

УДК 615.322



РАЗРАБОТКА И ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ЭКСТРАГИРОВАНИЯ РОМАШКИ АПТЕЧНОЙ ЦВЕТКОВ (*CHAMOMILLAE RECUTITA FLORES*)

Е.Ю. Загорулько, А.А. Теслев, М.Г. Ожигова

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»

Минздрава России,

197376, Россия Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14

E-mail: elena.zagorulko@pharminnotech.com

Статья посвящена разработке технологии ультразвукового экстрагирования ромашки аптечной цветков. **Целью работы** являлась разработка и оптимизация технологии ультразвукового экстрагирования суммы флавоноидов из цветков ромашки аптечной с определением содержания эфирного масла в полученных извлечениях. **Материалы и методы.** Предметом исследования являлось лекарственное растительное сырье (ЛРС), приобретенное через аптечную сеть – ромашки аптечной цветки. Способ экстрагирования – двухступенчатая мацерация с ультразвуковой обработкой ЛРС. Экстрагирование проводили в ультразвуковой ванне «Сапфир» ТТЦ (РМД) 9,5 л. Для определения оптимальных параметров технологического процесса экстрагирования суммы флавоноидов строили ортогональный факторный план типа 3^2 . **Результаты и обсуждение.** Изучено влияние следующих факторов на процесс экстрагирования суммы флавоноидов из ромашки аптечной цветков: размер частиц ЛРС, количество ступеней экстракции, содержание спирта этилового в спирто-водной смеси, соотношение ЛРС – экстрагент, время экстрагирования, температура среды. Получены уравнения регрессии, описывающие процесс ультразвукового экстрагирования флавоноидов из ромашки аптечной цветков на первой и второй ступенях мацерации. Определены параметры технологического процесса ультразвукового экстрагирования суммы флавоноидов из ромашки аптечной цветков для первой ступени: время экстрагирования – 22 мин, содержание спирта этилового в спирто-водной смеси – 52% при соотношении ЛРС – экстрагент 1:7 и комнатной температуре; для второй: время экстрагирования – 27 мин, температура среды – 61°C при соотношении ЛРС – экстрагент – 1:5 (экстрагент – спирт этиловый 52%). Общий выход суммы флавоноидов составил 97%, эфирного масла – 81%. **Заключение.** Таким образом, разработана и оптимизирована технология ультразвукового экстрагирования суммы флавоноидов из ромашки аптечной цветков, позволяющая получить извлечения с высоким выходом эфирного масла.

Ключевые слова: ромашка аптечная, цветки, флавоноиды, эфирное масло, экстрагирование, ультразвук

DEVELOPMENT AND OPTIMIZATION OF ULTRASOUND EXTRACTION OF CHAMOMILE FLOWERS (*CHAMOMILLAE RECUTITA FLORES*)

E.Y. Zagorulko, A.A. Teslev, M.G. Ozhigova

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Ministry of Healthcare,

14, Prof. Popov Str. Saint-Petersburg, Russia, 197376

E-mail: elena.zagorulko@pharminnotech.com

The article deals with the development of ultrasound extraction technology of chamomile flowers. **The aim** of this work is working out and optimization of ultrasound extraction technology of the sum of flavonoids from chamomile flowers with further determination of the essential oil content in the extraction obtained. **Materials and methods.** The object of the research is the medicinal plant raw material (MRPM) of chamomile flowers (*Chamomillae recutita flores*) bought in a pharmacy. The extraction method is a two-level maceration with ultrasound procession of (MRPM). The extraction was performed in the ultrasound bath “Sapphire” of Technical and Commercial Center (TCC) (RMD) of 9.5 l. For the technological process optimal parameters determination of the sum of flavonoid extraction, the orthogonal

Для цитирования:

Загорулько Е.Ю., Теслев А.А., Ожигова М.Г.
РАЗРАБОТКА И ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ
УЛЬТРАЗВУКОВОГО ЭКСТРАГИРОВАНИЯ
РОМАШКИ АПТЕЧНОЙ ЦВЕТКОВ (*CHAMOMILLAE
RECUTITA FLORES*).

Фармация и фармакология. 2018;6(2):151-166

DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-2-151-166

© Загорулько Е.Ю., Теслев А.А., Ожигова М.Г., 2018

For citation:

Zagorulko E.Y., Teslev A.A., Ozhigova M.G.

DEVELOPMENT AND OPTIMIZATION OF
ULTRASOUND EXTRACTION OF THE CHAMOMILE
FLOWERS (*CHAMOMILLAE RECUTITA FLORES*).

Pharmacy & Pharmacology. 2018;6(2):151-166. (In Russ.)

DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-2-151-166

factorial plan of Type 3² was built. **Results and discussion.** The following factors' influence on the extraction process of the sum of chamomile flowers flavonoids have been studied: the size of particles of (MRPM), the quantity of extraction steps, ethanol content in alcohol-water mixture, ratio (MRPM) /extragent, extraction time, media temperature. The regression equations describing the process of ultrasound extraction of chamomile flowers flavonoids at the first and second steps of maceration have been obtained. The following parameters of the technological process of chamomile flowers sum of flavonoids ultrasound extraction have been worked out: for the first step the extraction time was 22 min., the content of ethanol in alcoholwater mixture was 52% at the ratio MRPM/extragent 1:7 and the room temperature; for the second step: the extraction time was 27 min., the media temperature was 61°C at the ratio MRPM/extragent 1:5 (52% ethanol was used as an extragent). The general yield of the flavonoids sum was 97% and that of the essential oil was 81%. Thus, the ultrasound extraction technology of the sum of chamomile flowers flavonoids has been developed and optimized, allowing to obtain extracts with a high yield of the essential oil.

Keywords: chamomile flowers, flavonoids, essential oil, extraction, ultrasound

ВВЕДЕНИЕ. Ромашки аптечной цветки (*Matricaria recutita* L., *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert, *Matricaria chamomilla* L.) – официальный вид лекарственного растительного сырья (ЛРС), широко используемый в медицине разных стран. Для него известны следующие виды биологической активности: противовоспалительное, спазмолитическое, седативное, антимикробное действие и др. [1–4].

Основными группами биологически активных веществ (БАВ) ромашки аптечной цветков являются эфирные масла и флавоноиды [2, 4]. В Европейской, Британской фармакопеех, Фармакопее США и Государственной фармакопее XIII издания (ГФ XIII) данное ЛРС стандартизуют по содержанию этих двух групп БАВ. Согласно указанным фармакопеем, ромашки аптечной цветки содержат не менее 0,4% (0,3% по ГФ XIII) эфирного масла, окрашенного в синий цвет благодаря наличию хамазулена (1–15%) [5–9]. Согласно данным научной литературы, содержание эфирного масла может достигать 1,5% [2]. Основными его компонентами являются α -бисаболол и родственные сесквитерпены (оксиды бисаболола, β -транс-фарнезен и др.) [1, 2, 10].

Одними из основных флавоноидов ромашки аптечной цветков являются апигенин и его производные [2]. Также в сырье обнаружены лютеолин, кверцетин, изорамнетин, хризоэриол, хризоспленетин и их гликозиды [1, 2]. Ромашки аптечной цветки стандартизуют по содержанию суммы флавоноидов в пересчете на рутин (не менее 1,2%) или по содержанию апигенин-7-гликозида (не менее 0,25%) [5–7]. Содержание суммы флавоноидов в указанном растительном сырье может достигать 3% [2].

Также растение содержит гидроксикумарины (умбеллиферон, герниарин), фенолкарбоновые кислоты, полисахариды [2].

С наличием флавоноидов и эфирных масел связаны противовоспалительная активность и спазмолитическое действие ромашки аптечной цветков [2–4, 11–13]. Согласно данным литературы, флавоноиды разных классов способны ингибировать индукцию отдельных групп тканевых медиаторов воспаления. Так, например, три-, тетра- и пентазамещенные флавоны (кемпферол, кверцетин) являются ингибиторами липооксигеназы [14]. Один из компонентов эфирного масла ромашки аптечной цветков – хама-

зулен проявляет противовоспалительный эффект путем ингибирования образования лейкотриена В₄ [2, 4, 11–13]. Согласно данным литературы, наибольший вклад в реализацию миотропного спазмолитического действия ромашки аптечной цветков вносят апигенин, α -бисаболол и *цис*-спироэферы [4, 11]. Таким образом, две указанные группы БАВ в большей мере обеспечивают противовоспалительное и спазмолитическое действие данного ЛРС.

Изучение экстрагирования БАВ ромашки аптечной цветков является предметом многих исследований. Описано экстрагирование эфирного масла, флавоноидов, кумаринов, суммы экстрактивных веществ, липофильной фракции и др. с применением различных экстрагентов, в том числе неводных (пропиленгликоль, рапсовое масло, пихтовое масло, сжиженные газы), и разными способами [15–19]. При этом совместное экстрагирование двух групп БАВ: флавоноидов и эфирного масла с использованием современных способов интенсификации процесса экстрагирования по-прежнему представляет научно-практический интерес.

Одним из перспективных методов экстрагирования БАВ является ультразвуковая обработка ЛРС. Ультразвуковая обработка среды сопровождается эффектами её перемешивания, нагрева и кавитации – образования, пульсации и схлопывания ансамбля кавитационных пузырьков. Ультразвук ускоряет процессы растворения твердых частиц, интенсифицирует массоперенос в объеме жидкости, оказывает незначительное влияние на толщину пограничного слоя, ускоряет массоперенос в пористых телах с большими размерами пор и увеличивает проницаемость растительных мембран [20]. На сегодняшний день имеются достаточные сведения о выделении с помощью ультразвукового экстрагирования соединений разных классов, при котором не происходит изменения структуры данных веществ – флавоноидов, терпеновых соединений, жирного масла, фенольных соединений и др. [21]. Известно исследование по изучению ультразвукового экстрагирования эфирного масла цветков ромашки аптечной с целью разработки методики его количественного определения, в котором в качестве экстрагента использовали пихтовое масло [16].

В связи с этим представляет интерес разработка технологии ультразвукового экстрагирования флаво-

ноидов и эфирных масел из цветков ромашки аптечной.

Следует отметить, что флавоноиды по сравнению с веществами терпеновой природы являются более устойчивыми соединениями, поэтому более предпочтительны в качестве маркерных соединений при разработке и оптимизации процесса ультразвукового экстрагирования.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ – разработка и оптимизация технологии ультразвукового экстрагирования суммы флавоноидов из цветков ромашки аптечной с определением содержания эфирного масла в полученных извлечениях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В исследовании использованы ромашки аптечной цветки, приобретенные через аптечную сеть (АО «Красногорсклексредства», номер серии 130616).

Экстрагирование проводили в ультразвуковой ванне «Сапфир» ТТЦ (РМД) 9,5 л, рабочая частота

$$Y = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + B_{12}X_1X_2 + B_{11}X_1^2 + B_{22}X_2^2 \quad (1)$$

Количественное определение суммы флавоноидов в ЛРС и полученных извлечениях проводили в соответствии с требованиями фармакопейной статьи ФС.2.5.0037.15 «Ромашки аптечной цветки» ГФ XIII: в пересчете на рутин с использованием дифференциальной спектрофотометрии по реакции комплексообразования с алюминия хлоридом [5].

Содержание эфирного масла в цветках ромашки аптечной определяли методом дистилляции в соответствии с требованиями ГФ XIII (метод 2, [24]). Количественное определение эфирного масла в извлечениях проводили методом дистилляции по методике, рекомендованной Европейской Фармакопеей для жидкого экстракта ромашки [6].

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили в соответствии с ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» Государственной фармакопеи XIII издания с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel [25].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. При определении содержания БАВ установлено, что ромашки аптечной цветки исследуемой серии содержат суммы флавоноидов в пересчете на рутин 1,74±0,06% и эфирного масла 0,62±0,05%.

На основании анализа результатов ранее прове-

– 35 кГц, при мощности ультразвукового генератора 180 Вт. Способ экстрагирования – мацерация с ультразвуковой обработкой ЛРС.

Результатом исследования ультразвукового экстрагирования ромашки аптечной цветков являются параметры технологического процесса, обеспечивающие максимальный выход флавоноидов. Для определения указанных параметров проводили серии экспериментов с варьированием определенных факторов. Строили ортогональный факторный план второго порядка, являющийся частным случаем композиционного плана второго порядка типа 3² со значением «звездного» плеча α=1. План включал в себя варьирование двух факторов на трех уровнях [22, 23].

В каждом пункте плана ставили по два опыта. В качестве функции отклика процесса выбран выход флавоноидов в процентах от содержания в ЛРС.

Функцию отклика, характеризующую процесс экстрагирования, описывали уравнением вида (1) [22]:

данных исследований в качестве способа экстрагирования ромашки аптечной цветков выбрана мацерация с ультразвуковой обработкой ЛРС [26].

В предварительных исследованиях оценивали влияние следующих факторов: размер частиц ЛРС, количество ступеней экстрагирования, соотношение ЛРС – экстрагент, содержание спирта этилового в спирто-водной смеси, время экстрагирования, температура среды. В полученных извлечениях определяли содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и рассчитывали выход флавоноидов в процентах от содержания в ЛРС. Использовали следующие параметры технологического процесса: экстрагент – спирт этиловый 45% (здесь и далее соотношение спирта в спирто-водных смесях указано в объемных процентах), соотношение ЛРС-экстрагент – 1:10 [2–4], время ультразвуковой обработки – 15 мин (однократная мацерация) при комнатной температуре [16, 21, 27]. Указанные условия предварительных исследований согласуются с традиционно применяемыми в фармации и медицине и данными научной литературы.

На первом этапе исследовали влияние размера частиц ЛРС на выход флавоноидов при ультразвуковом экстрагировании. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Выход флавоноидов в зависимости от фракции ромашки аптечной цветков

Показатель	Размер частиц ЛРС, мм			
	1,0–2,0	0,5–1,0	0,25–0,5	менее 0,25
Выход флавоноидов, %	46,35±0,85	29,31±0,62	25,90±0,74	26,73±0,87

Установлено, что наибольший выход флавоноидов наблюдался при использовании фракции ЛРС с размером частиц сырья 1,0–2,0 мм (табл. 1), что можно объяснить неоднородностью состава разных фракций ЛРС. Фракция с размером частиц 1,0–2,0 мм

представляла собой смесь частей цветоложа, трубчатых и воронковидных цветков корзинки, в то время как в более мелких фракциях преобладали трубчатые цветки. Следует отметить, что фракции с большим размером частиц сырья содержат более крупные ча-

сти корзинки, что затрудняет получение однородного образца.

Для выбора количества ступеней экстрагирования оценивали выход флавоноидов при проведении одно-, двух- и трехкратной мацерации с ультразвуковой обработкой. Установлено, что в различных условиях на третьей ступени мацерации выход флавоноидов составлял от 4 до 13%, поэтому её проведение можно считать нецелесообразным. Поскольку при однократной мацерации не достигалось полного извлечения суммы флавоноидов [26], для экстрагирования ромашки аптечной цветков выбрана двухступенчатая мацерация с ультразвуковой обработкой ЛРС.

Ранее было изучено влияние нагревания на выход флавоноидов при ультразвуковой обработке на двух ступенях мацерации. Установлено, что при повышении температуры процесса содержание суммы флавоноидов в извлечениях увеличивается [28].

Поскольку одной из технологических задач данного исследования было одновременное извлечение как флавоноидов, так и эфирного масла, ультразвуковое экстрагирование ромашки аптечной цветков проводили без дополнительного нагревания [27]. При этом определяли температуру среды: установлено, что в зависимости от её объёма в выбранных условиях значения температуры находились в диапазоне 20–25°C.

Исследовали влияние фактора «соотношение ЛРС – экстрагент» на процесс ультразвукового экстрагирования флавоноидов в интервале от 1:4 до 1:30. Установлено, что выход флавоноидов повышается с увеличением этого соотношения.

При этом выбор значений данного показателя ограничен требованиями к конечному объёму получаемого извлечения, которое предназначено для введения в лекарственные формы и не должно быть разбавленным. В связи с этим целесообразным является выбор наименьшего соотношения ЛРС – экстрагент.

Установлено, что при снижении соотношения

ЛРС – экстрагент, начиная со значения 1:6 на I ступени ультразвуковой мацерации и 1:4 на II-й, выход флавоноидов снижается. Поэтому для ультразвукового экстрагирования ромашки аптечной цветков выбраны следующие соотношения ЛРС – экстрагент: 1:7 – на I ступени и 1:5 – на II-й. Снижение выхода БАВ, по-видимому, связано с необходимостью наличия достаточного содержания свободной жидкой фазы в среде для эффективного воздействия ультразвука. Данный факт подтверждается и тем, что исследуемое ЛРС обладает низким значением насыпной плотности (0,11±0,03 г/см³) и достаточно высоким коэффициентом поглощения (от 2,0 до 3,4 в спирто-водных смесях).

При изучении влияния на выход флавоноидов времени ультразвуковой обработки (5–60 мин) для первой ступени было определено, что с его увеличением в интервале от 5 до 25 мин выход увеличивается с 8–12% до 35–45%. Дальнейшее увеличение времени обработки не приводило к значительному увеличению выхода флавоноидов. В связи с этим для целей оптимизации выбран интервал времени ультразвуковой обработки от 5 до 25 мин.

При изучении влияния содержания спирта этилового в спирто-водной смеси установлено, что выход флавоноидов наиболее выражено изменяется в интервале от 20 до 80%. При использовании спирта этилового выше 80% установлено, что выход флавоноидов составлял менее 20%. В тоже время использование спирта этилового более низких концентраций (ниже 20%) нецелесообразно с точки зрения состава извлекаемых групп БАВ.

Таким образом, для I ступени ультразвукового экстрагирования выбраны следующие условия: время экстрагирования – от 5 до 25 минут, содержание спирта этилового в спирто-водной смеси от 20 до 80%, соотношение ЛРС-экстрагент – 1:7, при комнатной температуре. Уровни и интервалы варьирования факторов представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Уровни и интервалы варьирования факторов для I ступени ультразвуковой мацерации ромашки аптечной цветков

Факторы варьирования		Уровни варьирования			Интервалы варьирования
Обозначение	Название	-1	0	+1	
X ₁	время ультразвуковой обработки, мин	5	15	25	10
X ₂	содержание спирта этилового в спирто-водной смеси, %	20	50	80	30

При использовании ортогональных планов второго порядка с учетом линейного преобразования квадратичных коэффициентов (2):

$$X_j' = X_j^2 - \frac{\sum_{i=1}^N X_{ij}^2}{N} \quad (2)$$

матрица планирования эксперимента для двух факторов варьирования с одним опытом в центре плана принимает вид (табл. 3, [22]).

Таблица 3 – Матрица планирования эксперимента и реализованные опыты первой ступени ультразвуковой мацерации ромашки аптечной цветков

№	Матрица планирования					Рабочая матрица		Функция отклика, %	
	X ₁	X ₂	X ₁ X ₂	X ₁ '	X ₂ '	Время экстрагирования, мин	Содержание спирта, %	Y _{ср. экп.}	Y _{расч.}
1	+	+	+	1/3	1/3	25	80	36,10	36,69
2	+	-	-	1/3	1/3	25	20	31,87	31,67
3	-	-	+	1/3	1/3	5	20	8,54	8,51
4	-	+	-	1/3	1/3	5	80	13,92	13,53
5	+	0	0	1/3	-2/3	25	50	54,21	54,83
6	-	0	0	1/3	-2/3	5	50	30,27	30,67
7	0	+	0	-2/3	1/3	15	80	33,60	33,41
8	0	-	0	-2/3	1/3	15	20	28,18	28,39
9	0	0	0	-2/3	-2/3	15	50	51,56	50,55

Расчёт коэффициентов уравнения регрессии проводили по формулам (3) и (4):

$$B_i = \frac{\sum_{i=1}^N X_{ij} Y_i}{\sum_{i=1}^N X_{ij}^2} \quad (3)$$

$$B_0 = B_0' - B_{11}\bar{X}_1^2 - B_{22}\bar{X}_2^2 \quad (4)$$

Дисперсии коэффициентов рассчитывали по формуле (5):

$$S_{B_i}^2 = \frac{S_{\text{воспр.}}^2}{\sum_{i=1}^N X_{ij}^2} \quad (5)$$

На основании полученных результатов рассчитаны значения коэффициентов уравнения регрессии (табл. 4).

Таблица 4 – Значения коэффициентов уравнения регрессии для I ступени ультразвукового экстрагирования ромашки аптечной цветков

Коэффициент	B ₀	B ₁	B ₂	B ₁₂	B ₁₁	B ₂₂
Значение	50,55	11,58	2,51	- 0,29	- 8,30	- 19,65

Результаты статистического анализа экспериментальных данных представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Статистический анализ экспериментальных данных первой ступени ультразвукового экстрагирования ромашки аптечной цветков

Показатель	Параметры		Значение
Проверка однородности дисперсий	Критерий Кохрена	G _{эксп}	0,1685
		G _{0,95(1;9)}	0,6385
Проверка значимости коэффициентов уравнения регрессии	Оценка дисперсии воспроизводимости		0,3038
	Оценки дисперсий коэффициентов регрессии	S _{B1} ² = S _{B2} ²	0,0506
		S _{B12} ²	0,0760
		S _{B11} ² = S _{B22} ²	0,1519
Значения t-соотношения t _{0,95(9)} =2,26		t ₁ =51,17 t ₂ =11,16 t ₁₂ =-1,05 t ₁₁ =-21,30 t ₂₂ =-50,42	
Проверка адекватности уравнения реальному процессу	Оценка дисперсии адекватности		0,3700
	Критерий Фишера	F _{эксп}	1,22
F _{0,95(5;9)}		3,49	

На основании анализа данных, представленных в таблице 5, установлено, что полученная модель адекватно отражает процесс ультразвукового экстрагиро-

вания флавоноидов из ромашки аптечной цветков на первой ступени мацерации в заданных интервалах варьирования факторов. Незначимым является ко-

эффицент, отражающий взаимодействие факторов – B_{12} .

Таким образом, искомое уравнение регрессии для I степени ультразвуковой мацерации имеет вид (6):

$$Y = 50,55 + 11,58X_1 + 2,51X_2 - 8,30X_1^2 - 19,65X_2^2 \quad (6)$$

Установлено, что значение Y максимально и составляет 54,67% при $X_1=0,70$ и $X_2=0,06$, что соответствует времени ультразвуковой обработки 22 мин и содержанию спирта этилового в спирто-водной смеси – 52%. Выход флавоноидов в условиях эксперимента составил $55,02 \pm 0,91\%$.

Определено, что на II степени мацерации с ультразвуковой обработкой выход флавоноидов при комнатной температуре был низким (менее 20%). В связи с этим II ступень экстрагирования целесообразно проводить при нагревании.

Таким образом, оптимальными параметрами технологического процесса I степени мацерации являются: время экстрагирования – 22 мин, содержание спирта этилового в спирто-водной смеси – 52% при выбранном соотношении ЛРС-экстрагент – 1:7 и при комнатной температуре.

На основании анализа результатов предварительных исследований, а также экспериментальных данных, полученных для I степени, для варьирования на II степени ультразвукового экстрагирования флавоноидов выбраны следующие факторы: температура среды (от 30 до 60°C) и время экстрагирования (от 5 до 25 мин). В качестве экстрагента использовали спирт этиловый 52% при соотношении сырье – экстрагент 1:5. Факторы, уровни и интервалы варьирования представлены в таблице 6.

При определении содержания эфирного масла в полученных извлечениях установлено, что его выход составил около 69%.

Таблица 6 – Уровни и интервалы варьирования факторов для II степени ультразвуковой мацерации ромашки аптечной цветков

Факторы варьирования		Уровни варьирования			Интервалы варьирования
Обозначение	Название	- 1	0	+1	
X_1	время ультразвуковой обработки, мин	5	15	25	10
X_2	температура, °C	30	45	60	15

Для экстрагирования использовали ЛРС, полученное после I степени ультразвуковой мацерации в экспериментально подобранных условиях.

Матрица планирования эксперимента и реализованные опыты для II степени представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Матрица планирования эксперимента и реализованные опыты II степени ультразвуковой мацерации ромашки аптечной цветков

№	Матрица планирования					Рабочая матрица		Функция отклика, %	
	X_1	X_2	X_1X_2	X_1'	X_2'	Время экстрагирования, мин	Температура, °C	$Y_{\text{ср. эксп.}}$	$Y_{\text{расч.}}$
1	+	+	+	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$	25	60	41,89	41,91
2	+	-	-	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$	25	30	18,27	18,19
3	-	-	+	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$	5	30	8,96	8,73
4	-	+	-	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$	5	60	22,26	22,13
5	+	0	0	$\frac{1}{3}$	$-\frac{2}{3}$	25	45	35,84	35,92
6	-	0	0	$\frac{1}{3}$	$-\frac{2}{3}$	5	45	20,95	21,30
7	0	+	0	$-\frac{2}{3}$	$\frac{1}{3}$	15	60	36,19	36,29
8	0	-	0	$-\frac{2}{3}$	$\frac{1}{3}$	15	30	17,41	17,73
9	0	0	0	$-\frac{2}{3}$	$-\frac{2}{3}$	15	45	33,28	32,82

Рассчитанные значения коэффициентов уравнения регрессии представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Значения коэффициентов уравнения регрессии для II стадии ультразвукового экстрагирования ромашки аптечной цветков

Коэффициент	B_0	B_1	B_2	B_{12}	B_{11}	B_{22}
Значение	32,88	7,31	9,28	2,58	- 4,27	- 5,87

Результаты статистического анализа экспериментальных данных представлены в таблице 9.

На основании анализа данных, представленных в таблице 9, установлено, что полученное уравнение адек-

ватно отражает процесс ультразвукового экстрагирования флавоноидов из ромашки аптечной цветков на II ступени

мацерации в заданных интервалах варьирования факторов. Все коэффициенты уравнения являются значимыми.

Таблица 9 – Статистический анализ экспериментальных данных II ступени ультразвукового экстрагирования ромашки аптечной цветков

Показатель	Параметры		Значение
Проверка однородности дисперсий	Критерий Кохрена	$G_{\text{экс}}$	0,1593
		$G_{0,95}(1;9)$	0,6385
Проверка значимости коэффициентов уравнения регрессии	Оценка дисперсии воспроизводимости		0,1910
	Оценки дисперсий коэффициентов регрессии	$S_{B_1}^2 = S_{B_2}^2$	0,0318
		$S_{B_{12}}^2$	0,0478
		$S_{B_{11}}^2 = S_{B_{22}}^2$	0,0955
Значения t-соотношения $t_{0,95}(9)=2,26$		$t_1=40,98$ $t_2=52,02$ $t_{12}=11,85$ $t_{11}=-13,82$ $t_{22}=-19,00$	
Проверка адекватности уравнения реальному процессу	Оценка дисперсии адекватности		0,2390
	Критерий Фишера	$F_{\text{экс}}$	1,25
$F_{0,95}(4;9)$		3,63	

Таким образом, уравнение регрессии, описывающее процесс экстрагирования суммы флавоноидов из

ромашки аптечной цветков на второй ступени ультразвуковой мацерации, имеет вид (7):

$$Y = 32,88 + 7,31X_1 + 9,28X_2 + 2,58X_1X_2 - 4,27X_1^2 - 5,87X_2^2 \quad (7)$$

Установлено, что при $X_1=1,70$ и $X_2=0,75$ значение Y максимально и составляет 42,67%, что соответствует времени ультразвуковой обработки – 27 мин и температуре 61°C. Выход флавоноидов в условиях эксперимента составил 42,10±0,53%.

Таким образом, оптимальными параметрами технологического процесса II ступени мацерации являются: время экстрагирования – 27 мин, температура среды – 61°C при выбранном соотношении ЛРС-экстрагент – 1:5 (экстрагент – спирт этиловый 52%).

При определении содержания эфирного масла в извлечениях, полученных на II ступени, установлено, что его выход составил около 12%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Определены параметры технологического процесса ультразвукового экстрагирова-

ния суммы флавоноидов и эфирного масла из ромашки аптечной цветков. I ступень: время экстрагирования – 22 мин, содержание спирта этилового в спирто-водной смеси – 52 % при соотношении ЛРС – экстрагент 1:7 и комнатной температуре. II ступень: время экстрагирования – 27 мин, температура среды – 61°C, при соотношении ЛРС – экстрагент – 1:5 (экстрагент – спирт этиловый 52 %).

Общий выход суммы флавоноидов составил 97%, эфирного масла – 81%.

Таким образом, разработана и оптимизирована технология ультразвукового экстрагирования суммы флавоноидов из ромашки аптечной цветков, позволяющая получить извлечения с высоким выходом эфирного масла.

INTRODUCTION. Chamomile flowers (*Matricaria recutita* L., *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert, *Matricaria chamomilla* L.) is the officinal type of the medicinal raw plant materials (MRPM) which is widely used in medicine of different countries. The following types of biological activity are known for this plant: anti-inflammatory, antispasmodic, sedative, antimicrobial, etc. [1–4].

The main groups of the biologically active substances (BAS) of chamomile flowers are essential oils and flavonoids [2, 4]. In the European pharmacopeia, the British pharmacopeia, the Pharmacopoeia of the USA and the State Pharmacopeia of the XIII edition (SPh, XIII) this (MRPM) is standardized upon these two BAS groups. According to the specified pharmacopeias, chamomile flowers contain not less than 0.4% (0.3% according to SPh, XIII) of the essential oil of the blue color due to hamazulen

(1–15%) [5–9]. According to the scientific literature data, the content of essential oil can reach 1.5% [2]. Its main components are α -bisabolol and the related sesquiterpenes (bisabolol oxides, β -trans-farnesin, etc.) [1, 2, 10].

One of the main flavonoids of chamomile flowers are apigenin and its derivatives [2]. There is also luteolin, quercetin, izoramnetin, cryzoeriol, cryzosplenetin and their glycosides found in MRPM [1, 2]. Chamomile flowers are standardized upon the sum of flavonoids content in terms of rutin (not less than 1.2%) or upon the content of apigenin-7-glycoside (not less than 0.25%) [5–7]. The sum of flavonoids content in the specified MRPM can reach 3% [2].

The plant also contains hydroxycoumarins (umbelliferon, herniarin), phenolcarboxylic acids, polysaccharides [2].

Anti-inflammatory and spasmolytic actions of chamomile flowers are associated with flavonoids and essential oils presence [2–4, 11–13]. According to the literature data, flavonoids of different classes are able to inhibit the induction of separate groups of tissue mediators of inflammation. So, for example, three-, tetra- and pentaalkylflavons (kaempferol, quercetin) are inhibitors of lipoxygenase [14]. One of the chamomile flowers essential oil components – hamazulen – performs an anti-inflammatory effect by inhibition of leykotriyen B4 formation [2, 4, 11–13]. According to the literature data, the greatest contribution to miotrophy spasmolytic action of chamomile flowers are made by apigenin, α -bisabolol and also by cis-spiroether [4, 11]. Thus, two specified groups of BAS provide anti-inflammatory and spasmolytic actions of this MRPM to a greater extent.

Studying of chamomile flowers BAS extraction is a subject of many researches. Extraction of the essential oil, flavonoids, coumarines, the sum of extractive substances, lipophilic fraction, etc. with various extragents, including nonaqueous (propylene glycol, rape oil, fir oil, liquefied gases) has been described in different ways [15–19]. Hereby joint extraction of two BAS groups – flavonoids and the essential oil – with the use of modern ways of intensification of the extraction process is still of scientific and practical interest.

One of the perspective methods of BAS extraction is ultrasound processing of MRPM. Ultrasound processing of the media is followed by effects of its blending, heating and cavitation – forming, pulsation and collapsing of cavitation bubbles ensemble. Ultrasound accelerates processes of dissolution of firm particles, intensifies a mass transfer into liquid volume, exerts insignificant impact on surface thickness, accelerates a mass transfer in porous bodies with larger sizes of pores and increases permeability of vegetable membranes [20].

Today there are sufficient data about ultrasound extraction of compounds of different classes without any change of structure of these substances – flavonoids, terpenic compounds, fat oil, phenolic compounds, etc. [21]. There was a research on studying the ultrasound

extraction of chamomile flowers essential oil in order to develop its quantitative definition method, where fir oil was an extragent [16].

In this regard the development of ultrasound extraction technology of flavonoids and essential oils from chamomile flowers is of great interest.

It should be noted that flavonoids in comparison with terpenic substances are more stable compounds, therefore they are more preferable as marker connections during working out and optimization of ultrasound extraction process.

THE AIM OF THE RESEARCH is working out and optimization of ultrasound extraction technology of the sum of flavonoids from chamomile flowers with further determination of the essential oil content in the extraction obtained.

MATERIALS AND METHODS. In the research, chamomile flowers bought in pharmacy are used (“Krasnogorskleksredstva, JSC”, series number 130616).

Extraction was performed in the ultrasound bath of “Sapphire” of Technical and Commercial Center (TCC) (DME) of 9.5 l, operating frequency – 35 kHz, at the supersonic generator power of 180 W. The extraction method was maceration with ultrasound processing of MRPM.

The result of the research of chamomile flowers ultrasound extraction are the parameters of the technological process providing the maximum yield of flavonoids. For the determination of the specified parameters, series of experiments with variation of certain factors were made.

The orthogonal factor plan of the second order being a special case of the composition plan of the second order of Type 3² with value of a “star” shoulder $\alpha=1$ was built. The plan included a variation of two factors at three levels [22, 23].

In each point of the plan two experiences were performed. The yield of flavonoids percentage in MRPM was selected as a process response function.

The response function characterizing extraction process was described by the following equation (1) [22]:

$$Y = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + B_{12}X_1X_2 + B_{11}X_1^2 + B_{22}X_2^2 \quad (1)$$

Quantitative determination of the sum of flavonoids in MRPM and the extractions obtained was performed according to the requirements of the pharmacopoeial entry “Chamomile flowers (Chamomillae recutita flores)” (SPh, 2.5.0037.15): in terms of rutin with the use of differential spectrophotometry according to reaction of complex formation with aluminum chloride [5].

The content of the essential oil in chamomile flowers was determined by distillation method according to the requirements of SPh, XIII (Method 2, [24]). Quantitative determination of the essential oil in the extraction was performed by distillation method according to the methods recommended by the European Pharmacopoeia for liquid extract of chamomile [6].

The statistical processing of the experiment results was performed according to the general pharmacopoeia

entry 1.1.0013.15 “Statistical processing of results of a chemical experiment” (SPh, XIII) with the use of Microsoft Office Excel software [25].

RESULTS AND DISCUSSION. While determining BAS content it was established that chamomile flowers of the series studied contain the sums of flavonoids in terms of rutin 1.74±0.06% and the essential oil 0.62±0.05%.

By virtue of the analysis of the earlier research results, maceration with ultrasound processing of MRPM [26] has been chosen as a way of chamomile flowers extraction.

In preliminary researches the influence of the following factors was evaluated: the particle size of MRPM, steps quantity of the extraction, ratio MRPM/extragent, the content of ethanol in alcohol-water mixture, extraction time, media temperature. In the obtained extractions the content of the sum of flavonoids

in terms of rutin and the yield of flavonoids percentage of contents in MRPM were determined.

In the technological process the following parameters of were used: 45% ethanol was used as extragent (here and elsewhere the ethanol ratio in alcohol-water mixtures is specified in volume percent), ratio MRPM/extragent was 1:10 [2–4], the time of ultrasound processing was

15 min. (single maceration) at room temperature [16, 21, 27]. The specified conditions of preliminary researches coordinate with traditionally applied ones in pharmacy and medicine and scientific literature data.

At the first stage, the influence of the particle size of MRPM on the yield of flavonoids at ultrasound extraction was investigated. The results are presented in Table 1.

Table 1 – The yield of flavonoids depending on chamomile flowers fraction

Indicator	Particle size of MRPM, mm			
	1.0–2.0	0.5–1.0	0.25–0.5	less than 0.25
Yield of flavonoids, %	46.35±0.85	29.31±0.62	25.90±0.74	26.73±0.87

It has been established that the highest yield of flavonoids was observed in the process of MRPM fraction with the particle size of 1.0–2.0 mm (Table 1). It is possible to explain this fact by the structure heterogeneity of the MRPM different fractions. The fraction with the particle size of 1.0–2.0 mm was a mixture of parts of thalamus, ligulate and tubular florets of an anthodium while in smaller fractions tubular flowers prevailed. It should be noted that fractions with a larger particle size contain larger anthodium parts which complicated receiving a homogeneous sample.

For the choice of extraction quantity steps the yield of flavonoids was evaluated when performing one-, two- and triple maceration with ultrasound processing.

It was established that in various conditions at the third step of maceration the yield of flavonoids was in the range from 4% to 13%, therefore its performance could be considered inexpedient. As at single maceration the full extraction of the sum of flavonoids [26] was not reached, a two-level maceration with ultrasound processing of MRPM was chosen for chamomile flowers extraction.

Earlier the influence of heating on the yield of flavonoids at ultrasound processing at two steps of maceration had been studied. It had been established that raising temperature increases the content of the sum of flavonoids in extraction [28].

As far as the joint extraction of both, flavonoids and the essential oil, was one of technological tasks of this research, ultrasound extraction of chamomile flowers was performed without additional heating [27]. At the same time, the media temperature was determined: it was established that depending on its volume in the chosen conditions the values of temperature were in the range of 20–25°C.

The study of the influence of the factor “ratio MRPM/extragent” onto the process of flavonoids ultrasound extraction was performed in the range from 1:4 to 1:30. It was established that the yield of flavonoids raises with the increase in this ratio.

Hereby the choice of values of this parameter is limited by the requirements to the final volume of

obtained extraction; that is meant for dosage forms and should not be diluted. In this regard the expedient choice was the smallest ratio of MRPM/extragent.

It was established that by reducing the ratio of MRPM – extractant, starting with the value 1:6 at the first step of ultrasound maceration and with 1:4 at the second, the yield of flavonoids decreases. Therefore for ultrasound extraction of chamomile flowers the following ratios of MRPM /extragent were chosen: 1:7 – at the first step and 1:5 at the second.

The decrease in the yield of BAS, apparently, is connected with necessity of sufficient content of a free liquid phase presence for effective influence of ultrasound in the media. This fact is also confirmed by the fact that the studied MRPM has a low value of bulk density (0.11 ± 0.03 g/cm³) and rather a high absorption coefficient (from 2.0 to 3.4 in alcohol-water mixtures).

When studying the influence of time of ultrasound processing (5–60 min.) on the yield of flavonoids at the first step it was established that in the range from 5 up to 25 min. the yield increases from 8–12% to 35–45%. Further increase in processing time did not lead to significant increase in the yield of flavonoids. In this regard the interval of time of ultrasound processing from 5 to 25 min. was chosen for the purpose of optimization.

When studying influence of the content of ethanol in the alcohol-water mixture, it was established what the yield of flavonoids changes mostly in the range from 20% to 80%. When using ethanol at the concentration higher than 80% it was established that the yield of flavonoids became less than 20%. At the same time the use of ethanol at a lower concentration (lower than 20%) was inexpedient because of the structure of the target BAS groups.

Thus, for the first step of ultrasound extraction the following conditions were chosen: the extraction time – from 5 to 25 minutes, the content of ethanol in alcohol-water mixture from 20% to 80%, the ratio MRPM/extragent – 1:7, at the room temperature. The levels and intervals of the factors variation are presented in Table 2.

Table 2 – Levels and intervals of the factors variation for the first step of ultrasound maceration of chamomile flowers

Variation factors		Variation levels			Variation intervals
Designation	Name	-1	0	+1	
X ₁	Time of ultrasound processing, min	5	15	25	10
X ₂	Content of ethanol in alcohol-water mixture, %	20	50	80	30

When using orthogonal plans of the second order taking into account linear transformation of square coefficients (2):

$$X_j' = X_j^2 - \frac{\sum_{i=1}^N X_{ij}^2}{N} \quad (2)$$

the matrix of experiment planning for two variation factors with one experience in the center of the plan takes the following form (Table 3, [22]).

Table 3 – Matrix of experiment planning and the implemented experiences at the first step of ultrasound maceration of chamomile flowers

No.	Planning matrix					Working matrix		Response function, %	
	X ₁	X ₂	X ₁ X ₂	X ₁ '	X ₂ '	Extraction time, min	Ethanol content, %	Y _{exp.}	Y _{calc.}
1	+	+	+	1/3	1/3	25	80	36.10	36.69
2	+	-	-	1/3	1/3	25	20	31.87	31.67
3	-	-	+	1/3	1/3	5	20	8.54	8.51
4	-	+	-	1/3	1/3	5	80	13.92	13.53
5	+	0	0	1/3	-2/3	25	50	54.21	54.83
6	-	0	0	1/3	-2/3	5	50	30.27	30.67
7	0	+	0	-2/3	1/3	15	80	33.60	33.41
8	0	-	0	-2/3	1/3	15	20	28.18	28.39
9	0	0	0	-2/3	-2/3	15	50	51.56	50.55

Coefficients calculation of the regression equation was performed by the following formulas (3) and (4):

$$B_1 = \frac{\sum_{i=1}^N X_{ij} Y_i}{\sum_{i=1}^N X_{ij}^2} \quad (3)$$

$$B_0 = B_0' - B_{11}\bar{X}_1^2 - B_{22}\bar{X}_2^2 \quad (4)$$

Dispersions of the coefficients were calculated by the formula (5):

$$S_{B_i}^2 = \frac{S_{\text{воспр.}}^2}{\sum_{i=1}^N X_{ij}^2} \quad (5)$$

By virtue of the obtained results, the coefficients values of the regression equation (Tab. 4) were calculated.

Table 4 – Values of coefficients of the regression equation for the first step of chamomile flowers ultrasound extraction

Coefficient	B ₀	B ₁	B ₂	B ₁₂	B ₁₁	B ₂₂
Value	50.55	11.58	2.51	-0.29	-8.30	-19.65

The results of the statistical analysis of the experimental data are displayed in Table 5.

Table 5 – Statistical analysis of the experimental data for the first step of chamomile flowers ultrasound extraction

Indicator	Parameters		Value
Dispersions uniformity check	Kokhren’s criterion	$G_{exp.}$	0,1685
		$G_{0,95}(1;9)$	0,6385
Coefficients significance check of regression equation	Reproducibility dispersion assessment		0,3038
	Dispersions estimates of regression coefficients	$S_{B_1}^2 = S_{B_2}^2$	0,0506
		$S_{B_{12}}^2$	0,0760
		$S_{B_{11}}^2 = S_{B_{22}}^2$	0,1519
Values of the t-ratio $t_{0,95}(9)=2,26$		$t_1=51,17$ $t_2=11,16$ $t_{12}=-1,05$ $t_{11}=-21,30$ $t_{22}=-50,42$	
Check of equation to the real process adequacy	Adequacy dispersion assessment		0,3700
	Fischer’s criterion	$F_{exp.}$	1,22
		$F_{0,95}(5;9)$	3,49

By virtue of the analysis of data in Table 5 it was established that the model obtained reflects the process of ultrasound extraction of flavonoids of chamomile flowers at the first step of maceration in the set intervals of factors

variation. The coefficient reflecting factors interaction – B_{12} – is insignificant.

Thus, the required regression equation for the first step of ultrasound maceration looks as follows (6):

$$Y = 50,55 + 11,58X_1 + 2,51X_2 - 8,30X_1^2 - 19,65X_2^2 \tag{6}$$

It was established that Y value is at its maximum of 54.67% at $X_1=1.70$ and $X_2=0.06$, with ultrasound processing time of 22 min. and 52% ethanol in *alcohol-water mixture*. The yield of flavonoids in the experimental conditions was $55.02 \pm 0.91\%$.

maceration the yield of flavonoids at the room temperature is low (less than 20%). Correspondingly it is expedient to perform the second step of extraction upon the application of heat.

Thus, the optimal parameters for the first step of the maceration technological process are: the extraction time is 22 min., 52% ethanol in *alcohol-water mixture* with ratio MRPM/extragent 1:7 and at the room temperature.

By virtue of the preliminary research results analysis and also on the experimental data obtained at the first step, at the second step the following factors were selected for variation of flavonoids ultrasound extraction: the media temperature (from 30 to 60°C) and the extraction time (from 5 to 25 min.). As an extragent 52% ethanol was used, with ratio MRPM/extragent 1:5. The levels and intervals of factors variation are displayed in Table 6.

The yield of the essential oil in the extractions obtained is about 69%.

It was defined that at the second step of ultrasound

Table 6 – Levels and intervals of factors variation for the second step of chamomile flowers ultrasound maceration

Variation factors		Variation levels			Variation intervals
Designation	Name	- 1	0	+1	
X_1	Time of ultrasound processing, min.	5	15	25	10
X_2	Temperature, °C	30	45	60	15

For the extraction, MRPM obtained after the first step of ultrasound maceration in experimentally selected conditions was used

The experiment planning matrix and the implemented experiments for the second step are displayed in Table 7.

Table 7 – Experiment planning matrix and the implemented experiments of the second step of chamomile flowers ultrasound maceration

No.	Planning matrix					Working matrix		Response function, %	
	X ₁	X ₂	X ₁ X ₂	X ₁ '	X ₂ '	Extraction time, min.	Temperature, °C	Y _{exp.}	Y _{calc.}
1	+	+	+	1/3	1/3	25	60	41.89	41.91
2	+	-	-	1/3	1/3	25	30	18.27	18.19
3	-	-	+	1/3	1/3	5	30	8.96	8.73
4	-	+	-	1/3	1/3	5	60	22.26	22.13
5	+	0	0	1/3	-2/3	25	45	35.84	35.92
6	-	0	0	1/3	-2/3	5	45	20.95	21.30
7	0	+	0	-2/3	1/3	15	60	36.19	36.29
8	0	-	0	-2/3	1/3	15	30	17.41	17.73
9	0	0	0	-2/3	-2/3	15	45	33.28	32.82

The calculated values of the regression equation coefficients are displayed in Table 8.

Table 8 – Values of regression equation coefficients for the second stage of chamomile flowers ultrasound extraction

Coefficient	B ₀	B ₁	B ₂	B ₁₂	B ₁₁	B ₂₂
Value	32.88	7.31	9.28	2.58	-4.27	-5.87

The results of the statistical analysis of the experimental data are presented in Table 9.

Table 9 – Statistical analysis of the second step of chamomile flowers ultrasound extraction experimental data

Indicator	Parameters		Value
Dispersions uniformity check	Kokhren's criterion	G _{exp.}	0.1593
		G _{0,95(1;9)}	0.6385
Coefficients significance check of regression equation	Reproducibility dispersion assessment		0.1910
	Dispersions estimates of regression coefficients	S _{B₁} ² = S _{B₂} ²	0.0318
		S _{B₁₂} ²	0.0478
		S _{B₁₁} ² = S _{B₂₂} ²	0.0955
Values of a t-ratio t _{0,95(9)} =2,26		t ₁ =40.98 t ₂ =52.02 t ₁₂ =11.85 t ₁₁ =-13.82 t ₂₂ =-19.00	
Check of equation adequacy to the real process	Adequacy dispersion assessment		0.2390
	Fischer's criterion	F _{exp.}	1.25
		F _{0,95(4;9)}	3.63

By virtue of the data analysis presented in Table 9 it has been established that the received equation reflects the technological process of the sum of flavonoids ultrasound extraction from a chamomile flowers at the second step of maceration in the set

$$Y = 32,88 + 7,31X_1 + 9,28X_2 + 2,58X_1X_2 - 4,27X_1^2 - 5,87X_2^2 \quad (7)$$

It was established that Y value is at its maximum of 42.67% at X₁=1,70 and X₂=0.75, with ultrasound processing time of 27 min. and the temperature of 61°C.

intervals of factors variation. All equation coefficients are significant.

Thus, the regression equation describing the second step of ultrasound maceration process of extracting sum of flavonoids from chamomile flowers looks as follows (7):

The yield of flavonoids in the experimental conditions was 42.10±0.53%.

Thus, optimal parameters for the second step of

maceration technological process were: the extraction time was 27 min., the temperature was 61°C at the chosen ratio MRPM/extragent 1:5 (52% ethanol was used as an extragent).

The yield of the essential oil in the extractions obtained at second step is 12%.

CONCLUSION. The parameters for the technological process of the sum of flavonoids and essential oil ultrasound extraction from chamomile flowers have been determined. At the first step the extraction time was 22 min., the content of ethanol in alcoholwater mixture was 52% at

the ratio MRPM/extragent 1:7 and the room temperature. At the second step the extraction time was 27 min., the media temperature was 61°C at the ratio MRPM/extragent 1:5 (52% ethanol was used as an extragent).

The general yield of the sum of flavonoids was 97%, the yield of the essential oil was 81%.

Thus, the extraction technology of ultrasound extraction of the sum of flavonoids from chamomile flowers allowing to obtain high essential oil yield has been worked out and optimized.

Библиографический список

1. Chamomile. Kooperation Phytopharmaka. URL: <http://www.koop-phyto.org/en/medicinal-plants/chamomile.php> (дата обращения: 05.05.2017)
2. Franke R., Schilcher H. Chamomile. Industrial Profiles. Florida: CRC Press, 2005. 279 p.
3. Fleming T. Physician's Desk Reference for Herbal Medicines. Montvale: Medical Economics Company, 2000. P. 331 – 335.
4. Монографии ВОЗ о лекарственных растениях, широко используемых в Новых независимых государствах. Всемирная организация здравоохранения, 2010. 454 с. URL: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/cl/CL10/> (дата обращения: 05.03.2017).
5. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. Том 3. ФС.2.5.0037.15 «Ромашки аптечной цветки». М., 2015. С. 612 – 623.
6. European Pharmacopoeia 9.0. Vol. I. Matricaria flower. Matricaria liquid extract. Matricaria oil. EDQM, 2017. P. 1431–1436.
7. British Pharmacopoeia 2017. Vol. IV. Matricaria Flowers. Health & Medicine, 2017.
8. United States Pharmacopoeia 40 – the National Formulary 35. Vol. 1. Chamomile. United Book Press, 2017. P. 6881–6883.
9. Загорулько Е.Ю., Ожигова М.Г. Подходы к стандартизации цветков ромашки аптечной (*Chamomilla recutita* flores) в российской и зарубежных фармакопеях // Фармация и фармакология. 2017. № 5(2). P. 135–149. DOI: 10.19163/2307-9266-2017-5-2-135-149.
10. Уанкпо Сегбехин Бие Берже. Современные подходы к оценке качества лекарственных препаратов, содержащих эфирные масла и терпеноиды эфирных масел, на примере ромашки аптечной цветков: автореф. ... канд. фарм. наук: 15.00.02. Санкт-Петербург, 2008. 23 с.
11. Ela M.A., El-Lakany A., Hijazi M.A General introduction on family Asteracea. Phytochemicals – a global perspective of their role in nutrition and health / Ed. by Dr Venketeshwer Rao. Rijeka: InTech, 2012. P. 375–400.
12. Petronilho S., Maraschin M., Coimbra M.A., Rocha S.M. In vitro and in vivo studies of natural products: a challenge for their valuation. the case study of chamomile (*Matricaria recutita* L.) // Industrial. Crops Products. 2012. Vol. 40. P. 1–12. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.02.041
13. Srivastava J.K., Gupta S. Chamomile: a herbal agent for treatment of diseases of the elderly. Foods and dietary supplements in the prevention and treatment of disease in older adults / Ed. by R.R. Watson. Elsevier Inc., 2015. P. 171–183. DOI: 10.1016/B978-0-12-418680-4.00018-X
14. Азарова О.В., Галактионова Л.П. Флавоноиды: механизм противовоспалительного действия // Химия растительного сырья. 2012. № 4. С. 61–78.
15. Gawde A., Cantrell C.L., Zheljazkov V.D., Astatkie T., Schlegel V. Steam distillation extraction kinetics regression models to predict essential oil yield, composition, and bioactivity of chamomile oil // Industrial. Crops Products. 2014. Vol. 58. P. 61–67. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.04.001
16. Первышина Г.Г., Ефремов А.А., Гордиенко Г.П., Агафонова Е.А. К вопросу о содержании биологически активных веществ ромашки аптечной (*Chamomilla recutita*) и ромашки душистой (*Chamomilla suaveolens*), произрастающих в Красноярском крае // Химия растительного сырья. 2002. № 3. С. 21–24.
17. Косман В.М., Пожарицкая О.Н., Шиков А.Н., Макаров В.Г. Сравнительное изучение содержания флавоноидов и кумаринов в некоторых препаратах ромашки аптечной // Химия растительного сырья. 2015. № 1. С. 107–112.
18. Амелъченко В.Е., Болтовский В.С., Флейшер В.Л. Влияние условий экстракции на эффективность извлечения экстрактивных веществ из ромашки аптечной и мяты перечной // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя хімічных навук. 2017. № 2. С. 88–92.
19. Амелъченко В.Е., Петрович С.А., Болтовский В.С. Оптимизация процесса экстракции ромашки аптечной рапсовым маслом // Новейшие достижения в области инновационного развития в химической промышленности и производстве строительных материалов: материалы Международной научно-технической конференции, 18–20 ноября 2015 г. Минск: БГТУ, 2015. С. 431–433.

20. Иванов Е.В. Экстрагирование из волокнистых пористых материалов: дис. ... докт. техн. наук: 05.17.08. СПб, 2009. 302 с.
21. Pingret D., Fabiano-Tixier A.S., Chemat F. Ultrasound-assisted Extraction. Natural Product Extraction. Principles and Applications. RSC Green Chemistry. No. 21. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2013. P. 89–112.
22. Ахназарова С.Л., Кафаров В.В. Методы оптимизации эксперимента в химической технологии. М.: Высшая школа, 1985. С. 159–257.
23. Производство лекарственных средств. Химическая технология от R&D до производства. Ред.: Д.Дж. Энде, пер. с англ. под ред. В.В. Береговых. СПб.: Профессия, 2015. С. 884–887.
24. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. Том 2. ОФС.1.5.3.0010.15 «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». М., 2015. С. 434–438.
25. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. Том 1. ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента». М., 2015. С. 235–264.
26. Загоруйко Е.Ю., Теслев А.А. Сравнение различных способов экстрагирования ромашки аптечной цветков // Сб. мат. V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации». Санкт-Петербург, 8–9 ноября 2017 г. СПб.: Изд-во СПХФА. 2017. С. 167–169.
27. Rutkowska M., Namiersnik J., Konieczka P. Ultrasound-Assisted Extraction. The Application of Green Solvents in Separation Processes. Elsevier Inc., 2017. P. 301–324. DOI: 10.1016/B978-0-12-805297-6.00010-3
28. Загоруйко Е.Ю. Влияние нагрева на выход флавоноидов при ультразвуковом экстрагировании цветков ромашки аптечной // Сб. мат. VII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего». Санкт-Петербург, 24–25 апреля 2017 г. СПб.: Изд-во СПХФА. 2017. С. 520–521.

References

1. Chamomile. Kooperation Phytopharmaka. [Internet]. [cited 2017 May 05]. Available from: <http://www.koop-phyto.org/en/medicinal-plants/chamomile.php>
2. Franke R, Schilcher H. Chamomile. Industrial Profiles. Florida: CRC Press; 2005. 279 p.
3. Fleming T. Physician's Desk Reference for Herbal Medicines. Montvale: Medical Economics Company; 2000. P. 331–5.
4. Monografii VOZ o lekarstvennyh rasteniah, shiroko ispol'zuemyh v Novyh Nezavisimyh Gosudarstvah [WHO monographs on medicinal plants, widely used in the New Independent States]. Vsemimaya organizaciya zdavoohraneniya; 2010. 454 p. [Internet]. [cited 2017 Mar 05]. Available from: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/cl/CL10/> Russian.
5. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii. XIII izdanie. Tom 3. FS.2.5.0037.15 «Romashki aptechnoj cvetki» [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII edition. Vol. 3. Matricaria recutita flowers.] Moskva; 2015. 612–23 p. Russian.
6. European Pharmacopoeia 9.0. Vol. I. Matricaria flower. Matricaria liquid extract. Matricaria oil. EDQM; 2017. 1431–6 p.
7. British Pharmacopoeia 2017. Vol. IV. Matricaria Flowers. Health & Medicine, 2017.
8. United States Pharmacopoeia 40 – the National Formulary 35, Vol. 1. Chamomile. United Book Press; 2017: 6881–3.
9. Zagorulko EY, Ozhigova MG. Podhody k standartizacii cvetkov romashki aptechnoj v rossijskoj i zarubezhnyh farmakopeyah [Approaches to the standardization of the chamomile flowers (Chamomillae recutita flores) in the russian and foreign pharmacopoeias]. Pharmacy & Pharmacology. 2017;5(2):135–49. DOI: 10.19163/2307-9266-2017-5-2-135-149. Russian.
10. Uankpo Segbekhin Bie Berzhe. Sovremennye podhody k ocenke kachestva lekarstvennyh preparatov, sodержashchih ehfirnye masla i terpenoidy ehfirnyh masel, na primere romashki aptechnoj cvetkov: avtoref. ... kand. farm. nauk: 15.00.02. [Modern approaches to assessing the quality of drugs containing essential oils and terpenoids of essential oils, using the example of chamomile flowers]. [dissertation]. Sankt-Peterburg; 2008. 23 p. Russian.
11. Ela MA, El-Lakany A, Hijazi MA. General introduction on family Asteracea. Phytochemicals – a global perspective of their role in nutrition and health. Dr Venketeshwer Rao, editor. Rijeka: InTech; 2012. 375–400 p.
12. Petronilho S, Maraschin M, Coimbra MA, Rocha SM. In vitro and in vivo studies of natural products: a challenge for their valuation. The case study of chamomile (Matricaria recutita L.). Industrial. Crops Products. 2012;40:1–12: DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.02.041
13. Srivastava JK, Gupta S. Chamomile: a herbal agent for treatment of diseases of the elderly. Foods and dietary supplements in the prevention and treatment of disease in older adults. R.R. Watson, editor. Elsevier Inc.; 2015. 171–83 p. DOI: 10.1016/B978-0-12-418680-4.00018-X
14. Azarova OV, Galaktionova LP. Flavonoidy: mekhanizm protivovospalitel'nogo dejstvyia [Flavonoids: an anti-inflammatory mechanism]. Chem. pl. raw mat. 2012;4:61–78. Russian.
15. Gawde A, Cantrell CL, Zheljazkov VD, Astatkie T, Schlegel V. Steam distillation extraction kinetics regression

- models to predict essential oil yield, composition, and bioactivity of chamomile oil. *Industrial. Crops Products*. 2014;58:61–7. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.04.001
16. Pervyshina GG, Efremov AA, Gordienko GP, Agafonova EA. K voprosu o sodержanii biologicheskii aktivnykh veshchestv romashki aptechnoj (Chamomilla recutita) i romashki dushistoj (Chamomilla suaveolens), proizrastayushchih v Krasnoyarskom krae [To the question of the content of biologically active substances of chamomile pharmacy (Chamomilla recutita) and chamomile (Chamomilla suaveolens), growing in the Krasnoyarsk Territory]. *Chem. pl. raw mat.* 2002;3:21–4. Russian.
 17. Kosman VM, Pozharickaya ON, Shikov AN, Makarov VG. Sravnitel'noe izuchenie sodержaniya flavonoidov i kumarinov v nekotorykh preparatah romashki aptechnoj [Comparative study of the content of flavonides and coumarins in some preparations of a damage pharmacy]. *Chem. pl. raw mat.* 2015;1:107–12. Russian.
 18. Amel'chenko VE, Boltovskij VS, Flejsher VL. Vliyanie uslovij ehkstrakcii na ehffektivnost' izvlecheniya ehkstraktivnykh veshchestv iz romashki aptechnoj i myaty perechnoj [Effect of extraction conditions on the extraction efficiency of extractives from chamomile and peppermint]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Series of Chemical Sciences.* 2017;2:88–92. Russian.
 19. Amel'chenko VE, Petrovich SA, Boltovskij VS. Optimizaciya processa ehkstrakcii romashki aptechnoj rapsovykh maslom [Optimization of extraction process of chamomile pharmacy rapeseed oil]. *The latest achievements in the field of innovation development in the chemical industry and the production of building materials: materials of the International Scientific and Technical Conference, 18-20 November 2015.* Minsk: BSTU; 2015. 431–3 p.
 20. Ivanov EV. Ehkstragirovanie iz voloknistykh poristykh materialov: dis. ... dokt. tekhn. nauk: 05.17.08 [Extraction of fibrous porous materials]. [dissertation]. St. Petersburg; 2009. 302 p. Russian.
 21. Pingret D, Fabiano-Tixier AS, Chemat F. Ultrasound-assisted Extraction. *Natural Product Extraction. Principles and Applications.* RSC Green Chemistry. No. 21. Cambridge: The Royal Society of Chemistry; 2013. 89–112 p.
 22. Ahnazarova SL, Kafarov VV. Metody optimizacii ehksperimenta v himicheskoi tekhnologii [Methods of experiment optimization in chemical technology]. Moskva: Vysshaya shkola; 1985. 159–257. Russian.
 23. Proizvodstvo lekarstvennykh sredstv. Himicheskaya tekhnologiya ot R&D do proizvodstva [Manufacture of medicines. Chemical technology from R&D to production]. D.Dzh. EHnde, V.V. Beregovykh, editors. Sankt-Peterburg: Professiya; 2015. 884–7. Russian.
 24. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii. XIII izdanie. Tom 2. OFS.1.5.3.0010.15 «Opreделение sodержaniya ehfirnogo masla v lekarstvennom rastitel'nom syr'e i lekarstvennykh rastitel'nykh preparatah» [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII edition. Vol. 2. Determination of essential oil content in medicinal plant raw materials and herbal preparations]. Moskva; 2015. 434–8 p. Russian.
 25. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii. XIII izdanie. Tom 1. OFS.1.1.0013.15 «Statisticheskaya obrabotka rezul'tatov himicheskogo ehksperimenta» [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII edition. Vol. 1. Statistical processing of the results of a chemical experiment]. Moskva; 2015. 235–64 p. Russian.
 26. Zagorul'ko EY, Teslev AA. Cravnenie razlichnykh sposobov ehkstragirovaniya romashki aptechnoj cvetkov [Comparison of different methods of extraction of the chamomile flowers]. *Collection of materials of the V All-Russian scientific-practical conference with international participation "Innovations in the health of the nation".* St. Petersburg, Nov 2017. St. Petersburg: SPCPA Publishing House; 2017. 167–9 p. Russian.
 27. Rutkowska M, Namiersnik J, Konieczka P. Ultrasound-Assisted Extraction. *The Application of Green Solvents in Separation Processes.* Elsevier Inc.; 2017. 301–24 p. DOI: 10.1016/B978-0-12-805297-6.00010-3
 28. Zagorul'ko EY. Vliyanie nagreva na vyhod flavonoidov pri ul'trazvukovom ehkstragirovanii cvetkov romashki aptechnoj [Influence of heating on the yield of flavonoids with ultrasound extraction of the chamomile flowers]. *Collection of materials of the VII All-Russian scientific conference of students and graduate students with international participation "Young Pharmacy is the Potential of the Future".* St. Petersburg, Apr 2017. St. Petersburg: SPCPA Publishing House; 2017. 520–1 p. Russian.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Загорюлько Елена Юрьевна – научный сотрудник Центра фармацевтической технологии, ассистент кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов ФГБОУ ВО СПбХФУ. Область научных интересов: технология фитопрепаратов, технология готовых лекарственных средств, вопросы стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов.

ORCID: 0000-0003-0103-3560.

E-mail: elena.zagorulko@pharminnotech.com.

Zagorulko Elena Ur'evna – research associate at the Center of Pharmaceutical Technology, assistant lecturer at the Department of Industrial Drug Technology, Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. Research interests: phytopreparations technology, technology of drugs, the standardization of medicinal plant raw materials and herbal drugs.

ORCID: 0000-0003-0103-3560.

E-mail: elena.zagorulko@pharminnotech.com.

Теслев Андрей Александрович – кандидат фармацевтических наук, начальник Центра фармацевтической технологии ФГБОУ ВО СПбХФУ. Область научных интересов: разработка составов и технологий лекарственных средств, биофармацевтические аспекты разработки лекарств, стандартизация лекарственных препаратов, доклинические исследования.

Ожигова Мария Георгиевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов ФГБОУ ВО СПбХФУ. Область научных интересов: технология фитопрепаратов, технология готовых лекарственных средств.

Teslev Andrey Aleksandrovich – PhD (Pharmacy), Director of the Center of Pharmaceutical Technology, Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. Research interests: formulation of drug products, biopharmaceutical aspects of drugs development, standardization of drugs, preclinical trials.

Ozhigova Maria Georgievna – PhD (Pharmacy), associate Professor at the Department of Industrial Drug Technology, the SPCPA. Research interests: phytopreparations technology, technology of drugs.

Поступила в редакцию: 29.01.2018
Отправлена на доработку: 05.02.2018
Принята к печати: 05.04.2018

Received: 29.01.2018
Sent back for revision: 05.02.2018
Accepted for publication: 05.04.2018
