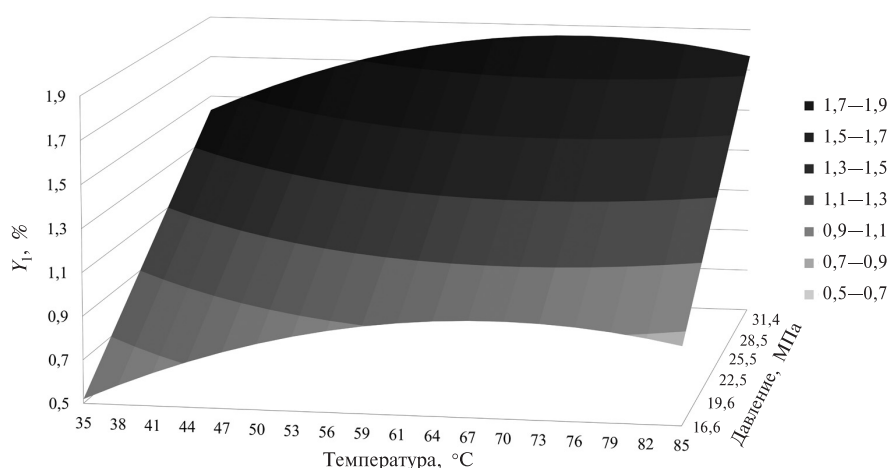


Рис. 1. Поверхность отклика функции Y<sub>1</sub> на изменение температуры и давления

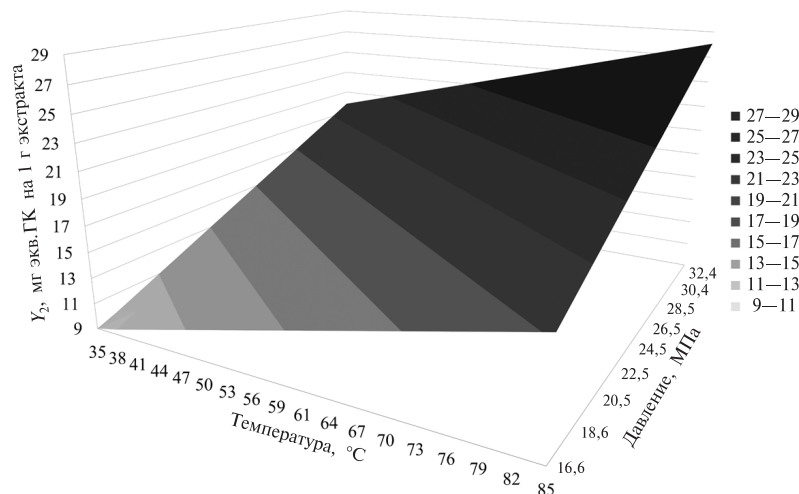


Рис. 2. Поверхность отклика функции  $Y_2$  на изменение температуры и давления

Несмотря на то, что давление влияет на извлечение полифенольных соединений аналогичным образом, как и на выход экстрактивных веществ, температурная зависимость содержания полифенолов в экстракте имеет иной вид. Величина параметра  $Y_2$  монотонно увеличивается с ростом температуры во всем исследованном диапазоне ее значений независимо от давления СКФ (рис. 2).

Как следствие, наилучшие условия в этом случае достигаются при максимальных достигнутых в наших экспериментах значениях температуры и давления. Такое различие в откликах параметров  $Y_1$  и  $Y_2$  объясняется присутствием в получаемых экстрактах значительных количеств веществ, не относящихся к классу полифенолов, для которых эффекты повышения растворимости и возрастания коэффициентов диффузии с ростом температуры [22] не являются определяющими. Причиной наблюдаемого феномена может быть также значительная вовлеченность полифенолов мха в образование ковалентных связей с полисахаридной матрицей, гидролитическому разрушению которых и высвобождению свободных фенолов способствуют повышенные температуры.

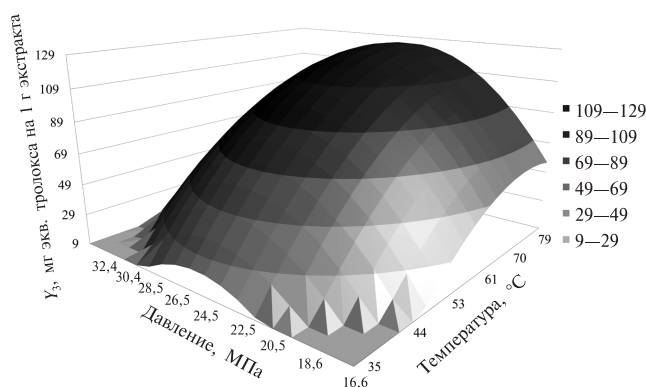


Рис. 3. Поверхность отклика функции  $Y_3$  на изменение температуры и давления

Совершенно иная картина наблюдается для антиоксидантной активности экстракта, зависимость которой от температуры и давления носит выраженный экстремальный характер (рис. 3). Максимальная величина данного целевого параметра достигается при давлении 25,4 МПа и температуре 74 °С; при этом наблюдаемый эффект температуры аналогичен полученному для выхода экстракта (рис. 1). Такой результат можно объяснить тем, что повышенная температура приводит к некоторой деградации части антиоксидантных соединений или снижению их растворимости в СКФ. Экстремальная зависимость  $Y_3$  от давления, демонстрирующая высокое содержание антиоксидантов лишь в довольно ограниченном диапазоне давлений от 20 до 30 МПа, представляет наибольший интерес. Отрицательное влияние высоких давлений может быть связано с механическим уплотнением растительного материала и, как следствие, затруднением извлечения некоторых компонентов.

Таким образом, оптимальные условия проведения экстракции несколько различаются в зависимости от выбранного целевого параметра (табл. 4), что связано с влиянием давления и температуры на относительное содержание различных компонентов в экстракте.

Для проверки построенных моделей проводили подтверждающий эксперимент. Достигнутые при этом значения  $Y_1$ ,  $Y_2$ , и  $Y_3$  были близки к рассчитанным на основе полученных уравнений регрессии, что доказывает корректность построения математической модели и ее способность прогнозировать результаты эксперимента с выбранными параметрами СФЭ.

Важнейшим фактором, определяющим направления практического использования извлекаемых экстрактивных веществ и обуславливающим полученные для них интегральные характеристики, является компонентный состав СФЭ экстрактов мха. Для его детальной характеристики использовали метод жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием высокого разрешения в сочетании как с «ручным» анализом масс-спектрометрических данных, так и с поиском в онлайн-библиотеке tandemных масс-спектров.

Таблица 4

**Оптимальные условия проведения СФЭ для разных целевых параметров, рассчитанные и экспериментально полученные для них величины выхода экстрактивных веществ ( $Y_1$ ), содержания полифенолов в экстракте ( $Y_2$ ) и его антиоксидантной активности ( $Y_3$ )**

Фактор	Целевой параметр		
	$Y_1$	$Y_2$	$Y_3$
Давление, МПа	33,4	33,4	25,4
Температура, °С	70	85	74
Продолжительность, мин	85	85	67
Расчетное значение	1,85 %	28,1 мг/г*	143 мг/г**
Экспериментальное значение	1,56 %	24,9 мг/г*	136 мг/г**
Стандартная ошибка, %	15,7 %	11,6 мг/г*	6,3 мг/г**

\* В эквиваленте галловой кислоты.

\*\* В эквиваленте тролокса.

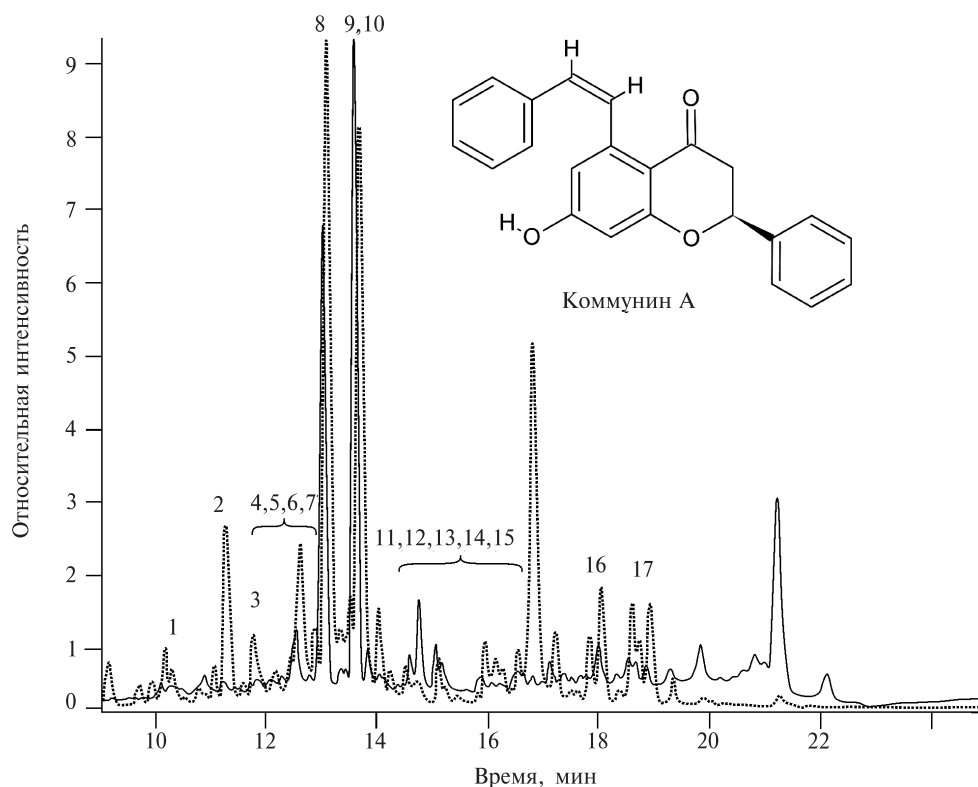
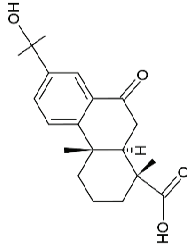
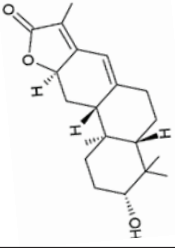
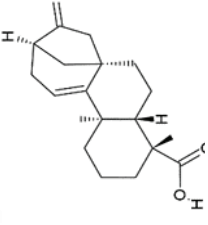
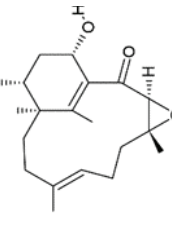


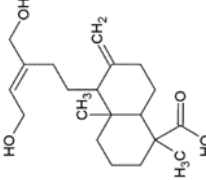
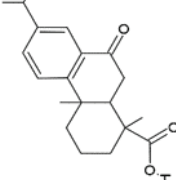
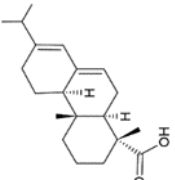
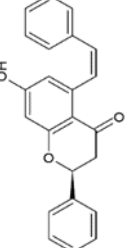
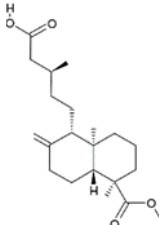
Рис. 4. ВЭЖХ-УФ (сплошная линия) при  $\lambda = 280$  нм и ВЭЖХ-МС (пунктир) хроматограммы СФЭ-экстракта мха *Polytrichum commune*

Для быстрой дискриминации ароматических соединений (преимущественно полифенолов) и повышения надежности идентификации дополнительно использовали спектрофотометрическое детектирование в УФ-области.

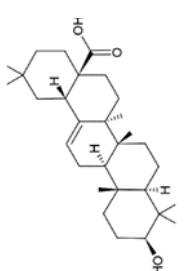
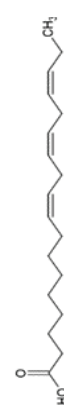
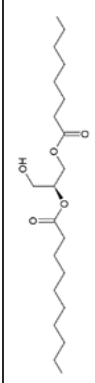

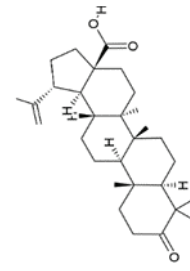
Полученная хроматограмма экстракта, выделенного в оптимальных условиях СФЭ для достижения максимального выхода, представлена на рис. 4. Независимо от техники детектирования, на ней выделяются два доминирующих пика (№ 8 и 9), соответствующих важнейшим полифенольным вторичным метаболитам *P. commune* — комунину А и его изомеру с идентичным тандемным масс-спектром (вероятно, следствие *цис-транс*-изомерии), обладающим высокой антиоксидантной и биологической активностью [23–26]. Очевидно, именно эти соединения отвечают за высокие показатели содержания полифенолов и, в значительной степени, антиоксидантной активности. Отсутствие среди мажорных компонентов экстракта известных из литературы полифенольных метаболитов *P. commune*, таких как олигомерные дигидрохалконы, охиознзин и поликоммунин, может быть вызвано относительно низкой растворяющей способностью экстрагента по отношению к соединениям с относительно высокой молекулярной массой, а также вовлеченностью значительной части полифенолов в образование ковалентных связей с полисахаридной матрицей растительного материала. Остальные важнейшие идентифицированные вторичные метаболиты мха не фенольной природы (табл. 5) представлены целым набором дитерпеноидов (в том числе смоляными

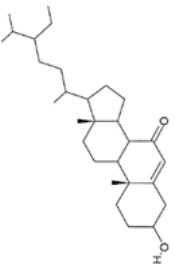
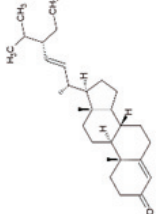
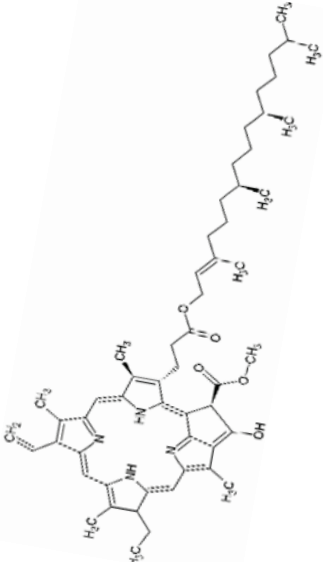
Таблица 5  
 Вторичные метаболиты мха *Robyricium sotthiae*, предположительно идентифицированные в составе сверхкритического флюидного экстракта методом ВЭЖХ-МСВР с электрораспылительной ионизацией

№	$t_R$ , мин	Ион	$m/z_{эксп}$	$m/z_{теор}$	$\Delta m/z$ , ppm	Брутто-формула	Ионы-продукты, $m/z$	Идентифицированные соединения
1	10,169	$[M+H]^+$	331,1906	331,1909	0,75	$C_{20}H_{26}O_4$	313, 267, 229, 203, 157, 91	 15-Гидрокси-7-оксодекандиеновая кислота
2	10,91	$[M+H-H_2O]^+$	317,2114	317,2116	0,98	$C_{20}H_{30}O_4$	317, 253, 197, 149, 121, 93	 (3R,4aS,10aR,11aR,11bS)-3-Гидрокси-4,4,8,11b-тетраметил-2,3,4a,5,6,10a,11,11a-октагидро-1H-нафтол (2,1-f)(1)бензофуран-9-он
3	11,755	$[M+H]^+$	301,2164	301,2167	0,65	$C_{20}H_{28}O_2$	283, 255, 199, 133, 109, 93	 Каура-9(11),16-диен-18-овая кислота
4	12,291	$[M+H-H_2O]^+$	319,2270	319,2273	0,83	$C_{20}H_{30}O_3$	306, 273, 225, 163, 135, 95	 (3S,5R,8E,12S,13R,15S)-15-Гидрокси-5,9,12,13,16-пентаметил-4-оксагрипиколол [10.3.1.03,5]гексадека-1(16),8-диен-2-он

5	12,432	[M+H] <sup>+</sup>	337,2375	337,2378	0,27	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	291, 235, 171, 147, 107, 79	 <p>5-[(3E)-5-Гидрокси-3-(триметил-3-пентен-1-ил)-1,4-диметил-6-метилдендека-гидро-1-нафталенкарбоновая кислота</p>
6	12,622	[M+H] <sup>+</sup>	315,1957	315,1960	0,61	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub>	300, 269, 213, 187, 145, 91	 <p>1,4a-Диметил-9-оксо-7-пропан-2-ил-3,4,10,10a-тетрагидро-2H-фенантрин-1-карбоновая кислота</p>
7	12,888	[M+H] <sup>+</sup>	303,2319	303,2324	0,56	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	285, 257, 201, 159, 109, 95	 <p>Абиетиновая кислота</p>
8	13,02	[M+H] <sup>+</sup>	343,1332	343,1334	0,72	C <sub>23</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	307, 247, 224, 167, 123, 91	 <p>Коммунин А</p>
9	13,58	[M+H] <sup>+</sup>	343,1333	343,1334	0,17	C <sub>23</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	307, 247, 224, 167, 123, 91	Коммунин А (изомер)
10	13,65	[M+H] <sup>+</sup>	351,2535	351,2527	0,11	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	273, 213, 185, 149, 121, 93	 <p>5-[5-(Метоксикарбонил)-5,8a-диметил-2-метилендекагидронафтален-1-ил]-3-метилпентановая кислота</p>

Продолжение таблицы 5

№	$t_R$ , мин	Ион	$m/z_{\text{эксп}}$	$m/z_{\text{теор}}$	$\Delta m/z_{\text{ррт}}$	Брутто-формула	Ионы-продукты, $m/z$	Идентифицированные соединения
11	14,59	$[M+H-H_2O]^+$	457,3681	457,3681	0,40	$C_{30}H_{48}O_3$	433, 389, 272, 191, 121, 107	 <p>Олеиновая кислота</p>
12		$[M+H]^+$	279,2324	279,2319	0,28	$C_{18}H_{30}O_2$	237, 173, 159, 131, 95, 67	 <p><math>\alpha</math>-Линоленовая кислота</p>
13		$[M+H]^+$	443,3733	443,3736	0,43	$C_{26}H_{50}O_5$	425, 344, 284, 227, 145, 95	 <p>(2S)-1-Гидрокси-3-(октаноилокси)пропан-2-ил деканоат</p>
14	15,098	$[M+H]^+$	303,2320	303,2324	0,76	$C_{20}H_{30}O_2$	295, 243, 201, 159, 131, 91	 <p>Эйкозапентаеновая кислота</p>
15	16,229	$[M+H]^+$	441,3728	441,3732	0,22	$C_{30}H_{48}O_2$	436, 324, 283, 241, 185, 107	 <p>3-Оксо-бетаулин</p>

16	17,96	[M+H] <sup>+</sup>	429,3731	429,3732	0,51	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	400, 329, 247, 205, 165, 109	 <p>7-Оксо-β-ситостирол</p>
17	18,64	[M+H] <sup>+</sup>	411,3622	411,3626	0,48	C <sub>29</sub> H <sub>46</sub> O	356, 312, 265, 215, 161, 97	 <p>Стигмаста-4,22-диен-3-он</p>
18	21,22	[M+H] <sup>+</sup>	871,5726	871,5737	-0,65	C <sub>55</sub> H <sub>74</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub>	662, 533, 459, 417, 145, 6	 <p>Феофيتين А</p>

кислотами, преимущественно абиетиновой), пентациклическими тритерпеноидами (олеаноловой кислотой и производным бетулина) с высокой биологической активностью, известным противоопухолевым и противовоспалительным действием [27, 28], исключительно ценными полиненасыщенными жирными кислотами (линоленовая, эйкозапентаеновая), а также растительными стероидами (производные ситостерина и стигмастанона). Последние также отличаются заметной противоопухолевой активностью, но важнейшим направлением их положительного действия на организм человека является снижение риска отложений холестерина и, как следствие, сердечно-сосудистых заболеваний [29]. В заметных количествах в экстракте присутствуют важные для адаптации к абиотическому стрессу диглицериды [30], а также производное хлорофилла феофитин А.

В целом, состав полученного экстракта может считаться совершенно уникальным как с точки зрения совместного присутствия указанных компонентов, так и их биологической ценности/активности, которая может дополнительно усиливаться за счет синергических эффектов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сверхкритическая флюидная экстракция диоксидом углерода с добавкой 10 % ацетона в качестве соразтворителя позволяет эффективно извлекать комплекс липофильных вторичных метаболитов из биомассы листового мха *Polytrichum commune*. Получаемые экстракты отличаются значительным содержанием полифенольных соединений (до 25–30 мг/г в эквиваленте галловой кислоты) и высокой антиоксидантной активностью (до 140 мг/г в эквиваленте тролокса); при этом зависимости данных характеристик от давления и температуры сверхкритического флюида существенно различаются. Наибольший выход экстракта (1,5–2 % от массы растительного сырья), сопоставимый с результатами исчерпывающей экстракции по Сокслету, достигается при температуре 70 °С и давлении ~33 МПа при продолжительности процесса 85 мин; при этом достижение максимального содержания полифенольных соединений и наивысшей антиоксидантной активности требует некоторого повышения температуры экстракции и существенного (до 25 МПа) снижения давления соответственно. Компонентный состав полученного экстракта отличается уникальным сочетанием стильбенового флавонона коммунина А, дитерпеноидов (в том числе абиетиновой кислоты), пентациклических тритерпеноидов, ненасыщенных жирных кислот и феофитина А, обладающих высокой антиоксидантной и биологической активностью. Это позволяет рассматривать СФЭ как перспективный экологически безопасный метод предварительной обработки биомассы мха при реализации технологий биорефайнинга с получением ценного сырья для фармацевтической и пищевой промышленности, а также производства косметических препаратов и биологически активных добавок. Дальнейшие исследования должны быть направлены на повышение экономической эффективности СФЭ биомассы мха, прежде всего за счет применения техник предварительной активации растительного материала (механические или химические воздействия для разрушения связей полифенольных соединений с полисахаридной матрицей) с целью повышения выхода целевых компонентов.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием «Арктика» Северного (Арктического) федерального университета при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (проект государственного задания Лаборатории химии природных соединений и биоаналитики № FSRU-2024-0004).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Klavina L., Springe G., Nikolajeva V., Martsinkevich I., Nakurte I., Dzabijeva D., Steinberga I. // *Molecules*. 2015. Vol. 20. No 9. P. 17221
2. Guo Z.F., Bi G.M., Zhang Y.H., Li J.H., Meng D.L. // *Bioorganic Chemistry*. 2020. Vol. 102. P. 104087.
3. Lee C.C., Hsieh H.J., Hsieh C.H., Hwang D.F. // *Environmental toxicology and pharmacology*. 2014. Vol. 38. No 3. P. 761.
4. Cragg G.M., Newman D.J. // *J. Ethnopharmacology*. 2005. Vol. 100. No 1. P. 72.
5. Zheng G.Q., Chang C.J., Stout T.J., Clardy J., Ho D.K., Cassidy J.M. // *J. Org. Chem.* 1993. Vol. 58, No 2. P. 366.
6. Zheng G.Q., Ho D.K., Elder P.J., Stephens R.E., Cottrell C.E., Cassidy J.M. // *J. Natur. Products*. 1994. Vol. 57. No 1. P. 32.
7. Faleva A.V., Ulyanovskii N.V., Falev D.I., Onuchina A.A., Budaev N.A., Kosyakov D.S. // *Metabolites*. 2022. Vol. 12. No 10. P. 974.
8. Faleva A.V., Ulyanovskii N.V., Budaev N.A., Falev D.I., Onuchina A.A., Belesov A.V., Kosyakov D.S. // *Natur. Product Research*. 2024. DOI: 10.1080/14786419.2024.2417837.
9. Rol C.K., Joon T.Y., Yoke C.M., Shun T.J., Abbasiliasi S., Kee W.K., Hock O.G. // *J. Experimental Biology and Agricultural Sciences*. 2022. Vol. 10. P. 894.
10. Okan O.T. // *Bioresources*. 2025. Vol. 20. No 1. P. 305.
11. Vidwathpriya K., Sriranjani S., Niharika P.K., Anil Kumar N.V. *Drug Discovery and Design Using Natural Products* / Ed. J.N. Cruz. Springer Nature, 2023. P. 177.
12. Herzyk F., Piłakowska-Pietras D., Korzeniowska M. // *Foods*. 2024. Vol. 13. No 11. P. 1713.
13. Nazarov N.G. // *Measurement Techniques*. 2001. Vol. 44. No 9. P. 887.
14. Mason R.L., Gunst R.F., Hess J.L. *Statistical design and analysis of experiments: with applications to engineering and science*. 2nd ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2003.
15. Саутин С.Н. Планирование эксперимента в химии и химической технологии. Л.: Химия, 1975. С. 48.
16. Atwi-Ghaddar S., Zerwette L., Destandau E., Lesellier E. // *Molecules*. 2023. Vol. 28. No 20. P. 7060.
17. Pegg R.B., Amarowicz R., Naczek M., Shahidi F. *Antioxidant Measurement and Applications* / Eds. F. Shahidi, C.T. Ho. ACS Publications, 2007. P. 140.
18. Singleton V.L., Rossi J.A. // *Am. J. Enology and Viticulture*. 1965. Vol. 16. No 3. P. 144.
19. Nardella F., Prothmann J., Sandahl M., Spegel P., Ribechini E., Turner C. // *RSC Advances*. 2023. Vol. 13. No 32. P. 21945.
20. Souza C.R., Bott R.F., Oliveira W.P. // *Latin Am. J. Pharmacy*. 2007. Vol. 26. No 5. P. 682.
21. Ruiz-Domínguez M.C., Medina E., Salinas F., Buguéño W., Fuentes J.L., Vílchez C., Garbayo I., Cerezal-Mezquita P. // *Antioxidants*. 2022. Vol. 11. No 7. P. 1248.
22. Marillán C., Uquiche E. // *J. Supercrit. Fluids*. 2023. Vol. 197. P. 105903.
23. Asakawa Y. // *Pure and Applied Chemistry*. 2007. Vol. 79. No 4. P. 557.
24. Falev D.I., Ovchinnikov D.V., Voronov I.S., Faleva A.V., Ulyanovskii N.V., Kosyakov D.S. // *Pharmaceuticals*. 2022. Vol. 15. No 5. P. 629.
25. Voronov I.S., Falev D.I., Faleva A.V., Ulyanovskii N.V., Kosyakov D.S. // *Molecules*. 2023. Vol. 28. No 9. P. 3945.
26. Fu P., Lin S., Shan L., Lu M., Shen Y. H., Tang J., Liu R.H., Zhang X., Zhu R.L., Zhang W.D. // *J. Natur. Products*. 2009. Vol. 72. No 7. P. 1335.
27. Tolstikova T.G., Sorokina I.V., Tolstikov G.A., Tolstikov A.G., Flekhter O.B. // *Russ. J. Bioorgan Chem.* 2006. Vol. 32. No 1. P. 37.
28. Mlala S., Oyedeji A.O., Gondwe M., Oyedeji O.O. // *Molecules*. 2019. Vol. 24. No 15. P. 2751.

29. Piironen V., Lindsay D.G., Miettinen T., Toivo J., Lampi A.M. // J. Science of Food and Agriculture. 2000. Vol. 80. P. 939.6.  
30. Kue Foka I.C., Ketehouli T., Zhou Y., Li X.W., Wang F.W., Li H. // Agronomy. 2020. Vol. 10. No 9. P. 1375.
- 

## SUPERCritical FLUID EXTRACTION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM *POLYTRICHUM COMMUNE* MOSS BIOMASS

**N.A. Budaev** — M.V. Lomonosov Northern (Arctic) Federal University, Arkhangelsk, Russia. E-mail: n.budaev@narfu.ru

**D.S. Kosyakov** — M.V. Lomonosov Northern (Arctic) Federal University, Arkhangelsk, Russia. ORCID: 0000-0001-5223-6857. E-mail: d.kosyakov@narfu.ru

**A.V. Faleva** — M.V. Lomonosov Northern (Arctic) Federal University, Arkhangelsk, Russia. ORCID: 0000-0002-8565-6871. E-mail: a.bezumova@narfu.ru

**I.I. Pikovskoi** — M.V. Lomonosov Northern (Arctic) Federal University, Arkhangelsk, Russia. ORCID: 0000-0002-6149-6770. E-mail: i.pikovskoj@narfu.ru

**A.A. Onuchina** — M.V. Lomonosov Northern (Arctic) Federal University, Arkhangelsk, Russia. ORCID: 0000-0002-8976-3797. E-mail: a.onuchina@narfu.ru

**A.D. Ivakhnov** — M.V. Lomonosov Northern (Arctic) Federal University, Arkhangelsk, Russia. ORCID: 0000-0003-2822-9192. E-mail: ivahnov-tema@yandex.ru

**N.V. Ulyanovskii** — M.V. Lomonosov Northern (Arctic) Federal University, Arkhangelsk, Russia. ORCID: 0000-0003-4796-9313. E-mail: n.ulyanovsky@narfu.ru

The leafy moss Common Haircap (*Polytrichum commune*) is widespread in nature, actively used in folk medicine and is a promising renewable raw material for obtaining valuable biologically active substances. In this study, a method for extracting lipophilic secondary metabolites from *P. commune* biomass using supercritical fluid extraction with a mixture of carbon dioxide and acetone (9 : 1) is proposed. The implementation of an experimental design with varying temperature, pressure and duration of extraction made it possible to establish optimal process conditions to achieve maximum values of the yield of extractive substances (> 1.5 %), the total polyphenolics content and antioxidant activity. According to a high-performance liquid chromatography — high-resolution mass spectrometry analysis, the main constituents of the obtained extracts were stilbene flavonone communin A, diterpenoids and pentacyclic triterpenoids, polyunsaturated fatty acids and pheophytin A, which possess high antioxidant and biological activity.

**Key words:** supercritical fluid extraction, moss, *Polytrichum commune*, biologically active substances.

---

## ACKNOWLEDGEMENTS

This work was carried out using the equipment of the Core Facility Center «Arktika» of the Northern (Arctic) Federal University with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (state assignment project No. FSRU-2024-0004).

## REFERENCE

1. Klavina L., Springe G., Nikolajeva V., Martsinkevich I., Nakurte I., Dzabijeva D., Steinberga I. // Molecules. 2015. Vol. 20. No 9. P. 17221

2. Guo Z.F., Bi G.M., Zhang Y.H., Li J.H., Meng D.L. // *Bioorganic Chemistry*. 2020. Vol. 102. P. 104087.
  3. Lee C.C., Hsieh H.J., Hsieh C.H., Hwang D.F. // *Environmental toxicology and pharmacology*. 2014. Vol. 38. No 3. P. 761.
  4. Cragg G.M., Newman D.J. // *J. Ethnopharmacology*. 2005. Vol. 100. No 1. P. 72.
  5. Zheng G.Q., Chang C.J., Stout T.J., Clardy J., Ho D.K., Cassady J.M. // *J. Org. Chem*. 1993. Vol. 58, No 2. P. 366.
  6. Zheng G.Q., Ho D.K., Elder P.J., Stephens R.E., Cottrell C.E., Cassady J.M. // *J. Natur. Products*. 1994. Vol. 57. No 1. P. 32.
  7. Faleva A.V., Ulyanovskii N.V., Falev D.I., Onuchina A.A., Budaev N.A., Kosyakov D.S. // *Metabolites*. 2022. Vol. 12. No 10. P. 974.
  8. Faleva A.V., Ulyanovskii N.V., Budaev N.A., Falev D.I., Onuchina A.A., Belesov A.V., Kosyakov D.S. // *Natur. Product Research*. 2024. DOI 10.1080/14786419.2024.2417837
  9. Rol C.K., Joon T.Y., Yoke C.M., Shun T.J., Abbasi S., Kee W.K., Hock O.G. // *J. Experimental Biology and Agricultural Sciences*. 2022. Vol. 10. P. 894.
  10. Okan O.T. // *Bioresources*. 2025. Vol. 20. No 1. P. 305.
  11. Vidwathpriya K., Sriranjani S., Niharika P.K., Anil Kumar N.V. *Drug Discovery and Design Using Natural Products* / Ed. J.N. Cruz. Springer Nature, 2023. P. 177.
  12. Herzyk F., Piłakowska-Pietras D., Korzeniowska M. // *Foods*. 2024. Vol. 13. No 11. P. 1713.
  13. Nazarov N.G. // *Measurement Techniques*. 2001. Vol. 44. No 9. P. 887.
  14. Mason R.L., Gunst R.F., Hess J.L. *Statistical design and analysis of experiments: with applications to engineering and science*. 2nd ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2003.
  15. Sautin S.N. *Planirovanie eksperimenta v himii i himicheskoj tekhnologii*. Leningrad: Himiya, 1975. P. 48 (in Russ.).
  16. Atwi-Ghaddar S., Zerwette L., Destandau E., Lesellier E. // *Molecules*. 2023. Vol. 28. No 20. P. 7060.
  17. Pegg R.B., Amarowicz R., Naczki M., Shahidi F. *Antioxidant Measurement and Applications* / Eds. F. Shahidi, C.T. Ho. ACS Publications, 2007. P. 140.
  18. Singleton V.L., Rossi J.A. // *Am. J. Enology and Viticulture*. 1965. Vol. 16. No 3. P. 144.
  19. Nardella F., Prothmann J., Sandahl M., Spegel P., Ribechini E., Turner C. // *RSC Advances*. 2023. Vol. 13. No 32. P. 21945.
  20. Souza C.R., Bott R.F., Oliveira W.P. // *Latin Am. J. Pharmacy*. 2007. Vol. 26. No 5. P. 682.
  21. Ruiz-Domínguez M.C., Medina E., Salinas F., Bugueño W., Fuentes J.L., Vilchez C., Garbayo I., Cerezal-Mezquita P. // *Antioxidants*. 2022. Vol. 11. No 7. P. 1248.
  22. Marillán C., Uquiche E. // *J. Supercrit. Fluids*. 2023. Vol. 197. P. 105903.
  23. Asakawa Y. // *Pure and Applied Chemistry*. 2007. Vol. 79. No 4. P. 557.
  24. Falev D.I., Ovchinnikov D.V., Voronov I.S., Faleva A.V., Ulyanovskii N.V., Kosyakov D.S. // *Pharmaceuticals*. 2022. Vol. 15. No 5. P. 629.
  25. Voronov I.S., Falev D.I., Faleva A.V., Ulyanovskii N.V., Kosyakov D.S. // *Molecules*. 2023. Vol. 28. No 9. P. 3945.
  26. Fu P., Lin S., Shan L., Lu M., Shen Y. H., Tang J., Liu R.H., Zhang X., Zhu R.L., Zhang W.D. // *J. Natur. Products*. 2009. Vol. 72. No 7. P. 1335.
  27. Tolstikova T.G., Sorokina I.V., Tolstikov G.A., Tolstikov A.G., Flekhter O.B. // *Russ. J. Bioorgan Chem*. 2006. Vol. 32. No 1. P. 37.
  28. Mlala S., Oyediji A.O., Gondwe M., Oyediji O.O. // *Molecules*. 2019. Vol. 24. No 15. P. 2751.
  29. Piironen V., Lindsay D.G., Miettinen T., Toivo J., Lampi A.M. // *J. Science of Food and Agriculture*. 2000. Vol. 80. P. 939.6.
  30. Kue Foka I.C., Ketehouli T., Zhou Y., Li X.W., Wang F.W., Li H. // *Agronomy*. 2020. Vol. 10. No 9. P. 1375.
- 
-