

ПОЛИФЕНОЛЫ: СТРУКТУРА, БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Е.В. Фокина 

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
Институт биомедицинских систем и биотехнологий,
Высшая школа биотехнологий и пищевых производств,
г. Санкт-Петербург, Россия
elizabeth_fox@mail.ru

Аннотация. В статье рассмотрены полифенольные соединения, их структура и биологическая активность, а также современные методы анализа полифенолов в плодах зизифуса *Zyzyphus jujuba* Mill нового селекционного сорта «Конфетный». Полифенолы обладают антиоксидантной, противовоспалительной и антимикробной активностью, что делает их перспективными для использования в пищевой и медицинской промышленности. Проведен обзор методов, таких как спектрофотометрия, хроматография и электрохимические методы, применяемых для качественного и количественного анализа полифенолов. Представленные результаты подчеркивают важность этих соединений для здоровья человека и их потенциал в создании функциональных продуктов питания и фармацевтических препаратов.

Ключевые слова: полифенолы; антиоксиданты; биологическая активность; хроматография; спектрофотометрия; растительное сырье; методы анализа.

Введение

Полифенолы представляют собой обширный класс природных соединений, содержащихся в растениях, и проявляют значительную биологическую активность. Эти вещества обладают антиоксидантными свойствами, что делает их важными в защите клеток от окислительного стресса и связанных с ним заболеваний, таких как сердечно-сосудистые заболевания и рак. Полифенолы также оказывают противовоспалительное и антимикробное действие, что позволяет использовать их в качестве активных ингредиентов в функциональных продуктах питания и фармацевтических препаратах.

Фрукты и овощи являются важным компонентом рациона человека, что обусловлено содержанием высоких уровней биологически активных компонентов и микроэлементов, благотворно влияющих на здоровье человека [1, 13]. Известно, что нутриенты фруктов и овощей, такие как клетчатка, полифенолы, изофлавоны, витамины А, В, С и Е (группа токоферолов), β-каротиноиды и другие проявляют антиоксидантные свойства [19, 20, 21]. Благодаря наличию биологически активных фитокомпонентов, употребление некоторых фруктов и овощей помогает контролировать физиологическое состояние (артериальное давление, уровень сахара в крови) [6, 10, 11, 15].

Фенольные соединения в растениях обычно содержатся в виде смеси близких по структуре веществ с молекулярной массой порядка 300–5000 и более [8]. Из-за большого разнообразия полифенолов и растений, в которых они содержатся, эти соединения разделяют в зависимости от источника происхождения, функции полифенолов и их химической структуры. Основные из них – флавоноиды, фенольные кислоты, стильбены и лигнаны [16].

Большинство полифенолов растворяются в воде и придают плодам характерный вяжущий вкус. В их основе лежат простые ароматические кислоты (галловая, коричная, кумариновая и другие), которые образуют полиэфиры с сахарами или сложные дипептидные

соединения [8]. При нагревании одни из них гидролизуются до более мелких растворимых осколков, другие, наоборот, уплотняются. Благодаря наличию большого количества спиртовых групп полифенолы могут вступать в необратимую связь с белками, образуя плотные нерастворимые конгломераты - оказывать дубящий эффект. Эти полифенолы образуют группу дубильных веществ или танинов [8].

Полифенолы проявляют антиоксидантную активность, благодаря чему они предотвращают окислительное повреждение, связанное со старением и дегенеративными заболеваниями. Установлено, что регулярное употребление растительных продуктов с высоким содержанием полифенолов, особенно флавоноидов, способствует снижению риска образования тромбов и бляшек, снижению кровяного давления и риска сердечных приступов [14]. Исследования показывают, что полифенолы помогают в профилактике и борьбе с сахарным диабетом 2 типа. Так, ресвератрол, кверцетин, катехины и антоцианы влияют на уровень глюкозы в крови, стимулируя ее поглощение тканями, повышая при этом чувствительность к инсулину.

Благодаря противовоспалительному и антиоксидантному действию полифенолы участвуют в регулировании биологических процессов, связанных с развитием рака [17]. Окислительный стресс увеличивает число повреждений ДНК, что приводит к потере контроля над делением клеток и увеличивает риск развития саркомы, меланомы, рака груди, легких, печени и предстательной железы [17].

Основными методами определения полифенолов благодаря наличию в их структуре легко окисляющихся гидроксильных, а также хромофорных групп являются спектроскопические, хроматографические, электрохимические и химические.

Однако, основными методами анализа реальных объектов, содержащих полифенольные соединения, являются хроматографические и химические. Значительно меньшее число работ посвящено определению полифенолов спектроскопическими методами [18].

Наиболее распространенным методом определения полифенолов в растительных и биологических объектах является обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография с ультрафиолетовым или электрохимическим детектированием.

В последние годы для идентификации фенолов, присутствующих в растительном сырье и продуктах питания, в основном используют метод высоко-эффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием или сочетание диодно-матричного и масс-спектрометрического детектирования с различными источниками ионизации. Последний метод особенно ценен при изучении ацилированных флавоноидных гликозидов, содержащихся в растениях, овощах, фруктах в малых количествах.

Хроматография с амперометрическим детектированием применяется для оценки антиоксидантной активности продуктов питания, напитков и лекарств. Большинство природных биологически активных фенолов способны окисляться на электроде, поэтому для их определения удобно использовать амперометрический детектор. Он позволяет устанавливать присутствие неизвестных соединений в сложных природных источниках фенолов, тогда как с помощью классических химических методов можно оценить лишь общую антиоксидантную активность образца или активность известного соединения [5].

Адсорбционную тонкослойную хроматографию используют для качественного и количественного определения индивидуальных катехинов. Как правило, в качестве неподвижной фазы используют силикагель.

Все полифенольные соединения принадлежат к высоко электродо-активным веществам, которые могут быть легко окислены из-за присутствия большого числа гидроксильных групп в их молекулах. Благодаря этому свойству они легко окисляются на электродах, в связи с чем, электрохимические методы широко применяются для их определения [7].

Амперометрический метод, позволяющий определять содержание всех антиоксидантов в пробе, был успешно применен для установления содержания природных антиоксидантов в пищевых продуктах, биологически активных добавках и винах.

В настоящее время метод капиллярного электрофореза используют как дополнительный к высокоэффективной жидкостной хроматографии при разделении и определении фенолов. Одним из распространенных способов обнаружения фенолов является кулонометрическое детектирование. В таком случае, в отличие от амперометрического определения, исследуемые соединения полностью окисляются [2].

В основе спектроскопических методов лежат реакции получения хромофоров (метод Фолина-Кокто, применение HCl-BuOH , ванилина и другие).

Однако данные методы не дают информации о количестве и структуре индивидуальных соединений. Среди существующих спектрофотометрических методов определения структурно схожих флавонолов на основе реакции окисления-восстановления следует выделить метод Фолина-Дениса, основанный на образовании голубых продуктов окисления фенольных соединений вольфрамовой кислотой в щелочной среде. Однако этот метод позволяет определять только сумму флавонолов и при использовании рекомендованных в методике соотношений компонентов реакции часто выпадает осадок, который приводит к получению заниженных результатов. Полифенолы имеют полосы поглощения в УФ-области, которые используют для определения их общего содержания.

Удобным и простым методом определения танинов является спектрофотометрический метод Фолина-Чокальтеу, основанный на окислительно-восстановительной реакции, в ходе которой восстанавливается фосфорно-молибденовая кислота. Определению танинов этим способом мешают присутствующие в настое восстанавливающие сахара, аскорбиновая кислота, белки и аминокислоты (цистеин и тирозин).

В последнее время нашли применение сорбционно-спектроскопические методы определения полифенольных соединений. Так разработаны методики твердофазного люминесцентного определения флавоноидов (кверцетина, рутина, морина) в растительном сырье и фармацевтических препаратах.

Известны методики для сорбционно-люминесцентного определения производных фенолкарбоновых кислот – пропилгаллатов пищевых и косметических масел и хлорогеновой кислоты в зернах кофе. Экспрессное твердофазное определение суммы полифенольных соединений в лекарственном растительном сырье является наиболее актуальной задачей в пищевой и фармацевтической промышленности [9]. Для анализа объектов со сложной матрицей целесообразно применять хроматографические и электрохимические методы.

Изучение полифенолов и разработка методов их анализа являются актуальными направлениями исследований в связи с потребностью в безопасных и эффективных природных компонентах для поддержания здоровья и профилактики заболеваний.

Материалы и методы

Определение полифенольных веществ в пересчете на дубильные вещества. Содержание полифенольных веществ в экстрактах определяли титриметрическим методом в соответствии с ГОСТ 24027.2–80 [3].

Приготовление 0.1 н. раствора марганцовокислого калия: 3,3 г марганцовокислого калия растворяли в 1000 см³ воды и кипятили в течение 10 минут. Колбу закрывали пробкой и оставляли на двое суток в темном месте, затем фильтровали через стеклянный фильтр.

Приготовление индиго сульфокислоты: 1 г индигокармина растворяли в 25 см³ концентрированной уксусной кислоты, затем прибавляли 25 см³ концентрированной серной кислоты и разбавляли дистиллированной водой до 1000 см³, осторожно приливая раствор в воду.

Приготовление водного раствора этилового спирта с массовой долей 70%: В цилиндр вместимостью 1000 см³ вносили 700 см³ этилового спирта. Объем доводили дистиллированной водой до 1000 см³.

*Приготовление навески из плодов *Ziziphus jujuba* сорта «Конфетный»*

Плоды промывали и отделяли косточку от мякоти, мякоть гомогенизировали до однородной массы.

*Приготовление водно-спиртового экстракта из плодов *Ziziphus jujuba* сорта «Конфетный»:*

В колбу вместимостью 100 см³ вносили навеску, с погрешностью не более 0.001 г, массой 1 г и 30 см³ водного раствора этилового спирта.

*УЗ-обработка экстрактов из плодов *Ziziphus jujuba* сорта «Конфетный»:*

Подготовленные водно-спиртовые экстракты из плодов *Ziziphus jujuba* сорта «Конфетный» обрабатывали в гомогенизаторе Scientz-III (рисунок 5) в течение 10 минут с варьированием мощности ультразвука в диапазоне от 25 до 75 Вт.

Проведение испытания:

Испытание проводили в течение 7 суток. Пробы для проведения испытания отбирали каждые 12 часов.

В колбу 250 см³ отбирали 10 см³ водно-спиртового экстракта, добавляли 250 см³ воды, 10 см³ индиго сульфокислоты и титровали при постоянном помешивании 0.1 н. раствором калия марганцовокислого до золотисто-желтого окрашивания, сравнивая с окраской раствора контрольного испытания.

Для проведения контрольного испытания в колбу вместимостью 250 см³, наливали 210 см³ дистиллированной воды, добавляли 10 см³ индигосульфокислоты и титровали при постоянном помешивании 0.1 н. раствором марганцовокислого калия до золотисто-желтого окрашивания.

Обработка результатов:

Содержание дубильных веществ (X) в процентах в экстрактах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(V-V_1) \cdot 0.004157 \cdot 250 \cdot 50 \cdot 100}{m \cdot 10 \cdot (100-W)}, \quad (1)$$

где

V – объем точно 0.1 н. раствора марганцовокислого калия, израсходованного на титрование извлечения, см³;

V₁ – объем точно 0.1 н. раствора марганцовокислого калия, израсходованного на титрование в контрольном анализе, см³;

0,004157 – количество дубильных веществ, соответствующее 1 см³ точно 0.1 н. раствора марганцовокислого калия (в пересчете на танин), г;

m – масса сырья, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, %;

250 – вместимость мерной колбы, см³;

10 – объем жидкого извлечения, взятого для титрования, см³.

Определение полифенольных веществ в пересчете на галловую кислоту.

Определение полифенольных веществ в перерасчете на галловую кислоту проводили в соответствии с ГОСТ Р 55488–2013 [4].

Приготовление водного раствора этилового спирта с массовой долей 70 %. В цилиндр, вместимостью 1000 см³, вносили 730 см³ этилового спирта. Объем раствора доводили дистиллированной водой до 1000 см³.

*Приготовление водно-спиртового экстракта из плодов *Ziziphus jujuba* сорта «Конфетный»:*

В колбу вместимостью 100 см³ вносили навеску, с погрешностью не более 0,001 г, массой 1 г и 30 см³ водного раствора этилового спирта. Выдерживали при комнатной температуре в течение 24 ч.

Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 20 %

В конической колбе вместимостью 750 см³ растворяли натрий углекислый безводный массой (100,00 ± 0,01) г в 400 см³ дистиллированной воды и доводили до кипения на электрической плитке. Охлаждали, фильтровали через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу вместимостью 500 см³ и доводили объем до метки дистиллированной водой.

Приготовление основного раствора галловой кислоты с массовой концентрацией 5 мг/см³

В мерной колбе вместимостью 100 см³ растворяли галловую кислоту массой (0,500 ± 0,001) г в 10 см³ этилового спирта. Объем раствора в колбе доводили до метки дистиллированной водой, перемешивали.

Основной раствор хранили при температуре 4 °С в течение 14 сут.

Приготовление рабочих растворов галловой кислоты

В пять мерных колб вместимостью 100 см³ последовательно добавляли 1; 2; 3; 5; 10 см³ основного раствора галловой кислоты. Объем растворов в колбах доводили до метки дистиллированной водой, перемешивали. Массовая концентрация галловой кислоты составляла 0,05; 0,1; 0,15; 0,25; 0,5 мг/см³, соответственно.

Построение градуировочного графика

В шесть мерных колб вместимостью 50 см³ вносили по 1 см³ рабочих растворов галловой кислоты, и 10 см³ дистиллированной воды, в каждую колбу добавляли 4 см³ реактива Фолина-Чокальтеу, 6 см³ раствора натрия углекислого, перемешивали и доводили до метки дистиллированной водой. В шестую колбу - контрольный раствор, добавляли 1 см³ дистиллированной воды. Через 2 часа измеряли оптическую плотность растворов на спектрофотометре при длине волны 765 нм по отношению к контрольному раствору.

Для построения градуировочного графика использовали среднеарифметическое значение результатов трех измерений оптической плотности каждого рабочего раствора галловой кислоты. Строили градуировочный график, откладывая на оси ординат значение массовой концентрации галловой кислоты, а на оси абсцисс – оптическую плотность.

Обработка результатов

По градуировочному графику находили значение массовой концентрации галловой кислоты в экстракте (С), мг/см³.

Массовую концентрацию полифенолов Х, г/кг в экстрактах в пересчете на галловую кислоту, вычисляли по формуле

$$X = \frac{C \cdot 100 \cdot 50}{1 \cdot 1} \cdot 1000, \quad (2)$$

где С - массовая концентрация галловой кислоты, найденная по градуировочному графику, мг/см³;

100 - объем разведения, см³;

50 - объем разведения, см³;

1 - масса пробы прополиса, г;

1 - аликвота пробы, см³;

1000 - коэффициент пересчета г в кг.

Основными методами исследования являлись спектрофотометрия, хроматография и электрохимические методы. Спектрофотометрический анализ проводился с использованием реактива Фолина-Чокальтеу, что позволяет определять общее содержание полифенолов. Хроматографические методы включали высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), обеспечивающую разделение и идентификацию отдельных полифенольных соединений. Электрохимические методы использовались для оценки антиоксидантной активности полифенолов за счет их способности к окислению.

Результаты и обсуждение

На первом этапе работ определяли содержание полифенольных веществ в плодах зизифуса. Полифенольные вещества экстрагировали из плодов 70% спиртом. Экстрагирование вели в течение 7 сут. Ежедневно определяли уровень полифенолов в экстракте.

В ходе эксперимента изучали влияние ультразвука на экстракцию полифенолов. В работе использовали ультразвуковой гомогенизатор Scientz-III. Принцип действия прибора

основан на использование свойств ультразвуковых колебаний высокой интенсивности в водно-спиртовой среде. Обработка УЗ приводит к повышению температуры растительных тканей. Для выбора оптимальной мощности ультразвука гомогенат мякоти плодов с экстрагирующим веществом подвергали обработке УЗ с различной мощностью от 25 до 200 Вт.

Таблица 1 – Изменение температуры экстрактов под воздействие УЗ-обработки

Время обработки, мин	Мощность УЗ, Вт (номер группы)							
	25 (1х)	50 (2х)	75 (3х)	100 (4х)	125 (5х)	150 (6х)	175 (7х)	200 (8х)
0	16,8	16,8	16,8	16,8	16,8	16,8	16,8	16,8
1	16,8	16,8	16,8	16,8	17,1	17,1	17,5	17,5
2	16,8	16,8	16,8	16,8	17,3	17,5	17,8	18,5
3	16,8	16,8	17,0	17,0	17,4	17,8	18,7	19,6
4	16,8	16,8	17,0	17,1	17,5	18,1	19,4	20,4
5	16,8	16,8	17,0	17,3	17,7	18,5	20,1	21,9
6	16,8	17,0	17,0	17,4	17,8	18,9	20,8	22,7
7	16,8	17,0	17,0	17,5	18,1	19,3	21,9	23,8
8	16,8	17,0	17,3	17,7	18,3	19,6	22,9	25
9	16,8	17,0	17,3	17,7	18,4	19,9	23,4	25,5
10	16,8	17,0	17,3	17,7	18,4	20,1	24	26,5

Апостериорный тест Тьюки-Крамера показал, что средние значения следующих пар значительно отличаются: x1-x7, x1-x8, x2-x7, x2-x8, x3-x7, x3-x8, x4-x7, x4-x8, x5-x7, x5-x8, x6-x8 (таблица 2), что свидетельствует о существенном повышении температуры экстракта при использовании для обработки УЗ мощностью 175 и 200 Вт. Однако, для групп 4-6 значение Q близко к критическому значению (таблица 3). В связи с этим в дальнейших исследованиях для дополнительной обработки экстрактов были выбраны три значения мощности УЗ.

Таблица 2 – Определение влияния мощности УЗ на температуру экстракта. Тест Тьюки-Крамера ($\alpha=0,05$, $n=10$)

Паpa	Difference	Critical Mean	p-value
x1-x2	0.1	2.0048	1
x1-x3	0.25	2.0048	0.9999
x1-x4	0.5	2.0048	0.9937
x1-x5	1	2.0048	0.7736
x1-x6	1.88	2.0048	0.082
x1-x7	3.85	2.0048	0.000002016
x1-x8	5.34	2.0048	6.246e-11
x2-x3	0.15	2.0048	1
x2-x4	0.4	2.0048	0.9984
x2-x5	0.9	2.0048	0.8537
x2-x6	1.78	2.0048	0.1186
x2-x7	3.75	2.0048	0.000003795
x2-x8	5.24	2.0048	1.674e-10
x3-x4	0.25	2.0048	0.9999
x3-x5	0.75	2.0048	0.9384
x3-x6	1.63	2.0048	0.1966

x3-x7	3.6	2.0048	0.000009694
x3-x8	5.09	2.0048	5.39e-10
x4-x5	0.5	2.0048	0.9937
x4-x6	1.38	2.0048	0.3947
x4-x7	3.35	2.0048	0.00004472
x4-x8	4.84	2.0048	3.064e-9
x5-x6	0.88	2.0048	0.8675
x5-x7	2.85	2.0048	0.0008066
x5-x8	4.34	2.0048	8.493e-8
x6-x7	1.97	2.0048	0.05761
x6-x8	3.46	2.0048	0.00002295
x7-x8	1.49	2.0048	0.2973

В процессе экстракции гомогенизированные плоды в водно-спиртовом растворе обрабатывали ультразвуком в течение 10 минут с использованием трех режимов мощности 25 Вт, 50 Вт и 75 Вт. Соотношение массы плодов и экстрагента устанавливалось одинаковое для всех исследуемых образцов – 1:30.

Содержание полифенолов определяли в пересчете на дубильные вещества (рисунок 1) и галловую кислоту (рисунок 4).

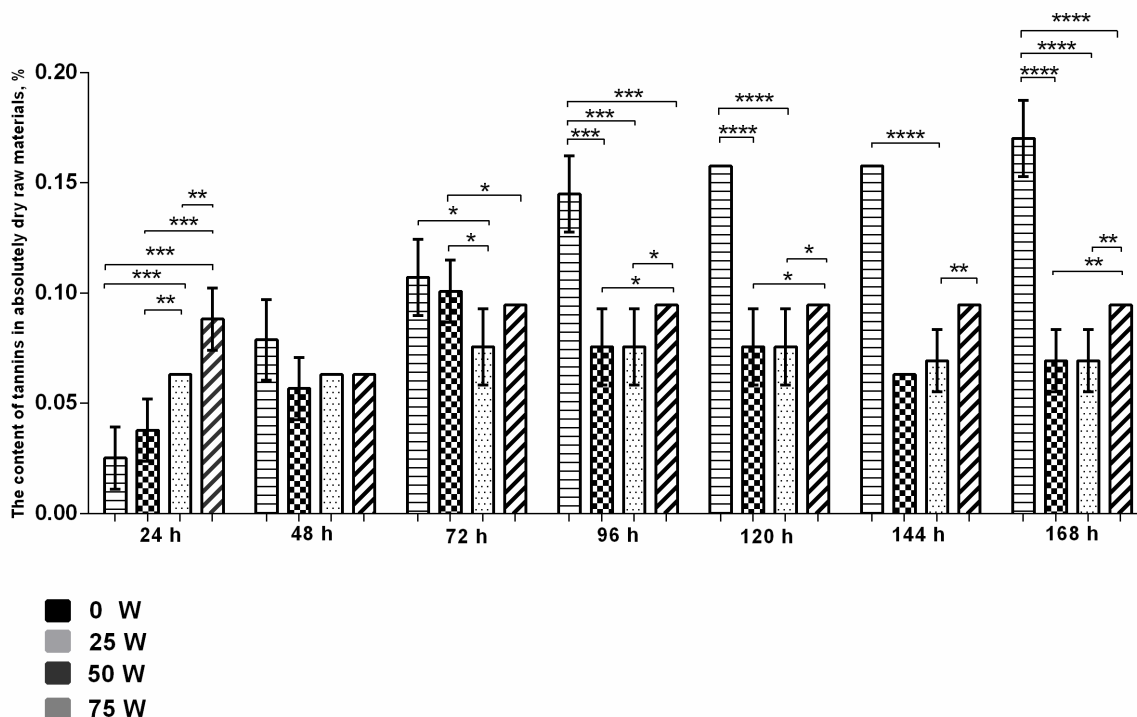


Рисунок 1 – Влияние УЗ-обработки на экстрагирование полифенольных веществ из плодов *Ziziphus jujuba* Mill

Как видно из рисунка 6, полифенольные соединения хорошо экстрагируются 70 % спиртом и к 7 сут их содержание (в пересчете на дубильные вещества) в экстракте достигает до 170 мкг/100 г (таблица 3). Содержание полифенолов в экстрактах после обработки ультразвуком почти в два раза ниже (таблица 3). При этом следует отметить, что максимальный выход полифенолов из растительной ткани, обработанной ультразвуком, достиг своего максимума уже на 3 сут вне зависимости от мощности УЗ.

Анализ полученных результатов показал, что обработка ультразвуком в процессе экстракции влияет на выход полифенольных соединений при пересчете на дубильные вещества (рисунок 1, таблица 4). Если через 24 часа обработка УЗ приводила к увеличению

выхода полифенолов, то уже через 96 часов можно наблюдать обратный эффект – выход полифенолов существенно ниже после обработки УЗ не зависимо от используемой мощности. Вероятно, дубильные вещества разрушаются под воздействием ультразвука.

Таблица 3 – Результаты количественного определения полифенолов в пересчете на дубильные вещества

Обработка УЗ	Время экстрагирования, ч	Содержание полифенолов, %	Метрологические данные			
			$\bar{X}$	$S_{\bar{X}}$	$\Delta \bar{X},$ $\alpha=0,05$	$\varepsilon, \%$
Без УЗ	24	0,025	0,025	0,014	0,012	25,0
	48	0,076	0,076	0,017	0,015	10,2
	72	0,107	0,107	0,017	0,015	7,2
	96	0,145	0,145	0,017	0,015	5,3
	120	0,158	0,158	0,000	-	0,0
	144	0,158	0,158	0,000	-	0,0
	168	0,170	0,170	0,017	0,015	4,5
25 Вт	24	0,038	0,038	0,014	0,012	16,7
	48	0,057	0,057	0,014	0,012	11,1
	72	0,101	0,101	0,014	0,012	6,3
	96	0,076	0,076	0,017	0,015	10,2
	120	0,076	0,076	0,017	0,015	10,2
	144	0,063	0,063	0,000	-	0,0
	168	0,069	0,069	0,014	0,012	9,1
50 Вт	24	0,063	0,063	0,000	-	0,0
	48	0,063	0,063	0,000	-	0,0
	72	0,076	0,076	0,017	0,015	10,2
	96	0,076	0,076	0,017	0,015	10,2
	120	0,076	0,076	0,017	0,015	10,2
	144	0,069	0,069	0,014	0,012	9,1
	168	0,069	0,069	0,014	0,012	9,1
75 Вт	24	0,088	0,088	0,014	0,012	7,1
	48	0,063	0,063	0,000	-	0,0
	72	0,095	0,095	0,000	-	0,0
	96	0,095	0,095	0,000	-	0,0
	120	0,095	0,095	0,000	-	0,0
	144	0,095	0,095	0,000	-	0,0
	168	0,095	0,095	0,000	-	0,0

Таблица 4 – Определение влияния обработки УЗ на выход полифенолов (однофакторный ANOVA тест)

Extraction time, h	Source	DF	Sum of Square	Mean Square	F	P-value	F crit, $\alpha=0,05$	Significant?
24	Between groups	3	0,01172	0,003906	26,2	0,000002049	3,2	Yes
	Within groups	16	0,002383	0,000149				
	Total	19	0,0141	0,000742				
48	Between groups	3	0,000149	4,97E-05	0,1	0,9484	3,2	No
	Within groups	16	0,006752	0,000422				
	Total	19	0,006901	0,000363				
72	Between groups	3	0,00278	0,000927	4,7	0,01583	3,2	Yes
	Within groups	16	0,003177	0,000199				
	Total	19	0,005957	0,000314				
96	Between groups	3	0,01609	0,005362	24	0,00000365	3,2	Yes
	Within groups	16	0,003575	0,000223				
	Total	19	0,01966	0,001035				
120	Between groups	3	0,02264	0,007546	50,7	2.162e-8	3,2	Yes
	Within groups	16	0,002383	0,000149				
	Total	19	0,02502	0,001317				
144	Between groups	3	0,02795	0,009317	187,7	1.121e-12	3,2	Yes
	Within groups	16	0,000794	4,97E-05				
	Total	19	0,02874	0,001513				
168	Between groups	3	0,03416	0,01139	65,5	3.322e-9	3,2	Yes
	Within groups	16	0,00278	0,000174				
	Total	19	0,03694	0,001944				

Полифенолы в плодах зизифуса были также определены спектрофотометрическим методом в пересчете на галловую кислоту. Для расчета содержания полифенолов использовали градуировочный график (рисунок 2).

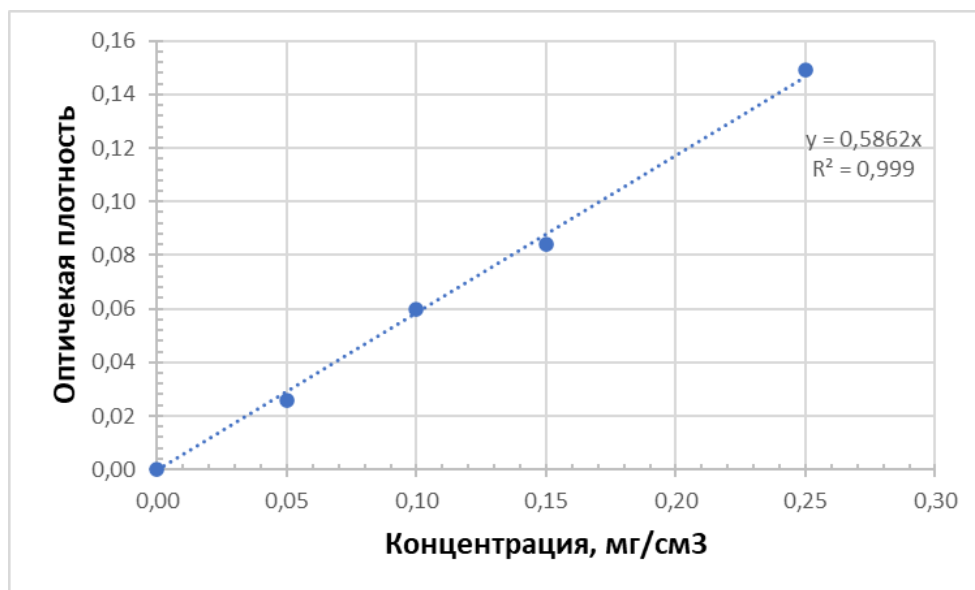


Рисунок 2 – Градуировочный график для определения полифенольных веществ по галловой кислоте

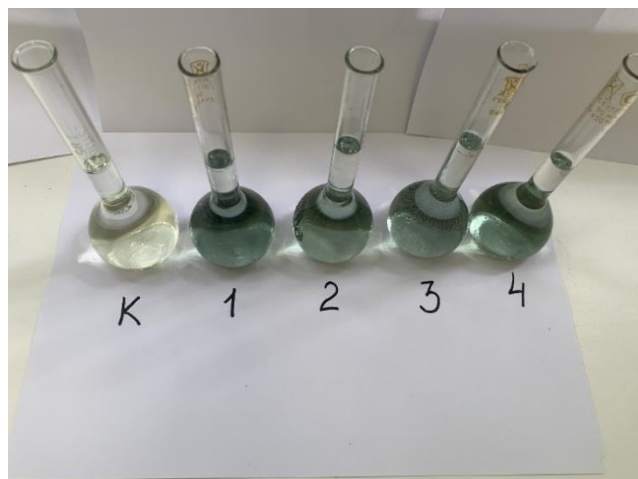
Экстракцию полифенолов проводили в течение 24 часов спиртовым раствором с обработкой УЗ и без нее. Учет результатов проводили путем измерения оптической плотности растворов (рисунок 3) при длине волны 765 нм используя спектрофотометр SHIMADZU UV-1280.

Содержание фенольных кислот в плодах зизифуса достигало 20 г/кг (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты количественного определения полифенолов в пересчете на галловую кислоту

Обработка УЗ, Вт	Содержание полифенолов, г/кг	Метрологические данные			
		$\bar{X}$	$S_{\bar{X}}$	$\Delta\bar{X}$, $\alpha=0,05$	ε , %
0	5,97	5,97	1,48	1,67	14,3
25	9,38	9,38	3,91	4,42	24,1
50	9,38	9,38	1,48	1,67	9,1
75	20,47	20,47	0,00	-	0,0

Результаты (рисунок 4) показали, что обработка УЗ увеличивала выход полифенольных веществ.



К – контроль, 1 – Проба без УЗ-обработки, 2 – УЗ-обработка с мощностью 25 Вт, 3 – УЗ-обработка с мощностью 50 Вт, 4 – УЗ-обработка с мощностью 75 Вт.

Рисунок 3 – Образцы экстрактов полифенольных веществ после обработки реактивом Фолина – Чокальтеу

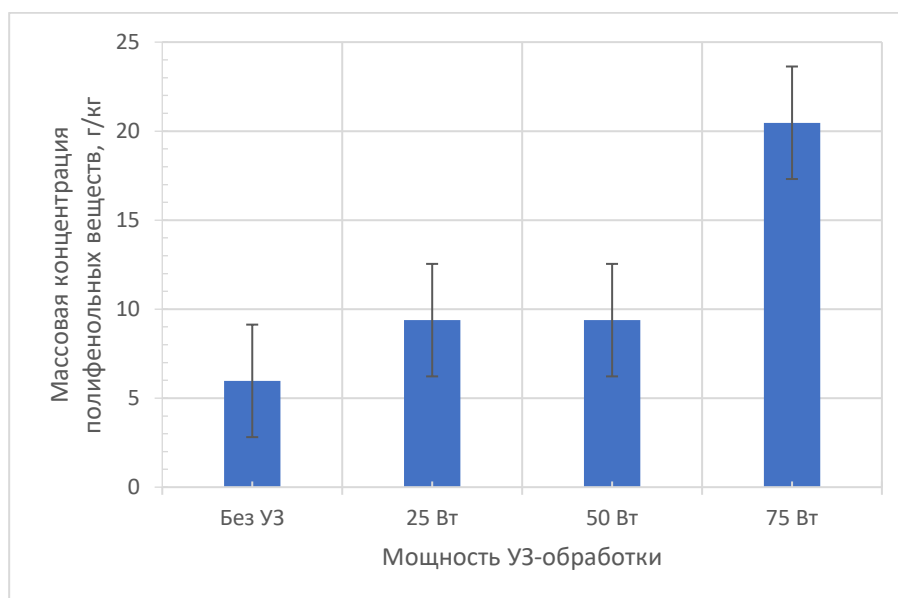


Рисунок 4 - Содержание полифенолов в плодах *Ziziphus jujuba* Mill в пересчёте на галловую кислоту

Таким образом, при экстрагировании полифенолов спиртовыми растворами методом мацерации в течение 24 часа дополнительная обработка УЗ приводит к увеличению выхода полифенолов. Максимальный выход полифенолов через 24 часа отмечен при обработке УЗ мощностью 75 Вт. При пересчете на дубильные вещества выход составил 0,88, тогда как при пересчете на галловую кислоту – 20,47 г/кг.

Результаты анализа подтверждают значимость полифенолов как биоактивных соединений с высоким потенциалом для применения в медицине и пищевой промышленности. Антиоксидантная активность полифенолов способствует защите клеток от повреждений, вызванных свободными радикалами, что играет важную роль в профилактике хронических заболеваний. Применение различных методов анализа, таких как ВЭЖХ и спектрофотометрия, обеспечивает точное определение и идентификацию полифенольных соединений, что важно для стандартизации функциональных продуктов на их основе.

Заключение

Установлено содержание полифенолов в мякоти плодов зизифуса настоящего сорта «Конфетный». Выход полифенольных соединений зависит от метода экстрагирования. Обработка образцов УЗ обеспечивает увеличение выхода при экстрагировании в течение 24 часа как минимум в 3 раза. Содержание полифенолов в экстрактах через 24 часа в пересчете на дубильные вещества составило $0,25 \pm 0,12$ без УЗ-обработки и $0,88 \pm 0,12$ г/кг при обработке ультразвуком 75 Вт; в пересчете на галловую кислоту, соответственно $5,97 \pm 1,67$ и $20,47 \pm 0,00$ г/кг.

Результаты изучения процесса экстрагирования полифенольных веществ из плодов *Ziziphus jujuba* Mill методом мацерации показали, что УЗ-обработка влияет на выход полифенольных соединений в экстракты. Максимальное содержание полифенолов в экстрактах достигается на 3 сутки.

Полифенолы представляют собой важный класс биоактивных соединений с антиоксидантной, противовоспалительной и антимикробной активностью. Применение современных методов анализа позволяет эффективно определять их содержание и активность, что открывает перспективы для создания функциональных продуктов питания и фармацевтических препаратов на основе полифенолов.

Литература

1. Блинникова О. М., Елисеева Л. Г. Ягоды жимолости-ценное сырье для функциональных пищевых продуктов // Вопросы питания. – 2016. – Т. 85. – №. S2. – С. 182-182.
2. Будников Г.К., Зиятдинова Г.К. Антиоксиданты как объекты биоаналитической химии // Журнал аналитической химии. – 2005. – Т. 60, № 7. – С. 678 – 691.
3. ГОСТ 24027.2–80. Сырье лекарственное растительное. Методы определения влажности, содержания золы, экстрактивных и дубильных веществ, эфирного масла. – Введен 01.01.1981. – М.: Изд-во стандартов, 1981. – 10 с.
4. ГОСТ Р 55488–2013. Прополис. Метод определения полифенолов. - Введен 2015-01-01. – М.: Стандартинформ, 2020. – 9 с.
5. Иванкин А.Н., Неклюдов А.Д., Бердутина А.В. Об экологической безопасности пищевых продуктов // Экологические системы и приборы. – 2001. – № 8. – С. 39 –44.
6. Муромцева Г. А. и др. Распространенность факторов риска неинфекционных заболеваний в российской популяции в 2012-2013гг. Результаты исследования ЭССЕ-РФ // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2014. – Т. 13. – №. 6. – С. 4-11.
7. Фильчакова Н.Н., Фильчакова С.А., Тамбовцев Ю.Н. Проблемы безопасности пищевых продуктов // Экологические системы и приборы. – 2001. – № 8. – С. 37 – 39.
8. Энциклопедия питания. Том 5. Биологически активные добавки: справочное издание / Е. В. Новикова, Е. С. Балабай, А. А. Берестовая [и др.]; под общ. ред. А. И. Черевко, В. М. Михайлов, Р. Ю. Павлюк. – Москва: КноРус, 2022. – 380 с. – ISBN 978-5-406-10221-3. – URL: <https://book.ru/book/944715>. Дата обращения: 21.05.2023.
9. Яшин А.Я. Инжекционно-проточная система с амперометрическим детектором для селективного определения антиоксидантов в пищевых продуктах и напитках // Российский химический журнал. – 2008. – Т. LII, № 2. – С. 130 – 135.
10. Díaz G., Lengele L., Sourdet S., Soriano G., de Souto Barreto P. Nutrients and amyloid β status in the brain: A narrative review. // Ageing research reviews. – 2022. – Vol. 81. – P. 101728. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101728>
11. Duthie S. J., Duthie G. G., Russell W. R., Kyle J. A. M., Macdiarmid J. I., Rungapamestry V., Stephen S., Megias-Baeza C., Kaniewska J. J., Shaw L., Milne L., Bremner D., Ross K., Morrice P., Pirie L. P., Horgan G., Bestwick C. S. Effect of increasing fruit and vegetable intake by dietary intervention on nutritional biomarkers and attitudes to dietary change: a randomised trial. // European journal of nutrition. – 2018. – Vol. 57(5). – P. 1855–1872. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1469-0>

12. Guasch-Ferré M., Merino J., Sun Q., Fitó M., Salas-Salvadó J. Dietary Polyphenols, Mediterranean Diet, Prediabetes, and Type 2 Diabetes: A Narrative Review of the Evidence. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2017. – Article ID 6723931. <https://doi.org/10.1155/2017/6723931>
13. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2004. – Vol. 79. – P. 727-747.
14. Nicholson S.K., Tucker G.A., Brameld J.M. Effects of dietary polyphenols on gene expression in human vascular endothelial cells. // *Proc Nutr Soc.* – 2008. – Vol. 67(1). – P. 42-47. doi: 10.1017/S0029665108006009.
15. Pallazola V. A., Davis D. M., Whelton S. P., Cardoso R., Latina J. M., Michos E. D., Sarkar S., Blumenthal R. S., Arnett D. K., Stone N. J., Welty F. K. A Clinician's Guide to Healthy Eating for Cardiovascular Disease Prevention. Mayo Clinic proceedings. // *Innovations, quality & outcomes*. – 2019. – Vol. 3(3). – P. 251–267. <https://doi.org/10.1016/j.mayocpiqo.2019.05.001>
16. Pandey K.B., Rizvi S.I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. // *Oxid Med Cell Longev.* – 2009. – Vol. 2(5). – P. 270-278. doi: 10.4161/oxim.2.5.9498.
17. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? // *Free Radic Biol Med.* – 2010. – Vol. 49(11). – P.1603-1616. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006.
18. Roginsky V., Lissi E.A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food // *Food Chemistry*. – 2005. – Vol. 92. – P. 235 – 254.
19. Sreeramulu D., Reddy C. V., Chauhan A., Balakrishna N., Raghunath M. Natural antioxidant activity of commonly consumed plant foods in India: effect of domestic processing. // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2013. – P. 369479. <https://doi.org/10.1155/2013/369479>
20. Szareszunowicz I., Kłobukowski, J. Characteristics of Potential Protein Nutraceuticals of Plant Origin with Antioxidant Activity. // *Molecules* (Basel, Switzerland). – 2020. – Vol. – 25(7). – P. 1621. <https://doi.org/10.3390/molecules25071621>
21. Xavier A. A., Pérez-Gálvez A. Carotenoids as a Source of Antioxidants in the Diet. // *Sub-cellular biochemistry*. – 2016. – Vol. 79. – P. 359–375. https://doi.org/10.1007/978-3-319-39126-7_14

References

1. Blinnikova, O. M., & Eliseeva, L. G. (2016). Honeysuckle berries as valuable raw materials for functional food products. *Voprosy Pitaniia*, 85(S2), 182-182.
2. Budnikov, G. K., & Ziyatdinova, G. K. (2005). Antioxidants as objects of bioanalytical chemistry. *Journal of Analytical Chemistry*, 60(7), 678-691.
3. GOST 24027.2–80. (1981). Raw medicinal plant materials. Methods for determining moisture, ash content, extractive, tannins, and essential oil. Moscow: Publishing House of Standards.
4. GOST R 55488–2013. (2020). Propolis. Method for determining polyphenols. Moscow: Standartinform.
5. Ivankin, A. N., Neklyudov, A. D., & Berdutina, A. V. (2001). On environmental safety of food products. *Ecological Systems and Devices*, (8), 39-44.
6. Muromtseva, G. A., et al. (2014). Prevalence of risk factors for noncommunicable diseases in the Russian population in 2012-2013. *Cardiovascular Therapy and Prevention*, 13(6), 4-11.
7. Filchakova, N. N., Filchakova, S. A., & Tambovtsev, Y. N. (2001). Problems of food safety. *Ecological Systems and Devices*, (8), 37-39.
8. Novikova, E. V., Balabay, E. S., Berestovaya, A. A., et al. (2022). Encyclopedia of Nutrition. Volume 5. Dietary Supplements. Moscow: Knorus. URL: <https://book.ru/book/944715>. Accessed on: 21.05.2023.
9. Yashin, A. Y. (2008). Injection-flow system with amperometric detector for selective

determination of antioxidants in food products and beverages. *Russian Journal of Chemistry*, LII(2), 130-135.

10. Díaz, G., Lengele, L., Sourdet, S., Soriano, G., & de Souto Barreto, P. (2022). Nutrients and amyloid β status in the brain: A narrative review. *Ageing Research Reviews*, 81, 101728. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101728>

11. Duthie, S. J., Duthie, G. G., Russell, W. R., Kyle, J. A. M., Macdiarmid, J. I., Rungapamestry, V., Stephen, S., Megias-Baeza, C., Kaniewska, J. J., Shaw, L., Milne, L., Bremner, D., Ross, K., Morrice, P., Pirie, L. P., Horgan, G., & Bestwick, C. S. (2018). Effect of increasing fruit and vegetable intake by dietary intervention on nutritional biomarkers and attitudes to dietary change: A randomized trial. *European Journal of Nutrition*, 57(5), 1855–1872. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1469-0>

12. Guasch-Ferré, M., Merino, J., Sun, Q., Fitó, M., & Salas-Salvadó, J. (2017). Dietary polyphenols, Mediterranean diet, prediabetes, and type 2 diabetes: A narrative review of the evidence. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 6723931. <https://doi.org/10.1155/2017/6723931>

13. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727-747.

14. Nicholson, S. K., Tucker, G. A., & Brameld, J. M. (2008). Effects of dietary polyphenols on gene expression in human vascular endothelial cells. *Proceedings of the Nutrition Society*, 67(1), 42-47. <https://doi.org/10.1017/S0029665108006009>

15. Pallazola, V. A., Davis, D. M., Whelton, S. P., Cardoso, R., Latina, J. M., Michos, E. D., Sarkar, S., Blumenthal, R. S., Arnett, D. K., Stone, N. J., & Welty, F. K. (2019). A clinician's guide to healthy eating for cardiovascular disease prevention. *Mayo Clinic Proceedings: Innovations, Quality & Outcomes*, 3(3), 251–267. <https://doi.org/10.1016/j.mayocpiqo.2019.05.001>

16. Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270-278. <https://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9498>

17. Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*, 49(11), 1603-1616. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>

18. Roginsky, V., & Lissi, E. A. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92, 235-254.

19. Sreeramulu, D., Reddy, C. V., Chauhan, A., Balakrishna, N., & Raghunath, M. (2013). Natural antioxidant activity of commonly consumed plant foods in India: effect of domestic processing. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 369479. <https://doi.org/10.1155/2013/369479>

20. Szerszunowicz, I., & Kłobukowski, J. (2020). Characteristics of potential protein nutraceuticals of plant origin with antioxidant activity. *Molecules*, 25(7), 1621. <https://doi.org/10.3390/molecules25071621>

21. Xavier, A. A., & Pérez-Gálvez, A. (2016). Carotenoids as a source of antioxidants in the diet. *Sub-cellular Biochemistry*, 79, 359-375. https://doi.org/10.1007/978-3-319-39126-7_14

ПОЛИФЕНОЛДАР: ҚҰРЫЛЫМЫ, БИОЛОГИЯЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІГІ ЖӘНЕ ТАЛДАУ ӘДІСТЕРІ

Е.В. Фокина 

Ұлы Петр Санкт-Петербург политехникалық университеті,
Биомедициналық жүйелер және биотехнологиялар институты,
Биотехнология және тамақ өндірісі жоғары мектебі,
Санкт-Петербург қ., Ресей
elizabeth_fox@mail.ru

Аннотация. Мақалада полифенолды қосылыстар, олардың құрылымы мен биологиялық белсенділігі, сондай-ақ жаңа селекциялық «Кэмпитті» сортының *Zyzyphus jujuba* Mill жемістеріндегі полифенолдарды талдаудың заманауи әдістері қарастырылған. Полифенолдар антиоксиданттық, қабынуға қарсы және микробқа қарсы белсенділікке ие, бұл оларды тамақ және медицина өнеркәсібінде қолдануға перспективалы етеді. Полифенолдарды сапалық және сандық талдау үшін қолданылатын спектрофотометрия, хроматография және электрохимиялық әдістер сияқты талдау тәсілдеріне шолу жасалған. Ұсынылған нәтижелер бұл қосылыстардың адам денсаулығы үшін маңыздылығын және функционалды тағамдар мен фармацевтикалық препараттарды жасау әлеуетін атап көрсетеді.

Түйін сөздер: полифенолдар; антиоксиданттар; биологиялық белсенділік; хроматография; спектрофотометрия; өсімдік шикізаты; талдау әдістері.

POLYPHENOLS: STRUCTURE, BIOLOGICAL ACTIVITY, AND ANALYTICAL METHODS

Y.V. Fokina 

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University,
Institute of Biomedical Systems and Biotechnology,
Higher School of Biotechnology and Food Production, St. Petersburg, Russia
elizabeth_fox@mail.r

Abstract. This article examines polyphenolic compounds, their structure and biological activity, as well as modern methods for analyzing polyphenols in the fruits of a new cultivated variety of jujube *Zyzyphus jujuba* Mill called “Konfetny” (“Candy”). Polyphenols possess antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties, making them promising for use in the food and pharmaceutical industries. The article reviews analytical techniques such as spectrophotometry, chromatography, and electrochemical methods used for the qualitative and quantitative analysis of polyphenols. The presented findings highlight the importance of these compounds for human health and their potential in the development of functional foods and pharmaceutical products.

Keywords: polyphenols; antioxidants; biological activity; chromatography; spectrophotometry; plant raw materials; analytical methods.