

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛОРИДЗИНА В ЯБЛОНЕ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

С.В. Лепёшкина, Ю.Ф. Якуба

ФГБНУ Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, ул. им. 40-летия Победы, 39, Краснодар, Российская Федерация, 350901
E-mail: ckr346166@yandex.ru

Одним из характерных и основных веществ фенольного комплекса яблони является флоридзин. Для этого вещества обнаружен ряд терапевтических эффектов, что инициировало фармацевтические исследования. Существующие методики извлечения и определения флоридзина из яблони имеют ряд недостатков: использование токсичных реактивов, длительность, сочетание двух методов анализа. Поэтому предпринята попытка использования капиллярного электрофореза. В результате разработана методика количественного определения флоридзина методом капиллярного электрофореза с помощью ведущего электролита, содержащего 3 г/дм³ имидазола, 3 г/дм³ тетрабората натрия десятиводного, 0,2 г/дм³ сульфата натрия при положительной полярности напряжения 16 кВ и длине волны детектирования 254 нм. В составе стабильного во времени электролита использованы доступные и нетоксичные вещества, время выхода флоридзина составило $3,5 \pm 0,05$ мин, предел обнаружения – 0,5 мг/дм³, линейность сохранялась до 100 мг/дм³, градуировочная характеристика получена методом наименьших квадратов. В экспериментах с подготовкой к анализу биологического материала яблони применяли экстракционную методику: был изучен настой в 10% этиловом спирте и воздействие ультразвуковой ванны с 70% этиловым спиртом (методика сравнения). Яблочный сок, в отличие от известных подходов, анализировали без подготовки. При проверке правильности получаемых результатов получен высокий процент обнаружения добавки флоридзина в анализируемом объекте, составивший от ожидания 85,4–97%, что свидетельствует о надежности методики. Определено содержание флоридзина в побегах яблони сортов Айдаред, Фуджи, Корей – 11,3–22,7 мг/кг, в листьях – 44,8–55,9 мг/кг, в корнях 77,3–84,2 мг/кг, в яблочных соках – 2,9...3,7 мг/дм³.

Ключевые слова: дегидрохалкон, яблоня (Malus), анализ, электролит, методика

DETERMINATION OF FLORIDZINE IN AN APPLE TREE BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS

S.V. Lepeshkina, Yu.F. Yakuba

North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Winemaking, 40 years of Victory Street, 39, Krasnodar, 350901, Russia
E-mail: ckr346166@yandex.ru

One of the characteristic and basic substances of the phenolic complex of apple trees is floridzine. A number of therapeutic effects have been found for this substance, which initiated pharmaceutical research. Existing methods for the extraction and determination of floridzine from apple trees have a number of disadvantages: the use of toxic reagents, duration, and a combination of two methods of analysis. Therefore, an attempt has been made to use capillary electrophoresis. As a result, a technique has been developed for the quantitative determination of floridzine by capillary electrophoresis using a leading electrolyte containing 3 g/dm³ of imidazole, 3 g/dm³ of sodium tetraborate decahydrate, 0.2 g/dm³ of sodium sulfate with a positive voltage polarity of 16 kV and a detection wavelength of 254 nm. Available and non-toxic substances were used as part of a time-stable electrolyte, the floridzine retention time was 3.5 ± 0.05 minutes, the detection limit was 0.5 mg/dm³, linearity was maintained up to 100 mg/dm³, the calibration characteristic was obtained

by the least squares method. In experiments with preparation for the analysis of biological material of apple trees, an extraction technique was used: an infusion in 10% ethyl alcohol and the effect of an ultrasonic bath with 70% ethyl alcohol were studied (comparison method). Apple juice, unlike the known approaches, was analyzed without preparation. When checking the correctness of the results obtained, a high percentage of floridzine additive detection in the analyzed object was obtained, amounting to 85.4...97% from the expectation, which indicates the reliability of the technique. The content of floridzine in the shoots of apple varieties was found Idared, Fuji, Korea – 11.3–22.7 mg/kg, in leaves – 44.8–55.9 mg/kg, in roots 77.3–84.2 mg/kg, in apple juices – 2.9–3.7 mg/dm³.

Keywords: degidrohalkone, an apple (malus), analysis, electrolyte, method

Для цитирования:

Лепёшкина С.В., Якуба Ю.Ф. Определение флоридзина в яблоне методом капиллярного электрофореза. *Рос. хим. ж.* (Ж. Рос. хим. об-ва). 2025. Т. LXIX. № 2. С. 66–73. DOI: 10.6060/rcj.2025692.8.

For citation:

Lepeshkina S.V., Yakuba Yu.F. Determination of floridzine in an apple tree by capillary electrophoresis. *Ros. Khim. Zh.* 2025. V. 69. N 2. P. 66–73. DOI: 10.6060/rcj.2025692.8.

ВВЕДЕНИЕ

Флоридзин – это фитохимическое вещество, относящееся к классу полифенолов, играет важную роль в физиологии яблони [1]. Его содержание соотносят с морозоустойчивостью, учитывая количественные взаимосвязи с суммарным содержанием фенольных веществ, хлорогеновой кислоты, катионов щелочноземельных металлов. Флоридзин содержится преимущественно в незрелых плодах, древесине и коре, присутствует в корневой системе яблони [2]. В тоже время груша, вишня и другие представители семейства Розоцветные его не содержат [3]. Следовые количества были обнаружены в плодах земляники садовой [4]. Высокое накопление флоридзина в вегетативных органах яблони и частично в ее плодах – уникальное явление для растительного мира. Физиологическое значение флоридзина неоднозначно – он необходим для развития хлоропластов и фотосинтеза, принимает участие в ассимиляции азота через аммоний [5], но при выделении в почву ингибирует рост молодых корней. В целом листья, кора, побеги, корни яблони содержат целый ряд фенольных соединений, которые могут придавать ей устойчивость против парши, а, как известно, именно полифенолы имеют непосредственное отношение к обеспечению устойчивости растений яблони против парши [6]. В связи с этим предпринята попытка изучения пути биосинтеза флоридзина в структуре яблони [7]. Флоридзин обладает антидиабетической активностью, что делает его потенциальным функциональным компонентом в фармацевтиче-

ских препаратах [8, 9]. Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что флоридзин имеет и нейропротекторное действие [10]. Ввиду этого существует интерес к получению чистого вещества. Для препаративного выделения и очистки флоридзина природного происхождения предпочтительно используют ВЭЖХ [11, 12]. Количественное определение ключевых дегидрохалконов флоридзина и флоретина проведено с помощью детектора диодная матрица, при этом предел определения флоридзина, составил 40 нг/мл экстракта из древесины, корней или плодов яблони. Концентрации флоридзина в древесине и листьях яблони составили 12–13 мг/100 г объекта, что оказалось в 90 раз выше, чем для сока из яблок [13]. Авторами впервые была выполнена оптимизация процесса экстракции растительного сырья с помощью ультразвука и последующий анализ ВЭЖХ-МС. Выяснено процентное содержание этанола в экстрагенте – 40% по объему, установлено лучшее соотношение растворитель / образец равное 4:1 и время экстракции – 35 мин, в результате которых достигали максимального извлечения суммарного количества фенольных соединений [14]. В результате анализа методом ВЭЖХ вытяжки покрытой поверхностью из листьев яблони сорта Аннигса определен большой выход флоридзина $126,89 \pm 7,58$ (мг/г), который определен при следующих оптимизированных условиях: метанол / вода в соотношении 80:20 с добавкой 1% муравьиной кислоты в качестве экстракционного растворителя; 37,7 °C в качестве температуры экстракции; и найденного оптимального времени 170 мин для завершения процесса экстракции [15]. Эта методика

предполагает использование и проблематичную утилизацию токсичного метанола, требует несколько часов для проведения экстракции, а для самого анализа методом ВЭЖХ – достаточно большие объемы высокочистых растворителей.

В другом исследовании определен состав и содержание фенольных соединений в случае применения этанола как экстрагента этих компонентов из листьев яблони. Причем суммарное содержание фенольных веществ определяли спектрофотометрическим методом, а компонентный состав (в основном флоридзин) – методом ВЭЖХ. Кроме флоридзина были идентифицированы и количественно определены гиперозид, изокверцитрин, авикулярин, рутин и кверцитрин [16]. Применение менее опасного этилового спирта позволило достичь стабильности при хранении подготовленных проб, но использование двух методов анализа сильно усложняет процедуру, для ВЭЖХ требуются высокочистые растворители. В результате определения компонентного состава гидролизного лигнина высоконадежными, но затратными методами ВЭЖХ-МС и ГХ-МС (с дериватизацией проб) выявлено около 70 компонентов фенольной природы [17].

Флоридзин в тканях растений определяли спектрофотометрически после экстракции его водным раствором этанола, внесением основного ацетата свинца (II) и затем серной кислоты 10%-ной концентрации [18]. Применена сложная процедура подготовки пробы с использованием ядовитых солей свинца, серной кислоты, в ходе которой не исключены потери искомого вещества; из-за низкой селективности спектрофотометрической методики не учитывается влияние других фенольных веществ на количественный результат. Для изучения влияния добавок некоторых фенольных веществ и их комплексов с производным циклодекстрина на температуру денатурации человеческого сывороточного альбумина (HSA) в водно-диметилсульфоксидных растворах использован метод нанодифференциальной сканирующей флуориметрии и системы экспресс-анализа качества белков NanoTemper Tycho NT.6. Результаты изменения интенсивности флуоресценции находились в зависимости от концентрации фенольных веществ [19].

Качественный анализ извлечений из листьев и плодов яблони лесной, проводили методом тонкослойной хроматографии, количественный анализ – методом ВЭЖХ (в течение 70 мин) с использованием подвижной фазы метанол-вода-кислота фосфорная [20]. Использование двух методов анализа усложняет процедуру получения конечного результата, для методики ВЭЖХ требуется

токсичный метанол, а длительность определения превышает 1 ч. Авторами отмечено, что при проведении пробоподготовки, в частности при определении остаточных количеств пестицидов в объектах окружающей среды, биологических материалах, сочетание дисперсионной твердофазной и жидкостно-жидкостной микроэкстракции наиболее перспективно и максимально удовлетворяет требованиям концепции «зеленой химии» [21].

Цель исследования – разработка экспресс-методики количественного определения флоридзина в биологическом материале яблони с применением минимально возможных стадий подготовки пробы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовали биологический материал древесины, корней, листьев и плодов распространенных сортов яблони Айдаред, Фуджи, Корей, произрастающих в Краснодарском крае, центральная зона садоводства, ОПХ «Центральное», в 2022 г.

Для выполнения работы использовали аналитические весы 2-го класса точности Adventurer AR 2140, центрифугу типа Eppendorf, обеспечивающую 6000 об/мин, рН-метр «Эксперт-001», ультразвуковую ванну Sonorex Digital, термостат ТС-80, вспомогательное оборудование для измельчения твердых фрагментов и плодов, систему капиллярного электрофореза с источником питания положительной полярности серии «Капель», оборудованную фотометрическим детектором с установленной длиной волны 254 нм, кварцевым капилляром внутренним диаметром 75 мкм, эффективной длиной 0,5 м; положительное напряжение на капилляре 16 кВ; при рекомендованном термостатировании кассеты с капилляром при +25 °С для достижения стабильных аналитических результатов. Градуировочные характеристики для флоридзина подсчитывали методом наименьших квадратов, используя программное обеспечение прибора. Все работы выполнены на оборудовании ЦКП «Приборно-аналитический». Для выяснения оптимальных условий определения флоридзина использовали следующие реактивы квалификации химически чистый в составе электролита: бензимидазол, имидазол, тетраборат натрия десятиводный, борная кислота, сульфат калия и сульфат натрия безводный (поставщик АО Вектон, РФ), спирт этиловый квалификации «Экстра», флоридзин (Fluka).

Для варианта анализа с прямым детектированием флоридзина применен электролит, состоящий из борной кислоты концентрацией от 0,2 до

1,5% и тетрабората натрия десятиводного концентрацией от 0,1 до 0,5%.

Для непрямого детектирования флоридзина применен электролит, состоящий из бензимидазола концентрацией от 0,2 до 0,6%, тетрабората натрия десятиводного концентрацией от 0,1 до 0,6% и сульфата калия концентрацией от 0,01 до 0,05%.

Для непрямого детектирования флоридзина исследованы свойства электролита, содержащего в своем составе умеренно оптически активное вещество – имидазол в концентрациях 0,1–0,5% и корректоры электропроводимости – тетраборат натрия десятиводный в концентрациях 0,1–0,5%, сульфаты натрия и калия (концентрации 0,01–0,1%).

В экспериментах с реальными образцами было рассмотрено несколько подходов подготовки и получения экстрактов, пригодных для разработанных условий анализа. Взяты на испытания вегетативные части яблони – побеги, корни, листья – подсушивали до воздушно-сухого состояния в естественных условиях без попадания прямого солнечного света и подвергали экстракции, яблочный сок разбавляли дистиллированной водой.

Первый вариант экстракции твердого сырья. Измельченные в порошок листья, побеги, корни яблони в количестве 1,00 г помещали в пробирки из полимерного материала с закручивающимися крышками, вносили 10 см³ растворителя – 10%-ного этилового спирта. Настаивание осуществляли при периодическом помешивании при комнатной температуре в течение 24 ч. Затем содержимое пробирки фильтровали через бумажный фильтр и перед подачей в прибор центрифугировали в течение 10 мин при 6000 об/мин. Коэффициент разбавления учитывали в количественных расчетах.

Второй вариант экстракции твердого сырья. Измельченные в порошок листья, побеги, корни яблони в количестве 1,00 г помещали в пластиковые пробирки с закручивающимися крышками, добавляли 10 см³ 70%-ного этилового спирта помещали в ультразвуковую ванну Sonorex Digital и проводили процесс экстракции в течение 40 мин при 50 °С. Полученный экстракт фильтровали через мембранный фильтр и перед подачей в прибор центрифугировали в течение 10 мин при 6000 об/мин. Коэффициент разбавления учитывали в количественных расчетах. Результаты определения флоридзина в побегах яблони взятых для исследования сортов и оценка качества самой методики анализа получены способом «добавлено-найденно».

В качестве методики сравнения использовали спектрофотометрию согласно [18].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При выборе составляющих электролита учитывали то обстоятельство, что исследуемое вещество обладает оптической активностью в УФ-диапазоне, следовательно, можно провести прямое детектирование компонента. Распространенный электролит для прямого детектирования флоридзина, как вещества, содержащего непредельные связи (борная кислота – тетраборат натрия десятиводный) не обеспечил приемлемую чувствительность анализа – менее 5 мг/дм³ анализируемого вещества, хотя позволил получить линейность градуировочной характеристики вплоть до концентрации 500 мг/дм³ [22, 23]. При анализе реальных объектов – образцов сока из яблок, характеризующихся низкими концентрациями флоридзина (менее 5 мг/дм³), были получены неудовлетворительные результаты – оказалось невозможным выделить полезный сигнал аналита от фоновых флуктуаций (ограничение химическим строением анализируемого вещества). Поэтому следующий этап создания пригодного для анализа состава электролита состоял в применении поглощающих УФ-излучение компонентов – бензимидазола и имидазола, способных повысить чувствительность определения. По итогам предварительных экспериментов был подобран состав рабочего электролита и основные условия анализа для системы капиллярного электрофореза. Для анализа использовали водный ведущий электролит, который содержал 3 г/дм³ имидазола, 3 г/дм³ тетрабората натрия десятиводного, 0,2 г/дм³ сульфата натрия. Для реализации анализа на приборе капиллярного электрофореза применяли положительную полярность напряжения и длину волны детектирования – 254 нм, использовали ввод пробы пневматический – 30 мБар, в течение 5 с.

Оптимальное количество имидазола 3 г/дм³ в составе электролита для выполнения анализа обусловлено тем, что при более высокой концентрации наблюдали искажение разделения компонентов реальной пробы и количественный анализ становился невозможным, а менее – снижало чувствительность детектирования (до 5–8 мг/дм³).

Выбранная концентрация тетрабората натрия десятиводного (3 г/дм³) обусловлена тем, что при более высокой концентрации существенно увеличивается в 2 и более раз продолжительность анализа, а при меньшей концентрации не обеспечивается разделение компонентов пробы и достоверное

определение массовой концентрации флоридзина, коэффициент корреляции градуировки становится менее 0,900.

Сульфат натрия в концентрации 0,2 г/дм³ использован для коррекции проводимости электролита. Пробы экстрактов из биологического материала яблони и градуировочные растворы флоридзина дозировали в прибор не менее двух раз и регистрировали электрофореграммы. Условия регистрации электрофореграмм проб экстрактов соответствовали условиям регистрации электрофореграмм градуировочных растворов флоридзина. Пример электрофореграммы градуировочного раствора флоридзина показан на рис.



Рис. Электрофореграмма градуировочного раствора флоридзина, концентрация 10 мг/дм³
Fig. Electrophoregram of floridzine calibration solution, concentration 10 mg/dm³

Анализ выполнен на системе капиллярного электрофореза при положительном напряжении 16кВ, установленной длине волны детектирования – 254 нм, использовании пневматического ввода пробы при 30 мБар, в течение 5 с. Линейная зависимость фотометрического сигнала детектора от концентрации флоридзина, наблюдаемая в интер-

вале концентраций 0,5-100 мг/дм³, была аппроксимирована линейным уравнением с помощью метода наименьших квадратов согласно программного обеспечения ПК:

$$Y=1,18341 X,$$

где Y – отклик, X – концентрация вещества, мг/дм³

Критерием приемлемости является коэффициент корреляции, который составил 0,99987, что свидетельствует о возможности описания данных прямой. Время выхода (удерживания) флоридзина составляет около 3,5±0,05 мин, а низкий уровень шумов базовой линии способен обеспечить высокую чувствительность определения. Экстракты из твердых частей яблони, полученные с использованием настоя в 10%-ном этиловом спирте, 70%-ного этилового спирта и ультразвуковой ванны (в качестве процедуры сравнения), разбавленный яблочный сок без пробоподготовки были проанализированы на системе капиллярного электрофореза. Сравнительный анализ данных показал, что выполнение экстракции с помощью ультразвуковой ванны хотя и является экспрессным приемом, но для одних и тех же образцов дает заниженные на 15–30% результаты, что возможно связано с частичной деградацией флоридзина. Поэтому последующие результаты для твердых частей яблони были получены с применением первого варианта экстракции 10%-ным этиловым спиртом, без использования ультразвуковой ванны. Выполненный анализ показал применимость разработанной методики для определения флоридзина в вегетативных органах яблони и яблочном соке. Проверка правильности результатов, которая выражалась в высоком проценте обнаружения добавки флоридзина в анализируемом объекте и составила 85,4–97% (табл.), что подтвердило отсутствие потери компонента в процессе анализа (получено увеличение концентрации) и свидетельствовало о правильной идентификации аналита.

Таблица

Результаты определения массовой концентрации флоридзина в побегах яблони, мг/кг твердого вещества, разбавление пробы пятикратное, P=0,95

Table. Determination results of the floridzine mass concentration in apple shoots, mg/kg of solid, five-fold dilution of the sample, P=0.95

Сорт	Обнаруженная концентрация флоридзина	Добавлено флоридзина	Найдено флоридзина	% обнаружения добавки
Айдаред	17,6	17,0	34,1	97
Фуджи	11,3	11,0	20,7	85,4
Корей	22,7	22,0	44,0	96,8

Найденное содержание флоридзина в яблочном соке не противоречит известным данным и таким образом подтверждает отсутствие влияния на результат значительного содержания в яблочном соке органических кислот, углеводов, пектина, катионов калия и т.д. В экстрактах из листьев и корней флоридзина обнаружено в 15-20 раз больше, чем в яблочном соке. Время анализа экстрактов из вегетативных частей яблони или сока составило 5 мин, стабильность показаний прибора на одной порции электролита сохранялась в течение 12 измерений, далее требовалась замена электролита новой порцией. Предел обнаружения флоридзина составил 0,5 мг/дм³. В условиях, обозначенных методикой, выполнено определение флоридзина в листьях яблони сортов Айдаред, Фуджи, Корей ($P=0,95$) – 44,8; 55,9; 54,2 мг/кг, корнях ($P=0,95$) – 84,2; 77,3; 82,4 мг/кг и в яблочных соках из сортов яблони Айдаред, Фуджи, Корей, соответственно, 3,7; 2,9; 3,4 мг/дм³.

Разработанная методика с применением системы капиллярного электрофореза обеспечивает проведение экспрессного и корректного анализа. Оперативность методики заключается в минимальных требованиях к подготовке пробы: необходимо выполнить процесс экстракции, разбавить пробу сока или экстракт в несколько раз дистиллированной водой и провести центрифугирование при 6000 об/мин в течение 10 мин. Спектрофотометрическая методика требовала несколько часов для выполнения анализа и ежедневного обновления градуировочной характеристики, иначе получали невоспроизводимые результаты с абсолютной ошибкой более 50%. Результаты, полученные двумя спо-

собами, отличались не более чем на 25% при уровне концентраций до 10 мг/дм³.

ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований разработана эффективная методика, обеспечивающая экспрессность (требуется 5 мин для выполнения анализа) и достоверность количественного определения флоридзина методом капиллярного электрофореза. Для выполнения анализа предложен состав электролита с применением нетоксичных и доступных реактивов. Проверены 2 варианта подготовки твердой пробы к анализу. При подготовке образцов биологического материала яблони не применяют сложные операции по дополнительной очистке экстрактов или яблочного сока перед выполнением анализа. Установлен предел обнаружения флоридзина – 0,5 мг/дм³, линейность градуировочной характеристики сохранялась до 100 мг/дм³, коэффициент корреляции составил 0,99987, что свидетельствует о возможности описания данных прямой. Получены данные по содержанию флоридзина в вегетативных частях яблони и соке сортов Айдаред, Фуджи, Корей. Получаемые данные могут быть использованы в совокупности с другими физиологическими показателями для оценки состояния плодовых деревьев яблони, ее корневой системы или для углубленной характеристики яблочного сока.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

The authors declare the absence of a conflict of interest warranting disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gutierrez B.L., Arro J., Zhong G.Y., Brown S.K. Linkage and association analysis of dihydrochalcones phloridzin, sieboldin, and trilobatin in *Malus*. *Tree Genet. Genomes*. 2018. V. 14. Article 91. DOI: 10.1007/s11295-018-1304-7.
2. Makarova E., Górnaś P., Konrade I., Tirez D., Cirule H., Gulbe A., Pugajeva I. Acute anti-hyperglycaemic effects of an unripe apple preparation containing phlorizin in healthy volunteers: A preliminary study. *JSFA*. 2015. V. 95. P. 560–568. DOI: 10.1002/jsfa.6779. PMID 24917557.
3. Hilt P., Schieber A., Yildirim C., Klaiber I., Conrad J., Beifuss U., Arnold G., Iris K., Jürgen C., Beifuss U., Carle R. Phloridzin: Biosynthesis, distribution and physiological relevance in plants. *Phytochemistry*. 2010. V. 71. P. 838–843. DOI: 10.1016/j.phytochem.2010.03.003. PMID 20356611.
4. Hilt P., Schieber A., Yildirim C., et al. Detection of phloridzin in strawberries (*Fragaria × ananassa* Duch.) by HPLC–PDA–MS/MS and NMR spectroscopy. *JAFS*. 2003. V. 51. P. 2896–2899. DOI: 10.1021/jf021115k. PMID 12720368.

REFERENCES

1. Gutierrez B.L., Arro J., Zhong G.Y., Brown S.K. Linkage and association analysis of dihydrochalcones phloridzin, sieboldin, and trilobatin in *Malus*. *Tree Genet. Genomes*. 2018. V. 14. Article 91. DOI: 10.1007/s11295-018-1304-7.
2. Makarova E., Górnaś P., Konrade I., Tirez D., Cirule H., Gulbe A., Pugajeva I. Acute anti-hyperglycaemic effects of an unripe apple preparation containing phlorizin in healthy volunteers: A preliminary study. *JSFA*. 2015. V. 95. P. 560–568. DOI: 10.1002/jsfa.6779. PMID 24917557.
3. Hilt P., Schieber A., Yildirim C., Klaiber I., Conrad J., Beifuss U., Arnold G., Iris K., Jürgen C., Beifuss U., Carle R. Phloridzin: Biosynthesis, distribution and physiological relevance in plants. *Phytochemistry*. 2010. V. 71. P. 838–843. DOI: 10.1016/j.phytochem.2010.03.003. PMID 20356611.
4. Hilt P., Schieber A., Yildirim C., et al. Detection of phloridzin in strawberries (*Fragaria × ananassa* Duch.) by HPLC–PDA–MS/MS and NMR spectroscopy. *JAFS*. 2003. V. 51. P. 2896–2899. DOI: 10.1021/jf021115k. PMID 12720368.

5. Zhou K., Hu L., Yue H. MdUGT88F1-mediated phloridzin biosynthesis coordinates carbon and nitrogen accumulation in apple. *J. Exp. Bot.* 2022. V. 73. P. 886–902. DOI: 10.1093/jxb/erab410/6364879.
6. Mansoor S., Sharma V., Mir M.A., Mir J.I., un Nabi S., Ahmed N., Alkahtani J., Alwahibi M.S., Masoodi K.Z. Quantification of polyphenolic compounds and relative gene expression studies of phenylpropanoid pathway in apple (*Malus domestica* Borkh) in response to *Venturia inaequalis* infection. *Saudi J. Biol. S.* 2020. V. 27. P. 3397–3404. DOI: 10.1016/j.sjbs.2020.09.007.
7. Gosch Ch., Halbwirth H., Kuhn J., Miosic S., Stich K. Biosynthesis of phloridzin in apple (*Malus domestica* Borkh.). *Plant Sci.* 2009. V. 176. P. 223–231. DOI: 10.1016/j.plantsci.2008.10.011.
8. Eichenberger M., Lehka D.J., Folly C., et al. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for de novo production of dihydrochalcones with known antioxidant, antidiabetic, and sweet tasting properties. *Metab. Eng.* 2017. V. 39. P. 80–89. DOI: 10.1016/j.ymben.2016.10.019.
9. Mutha R.E., Tatiya A.U., Surana S.J. Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: an overview. *Future J. Pharm. Sci.* 2021. V. 7. N 1. P. 25. DOI: 10/1186/s43094-020-00161-8.
10. Zhou K., Hu L., Liu B., Li Y., Gong X., Ma F. Identification of apple fruits rich in health-promoting dihydrochalcones by comparative assessment of cultivated and wild accessions. *Sci. Hortic.* 2018. V. 233. P. 38–46. DOI: 10.1016/j.scienta.2018.01.042.
11. Muceniece R., Namniece J., Nakurte I., Jekabsons K., Riekstina U., Jansone B. Pharmacological research on natural substances in Latvia: Focus on lunasin, betulin, polyprenol and phlorizin. *Pharmacol. Res.* 2016. V. 113. P. 760–770. DOI: 10.1016/j.phrs.2016.03.040.
12. Tian L., Cao J., Zhao T., Liu Y., Khan A., Cheng G. The bioavailability, extraction, biosynthesis and distribution of natural dihydrochalcone: phloridzin. *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. Article 962. DOI: 10.3390/ijms22020962.
13. Dixit Sh., Maurya P., Srivastava M., Shanker K., Bawankule D.U., Gupta M.M., Kumar Rai L. Quantitation of dietary dihydrochalcones in Indian crabapple (*Malus sikimensis*) using validated high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. Sci.* 2019. V. 57. P. 679–687. DOI: 10.1093/chromsci/bmz040.
14. Martín-García B., Aznar-Ramos M.J., Verardo V., Gómez-Caravaca A.M. The establishment of ultrasonic-assisted extraction for the recovery of phenolic compounds and evaluation of their antioxidant activity from *morus alba* leaves. *Foods.* 2022. V. 11. N 314. DOI: 10.3390/foods11030314.
15. Maisto M., Piccolo V., Novellino E., Schiano E., Iannuzzo F., Ciampaglia R., Summa V., Tenore G.C. Optimization of phlorizin extraction from Annurca apple tree leaves using response surface methodology. *Antioxidants.* 2022. V. 11. Article 1933. DOI: 10.3390/antiox11101933.
16. Liaudanskas M., Viskelis P., Raudonis R., Kviklis D., Uselis N., Janulis V. Phenolic composition and antioxidant activity of *malus domestica* leaves. *Sci. World J.* 2014. V. 11. P. 155. DOI: 10.1155/2014/306217.
17. Быков В.Н., Федорос Е.И., Романенко С.Н., Филин К.Н., Пигарев С.Е., Акашева А.О. Анализ качественного и количественного состава водорастворимого производного лигнина и экстракта кастореума как новых источников природных полифенолов. *Российский химический журнал.* 2024. Т. LXVIII. № 2. С. 13–20. DOI: 10.6060/RCJ.2024682.2.
5. Zhou K., Hu L., Yue H. MdUGT88F1-mediated phloridzin biosynthesis coordinates carbon and nitrogen accumulation in apple. *J. Exp. Bot.* 2022. V. 73. P. 886–902. DOI: 10.1093/jxb/erab410/6364879.
6. Mansoor S., Sharma V., Mir M.A., Mir J.I., un Nabi S., Ahmed N., Alkahtani J., Alwahibi M.S., Masoodi K.Z. Quantification of polyphenolic compounds and relative gene expression studies of phenylpropanoid pathway in apple (*Malus domestica* Borkh) in response to *Venturia inaequalis* infection. *Saudi J. Biol. S.* 2020. V. 27. P. 3397–3404. DOI: 10.1016/j.sjbs.2020.09.007.
7. Gosch Ch., Halbwirth H., Kuhn J., Miosic S., Stich K. Biosynthesis of phloridzin in apple (*Malus domestica* Borkh.). *Plant Sci.* 2009. V. 176. P. 223–231. DOI: 10.1016/j.plantsci.2008.10.011.
8. Eichenberger M., Lehka D.J., Folly C., et al. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for de novo production of dihydrochalcones with known antioxidant, antidiabetic, and sweet tasting properties. *Metab. Eng.* 2017. V. 39. P. 80–89. DOI: 10.1016/j.ymben.2016.10.019.
9. Mutha R.E., Tatiya A.U., Surana S.J. Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: an overview. *Future J. Pharm. Sci.* 2021. V. 7. N 1. P. 25. DOI: 10/1186/s43094-020-00161-8.
10. Zhou K., Hu L., Liu B., Li Y., Gong X., Ma F. Identification of apple fruits rich in health-promoting dihydrochalcones by comparative assessment of cultivated and wild accessions. *Sci. Hortic.* 2018. V. 233. P. 38–46. DOI: 10.1016/j.scienta.2018.01.042.
11. Muceniece R., Namniece J., Nakurte I., Jekabsons K., Riekstina U., Jansone B. Pharmacological research on natural substances in Latvia: Focus on lunasin, betulin, polyprenol and phlorizin. *Pharmacol. Res.* 2016. V. 113. P. 760–770. DOI: 10.1016/j.phrs.2016.03.040.
12. Tian L., Cao J., Zhao T., Liu Y., Khan A., Cheng G. The bioavailability, extraction, biosynthesis and distribution of natural dihydrochalcone: phloridzin. *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. Article 962. DOI: 10.3390/ijms22020962.
13. Dixit Sh., Maurya P., Srivastava M., Shanker K., Bawankule D.U., Gupta M.M., Kumar Rai L. Quantitation of dietary dihydrochalcones in Indian crabapple (*Malus sikimensis*) using validated high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. Sci.* 2019. V. 57. P. 679–687. DOI: 10.1093/chromsci/bmz040.
14. Martín-García B., Aznar-Ramos M.J., Verardo V., Gómez-Caravaca A.M. The establishment of ultrasonic-assisted extraction for the recovery of phenolic compounds and evaluation of their antioxidant activity from *morus alba* leaves. *Foods.* 2022. V. 11. N 314. DOI: 10.3390/foods11030314.
15. Maisto M., Piccolo V., Novellino E., Schiano E., Iannuzzo F., Ciampaglia R., Summa V., Tenore G.C. Optimization of phlorizin extraction from Annurca apple tree leaves using response surface methodology. *Antioxidants.* 2022. V. 11. Article 1933. DOI: 10.3390/antiox11101933.
16. Liaudanskas M., Viskelis P., Raudonis R., Kviklis D., Uselis N., Janulis V. Phenolic composition and antioxidant activity of *malus domestica* leaves. *Sci. World J.* 2014. V. 11. P. 155. DOI: 10.1155/2014/306217.
17. Bykov V.N., Fedoros E.I., Romanenko S.N., Filin K.N., Pigarev S.E., Akasheva A.O. Analysis of the composition of castoreum extract and water-soluble lignin derivative as new sources of natural polyphenols. *Ros. Khim. Zh.* 2024. V. 68. N 2. P. 13–20. DOI: 10.6060/RCJ.2024682.2.
18. Palphitov V.F., Potapov V.A., Tarasov A.M. Method of quantitative determination of florizin. *Patent invention RF №*

18. Палфитов В.Ф., Потапов В.А., Тарасов А.М. Способ количественного определения флоридзина. *Патент РФ № 2115291*. Патентообладатель Мичуринская государственная сельскохозяйственная академия. 1998. Бюл. № 21.
19. Усачева Т.Р., Куранова Н.Н., Алистер Д.А. Нано-дифференциальная сканирующая флуориметрия для изучения влияния полифенолов в присутствии HPβCD на денатурацию человеческого сывороточного альбумина в водно-диметилсульфоксидных растворах. *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2023. Т. 66. Вып. 9. С. 56–64. DOI: 10.6060/ivkkt.20236609.6827.
20. Nesterova N.V., Matveenko V. N., Samylin A. I., Kondrashev S.V., Bobkova N.V., Suleymanova F.Sh. The detection of floretin and floridzin in eastern apple tree fruits (*Malus orientalis* Uglitzk. ex Juz.) and assessment of the quantitative content of phenolic compounds. *Moscow Univ. Chem. Bull.* 2021. V. 76. P. 71–74. DOI: 10.3103/s0027131421010107.
21. Лаврухина О.И., Амелин В.Г., Киш Л.К., Третьяков А.В. Современная методология пробоподготовки при определении остаточных количеств пестицидов в объектах окружающей среды, биологических материалах и пищевой продукции. *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2023. Т. 66. Вып. 12. С. 6–24. DOI: 10.6060/ivkkt.20236612.6799.
22. Бирюлин С.И., Посокина Н.Е., Тришканева М.В. Выделение углеводов из растительного сырья и их идентификация с применением капиллярного электрофореза. *Овоцы России*. 2019. № 5. С. 84–87. DOI: 10/18619/2072-9146-2019-5-84-87.
23. Лепёшкина С.В., Попов В.П., Якуба Ю.Ф. Способ количественного определения флоридзина в плодах и листьях яблони методом капиллярного электрофореза. *Патент РФ № 2813773*. Патентообладатель: Кубанский государственный аграрный университет. 2024. Бюл. № 5. 2115291. Applicant: Michurinsk State Agrarian Academy. 1998. Bull. № 21.
19. Usacheva T.R., Kuranova N.N., Alister D.A. Nano-differential scanning fluorimetry for studying the effect of polyphenols in the presence of HPβCD on human serum albumin denaturation in aqueous-dimethyl sulfoxide solutions. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2023. V. 66. N 9. P. 56–64. DOI: 10.6060/ivkkt.20236609.6827.
20. Nesterova N.V., Matveenko V. N., Samylin A. I., Kondrashev S.V., Bobkova N.V., Suleymanova F.Sh. The detection of floretin and floridzin in eastern apple tree fruits (*Malus orientalis* Uglitzk. ex Juz.) and assessment of the quantitative content of phenolic compounds. *Moscow Univ. Chem. Bull.* 2021. V. 76. P. 71–74. DOI: 10.3103/s0027131421010107.
21. Lavrukhnina O.I., Amelin V.G., Kish L.K., Tretyakov A.V. Modern methodology of the sample preparation in pesticides residues determination in environmental bodies, biological matrices, and food. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2023. V. 66. N 12. P. 6–24. DOI: 10.6060/ivkkt.20236612.6799.
22. Biryulin S.I., Posokina N.E., Trishkaneva M.V. The allocation of carbohydrates from vegetable raw materials and their identification with use of capillary electrophoresis. *Vegetables of Russia*. 2019. N 5. P. 84–87. DOI: 10/18619/2072-9146-2019-5-84-87.
23. Lepeshkina S.V., Popov V.P., Yakuba Yu.F. A method for the quantitative determination of floridzine in fruits and leaves of apple trees by capillary electrophoresis. *Patent of the Russian Federation N 2813773*. Applicant: Kuban State Agrarian University. 2024. Bull. N 5.

Поступила в редакцию 12.04.2024

Принята к опубликованию 13.03.2025

Received 12.04.2024

Accepted 13.03.2025