

ТЕХНОЛОГИЯ ОБРАБОТКИ ГИДРОБИОНТОВ

УДК 582.26–119:615.322



Н.М. Аминина, В.М. Остапенко, Е.П. Караулова*

Тихоокеанский филиал ВНИРО (ТИНРО),
690091, г. Владивосток, пер. Шевченко, 4ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ
ОТДЕЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ ПОЛИФЕНОЛОВ МОРСКОЙ ТРАВЫ
РОДА ZOSTERA

Методами эксклюзионной хроматографии выполнено фракционирование отдельных компонентов спиртовых экстрактов морской травы из рода *Zostera* с определением содержания полифенолов и антиоксидантной активности. Общее содержание полифенолов в экстрактах *Zostera asiatica* (Японское море, бухта Рудная) и *Zostera marina* (Охотское море, зал. Анива) составило соответственно 0,4 и 1,8 мг/г сухой навески. Фракционирование на колонке с сорбентом Sephadex LH-20 показало, что спиртовые экстракты zostеры являются гетерогенными системами, включающими различные полифенольные компоненты, а также вещества белковой природы, ковалентно связанные с полисахаридами и/или полифенолами, что было подтверждено данными ультрафиолетовой (УФ) спектрометрии и тонкослойной хроматографии. Результаты исследований позволяют сделать вывод о наличии в составе экстрактов фенольных кислот, флавонов и флавонолов. Суммарное количество полифенолов в отдельных фракциях практически не различается в экстрактах *Z. asiatica* и *Z. marina* — соответственно 2,10 и 2,15 мг/мл. Установлено, что антиоксидантная активность отдельных фракций полифенолов изменяется от 19,1 до 118,0 мкг аскорбиновой кислоты/мл для *Z. asiatica* и от 96,2 до 213,9 мкг аскорбиновой кислоты/мл для *Z. marina* и зависит от качественного и количественного состава фракций спиртовых экстрактов.

Ключевые слова: полифенолы, антиоксидантная активность, *Zostera asiatica*, *Zostera marina*, спиртовые экстракты, фракционирование, тонкослойная хроматография, УФ-спектрометрия.

DOI: 10.26428/1606-9919-2021-201-505-515.

Aminina N.M., Ostapenko V.M., Karaulova E.P. Characteristics of antioxidant activity for certain fractions of polyphenols from seagrass of genus *Zostera* // Izv. TINRO. — 2021. — Vol. 201, Iss. 2. — P. 505–515.

Some components of alcohol extracts from seagrass of genus *Zostera* were fractionated in the column filled with sorbent Sephadex LH-20 using the methods of size exclusion chromatography. Content of polyphenols in the fractions and their antioxidant activity were determined. The total content of polyphenols in the extracts from *Zostera asiatica* collected in the Rudnaya Bay (Japan Sea) and *Zostera marina* from the Aniva Bay (Okhotsk Sea) was

* Аминина Наталья Михайловна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией, e-mail: natalya.aminina@tinro-center.ru; Остапенко Виолетта Максимовна, ведущий специалист, e-mail: vetaostapenko_97@mail.ru; Караулова Екатерина Павловна, кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: karaulova2002@yandex.ru.

Aminina Natalia M., Ph.D., head of laboratory, Pacific branch of VNIRO (TINRO), 4, Shevchenko Alley, Vladivostok, 690091, Russia, e-mail: natalya.aminina@tinro-center.ru; Ostapenko Violetta I., leading specialist, Pacific branch of VNIRO (TINRO), 4, Shevchenko Alley, Vladivostok, 690091, Russia, e-mail: vetaostapenko_97@mail.ru; Karaulova Ekaterina P., Ph.D., leading researcher, Pacific branch of VNIRO (TINRO), 4, Shevchenko Alley, Vladivostok, 690091, Russia, e-mail: karaulova2002@yandex.ru.

2.10 and 2.15 mg/mL, or 0.4 and 1.8 mg/g DW, respectively. The antioxidant activity varied by fractions in the range 19.1–118.0 µg of ascorbic acid per mL for *Z. asiatica* and 96.2–213.9 µg of ascorbic acid per mL for *Z. marina*, in dependence on qualitative and quantitative composition of the fractions. The alcohol extracts of *Zostera* were heterogeneous systems with different polyphenol components and included protein substances covalently bound with polysaccharides and/or polyphenols, that was confirmed by UV spectrometry and thin-layer chromatography. Phenolic acids, flavones and flavonols were presented in the extracts.

Key words: polyphenol, antioxidant activity, *Zostera asiatica*, *Zostera marina*, alcohol extract, fractionation, thin-layer chromatography, UV spectrometry.

Введение

Морские водоросли в настоящее время широко используются в качестве функциональных продуктов, так как являются источником биологически активных веществ, в том числе полифенолов [Melanson, MacKinnon, 2015; Murray et al., 2018]. Фенольные соединения считаются одним из наиболее важных классов природных антиоксидантов, обладающих при этом противоопухолевой, антибактериальной, противодиабетической, противовоспалительной и антиВИЧ-активностями [Li et al., 2011; Thomas, Kim, 2011; Murray et al., 2018]. Стоит отметить, что некоторые пищевые продукты из водорослей показывают более высокие значения антиоксидантной активности, чем отдельные фрукты, богатые витамином С [Machu et al., 2015]. Была установлена положительная корреляция между антиоксидантной активностью и содержанием полифенолов в фукусовых водорослях [Imbs et al., 2015].

Полифенолы — большой и разнообразный класс вторичных метаболитов, состоящих примерно из 8000 природных соединений [Croteau et al., 2000; Tomás-Barberán et al., 2000]. Диапазон этих фенольных соединений варьирует от фенольных кислот и других полифенольных соединений с относительно простыми химическими структурами до более сложных структур флоротанинов бурых водорослей. Последние являются наиболее изученной группой среди фенольных соединений морских растений, что отражено в обзорах и российских авторов [Боголицын и др., 2018; Имбс, Звягинцева, 2018].

В настоящее время известно, что флоротанины представляют собой большую группу молекул, которую можно поделить на 4 класса в зависимости от типа связей между мономерными единицами флороглюцина [Martínez, Castañeda, 2013; Pádua et al., 2015]. Флоротанины — это основные представители фенольных соединений бурых водорослей, но в меньшей степени они найдены и в красных водорослях [Machu et al., 2015]. Считается, что основными компонентами полифенольного комплекса зеленых и красных водорослей являются флавоноиды [de Quirós et al., 2010; Alagan et al., 2017], антиоксидантная активность которых ниже по сравнению с флоротанинами бурых водорослей [Shibata et al., 2008].

В меньшей степени изучены фенольные соединения морских трав, которые не используются как пищевые продукты, а являются сырьем для получения морского пектина — полисахарида, свойства которого близки к пектину наземных растений. Высоким содержанием целлюлозы в тканях морских трав (16–21 % на сухую массу) можно объяснить жесткость их листьев, что делает пригодным их применение только в пищу животным. Однако низкое содержание белков (7–14 %) и липидов (1–2 %) в сырье не способствует их широкому применению в качестве кормов. Недавно в научной литературе появились сообщения, что морские травы являются богатым источником соединений с высокой антиоксидантной активностью [Kannan et al., 2013]. Таким образом, перспективным направлением для изучения морских трав являются исследования биологической активности их низкомолекулярных метаболитов, в частности водо- и жирорастворимых антиоксидантов (полифенолов, каротиноидов, витаминов). Морские травы — *Zostera asiatica* и *Zostera marina* — в Приморском крае относятся к промысловому сырью Японского моря. Суммарный объем промыслового запаса зостеры в последние года оценивается в пределах 60 тыс. т и мало изменяется в связи с

практически отсутствующим промышленным освоением этого ресурса*. В связи с этим морские травы Японского моря могут быть использованы как сырье для извлечения физиологически активных компонентов, в частности водорастворимых фенольных соединений. Это открывает перспективу для комплексной переработки морских трав с получением не только пектинов, но и биологически активных добавок.

Ранее было установлено, что в морских травах присутствуют фенольные кислоты. В частности, в *Z. marina* с помощью газожидкостной хроматографии было идентифицировано шесть фенольных кислот [Quackenbush et al., 1986]. Описано также содержание флавоноидов в листьях морской травы двух видов (*Z. marina* и *Z. noltii*) из прибрежных вод Норвегии, выявлены сезонные колебания как общих флавоноидов, так и индивидуальных, в частности изменения концентрации розмариновой кислоты [Enerstvedt et al., 2017]. Исследования полифенольных соединений в морских травах дальневосточных морей практически не проводились, установлено только присутствие общих полифенолов в *Z. marina*, произрастающей в Японском море около берегов Приморского края [Боковня, Давидович, 2015].

Целью данной работы было проведение исследования полифенольных соединений морских трав *Z. asiatica* и *Z. marina*, а также определение антиоксидантной активности спиртовых экстрактов этих двух видов морских растений.

Материалы и методы

В качестве сырья для исследования были выбраны образцы морской травы *Z. asiatica* (бухта Рудная, Приморский край, сентябрь 2019 г.) и *Z. marina* (зал. Анива, о. Сахалин, август 2019 г.). Собранные образцы были высушены при комнатной температуре (22–28 °С) в течение 5–6 дней до содержания влаги 15–20 % и тонко измельчены до состояния порошка.

Для получения экстрактов каждый измельченный образец массой 10 г помещали в коническую колбу и обрабатывали этиловым спиртом (70 %) при соотношении водоросль : экстрагент 1 : 10. Содержимое колбы осторожно перемешивали и оставляли на 16 ч при температуре 25 °С. Затем смесь центрифугировали при 8 тыс. об/мин в течение 10 мин на центрифуге Hitachi RX II. Далее центрифугат декантировали от осадка и использовали для исследования. Оптимальные условия экстракции были выбраны исходя из полученных ранее данных [Аминина и др., 2017].

Фракционирование экстрактов проводили на колонке Sephadex LH-20 (Merck, 50,0 × 2,5 см) 70 %-ным этанолом, последовательно собирая фракции. Всего было собрано 10–12 фракций для каждого экстракта объемом по 5 мл каждая. Качественный состав фракций оценивали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) и УФ-спектрометрии.

ТСХ-анализ проводили на пластинках TLC LuxPlate Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck, Germany). В качестве подвижной фазы использовали смесь хлороформ/метанол/уксусная кислота/вода в соотношении 50 : 25 : 3 : 4 [Eom et al., 2012]. Пятна на хроматограммах визуализировали в УФ-свете при 254 нм. Спектры полифенольных фракций в видимой области УФ-излучения снимали на планшетном спектрофотометре Polarstar Omega (BMG Labtech GmbH, Германия).

Общее содержание полифенолов в экстракте определяли в соответствии со стандартной методикой Фолина-Чекольте [Koivikko et al., 2005], используя флороглюцинол в качестве стандарта (Phloroglucinol, 99 %, HPLC, Sigma-Aldrich).

Антиоксидантную активность (АОА) растворов определяли с использованием 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH) [Moluneux, 2004]. Антиоксидантную активность выражали в микрограммах аскорбиновой кислоты на миллилитр экстракта.

* Состояние промышленных ресурсов Дальневосточного рыбохозяйственного бассейна. Прогноз общего вылова гидробионтов на 2020 г. (краткая версия). Владивосток: ТИПРО, 2020. 501 с.

Измерения проводили трижды, данные анализировали с помощью программного обеспечения Statistica 7. Результаты выражали в виде среднего значения со стандартным отклонением. Значения с 95 %-ным доверительным интервалом ($P < 0,05$) считались статистически значимыми. Коэффициент корреляции рассчитывали по методу Пирсона.

Результаты и их обсуждение

Количество фенольных соединений в морских растениях может сильно варьировать в зависимости от вида и условий его произрастания. Известно, например, что бурые водоросли накапливают намного больше полифенолов, чем красные [Аминина и др., 2017]. В дальневосточных бурых водорослях общее содержание полифенолов может меняться от 0,4 мг/г сухой массы у *Saccharina cichorioides* до 6,2 мг/г сухой массы у *Fucus evanescens* [Аминина и др., 2020]. При этом их количество и антиоксидантная активность сравнимы с таковыми наземных растений, например черной смородины *Ribes nigrum*, ягоды которой считаются ценным источником флавонолов, обладающих высокой биологической активностью [Häkkinen et al., 1999]. В морских травах также накапливается значительное количество фенольных соединений. Из шести исследованных морских трав (*Enhalus acoroides*, *Thalassia hemprichii*, *Halodule pinifolia*, *Syringodium isoetifolium*, *Cymodocea serrulata* и *Cymodocea rotundata*) *H. pinifolia* показала самое высокое содержание фенолов (21,64 мг/г сухого образца), танинов (17,12 мг/г) и витамина Е (34,49 мг/г) [Kannan et al., 2013]. В дальневосточной морской траве *Z. marina* было обнаружено 0,52 % полифенолов на сухую массу [Боковня, Давидович, 2015].

Концентрация полифенолов в экстрактах исследованных нами образцов морской травы значительно различалась. Так, максимальное количество общих полифенолов было обнаружено в спиртовом экстракте морской травы *Z. marina* и составило $1,8 \pm 0,2$ мг/г сухой массы, что в 4,5 раза больше содержания полифенолов в экстракте *Z. asiatica* ($0,4 \pm 0,1$ мг/г). Общая антиоксидантная активность исследуемых экстрактов различалась незначительно и составила $94,5 \pm 1,2$ и $81,9 \pm 1,3$ мкг аскорбиновой кислоты/мл соответственно для *Z. asiatica* и *Z. marina*. Антиоксидантная активность *Z. asiatica* на 15 % выше АОА *Z. marina*, несмотря на то что количество полифенолов в последней существенно больше. Возможно, причиной такого несоответствия между содержанием общих полифенолов и антиоксидантной активностью является наличие в спиртовом экстракте примесей других биологически активных веществ (каротиноидов, токоферола). Можно также предположить, что наибольшей антиоксидантной активностью обладают определенные фенольные соединения, наличие которых зависит от многих причин — видовой принадлежности растения, его физиологического состояния, влияния окружающей среды.

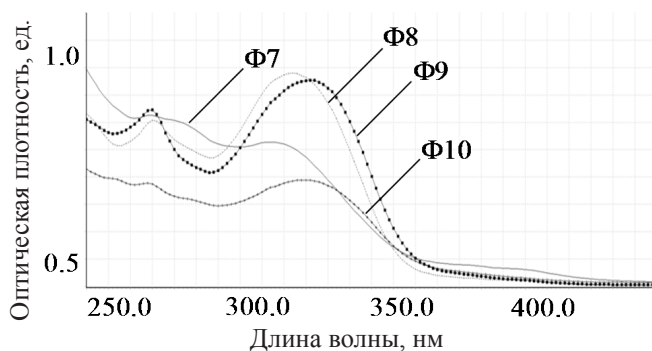
Для предварительной оценки полифенольного состава морской травы рода *Zostera* было проведено фракционирование экстрактов методом эксклюзионной препаративной хроматографии. Один из способов разделения полифенольных соединений водорослей — хроматография низкого давления с использованием в качестве сорбента силикагеля [Боголицын и др., 2019]. Для фракционирования и очистки флоротанинов широкое применение получил гель Sephadex LH-20, который представляет собой декстрановый эпоксимодифицированный адсорбент, обладающий как гидрофобными, так и гидрофильными свойствами [Li et al., 2009]. Разделение и фракционирование полифенолов с использованием хроматографических методов представляет собой эффективный метод обнаружения и количественного определения фенольных соединений, позволяющий проводить предварительную идентификацию флавоноидных структур и идентифицировать отдельные компоненты полифенольной природы [Rajauria, 2018].

После хроматографического разделения спиртовых экстрактов в полученных фракциях определяли антиоксидантную активность и общее содержание полифенолов. Для контроля качественного состава фракций использовали методы тонкослойной хроматографии и УФ-спектрофотометрии.

При фракционировании спиртового экстракта *Z. asiatica* на сорбенте было последовательно собрано 12 фракций экстракта (Ф1-Ф12). Поглощение в УФ-области было отмечено для фракций Ф7-Ф10 (рис. 1). Спектры характеризовались двумя максимумами поглощения в диапазоне 270 и 330–340 нм. Для фракций Ф8-Ф10 интенсивность оптической плотности при 330–340 нм была существенно выше, чем в области 270 нм. Для фракции Ф7, напротив, максимальное поглощение наблюдалось в области 270 нм. Спектры поглощения фракций Ф8-Ф10 являются более характерными для полифенольных соединений, таких как хлорогеновая, кофейная кислоты, кверцетин, апигенин, кемпферол. Спектр поглощения фракции Ф7, характеризующийся увеличением поглощения при 280 нм, может свидетельствовать о наличии фенолокислот или простых гетероциклических соединений, в частности катехинов. Для фракций Ф9 и Ф10 наблюдался сдвиг максимума поглощения в более длинноволновую область спектра, до 340 нм, тогда как для фракции Ф8 максимум поглощения соответствовал 330 нм. Вероятнее всего, это связано с различиями в качественном составе отдельных фракций.

Рис. 1. Спектры поглощения отдельных фракций спиртового экстракта *Z. asiatica* (Ф7-Ф10)

Fig. 1. Absorption spectra for certain fractions of alcohol extract from *Z. asiatica* (Ф7-Ф10)



Помимо спектральных характеристик, для качественной характеристики полифенолов применяется метод тонкослойной хроматографии (ТСХ). Пятна полифенолов на силикагеле при ТСХ-анализе, как правило, не окрашены или имеют очень слабую окраску и поэтому недостаточно хорошо просматриваются в видимой области спектра, но хорошо визуализируются в УФ-свете. Флавоны, флаваноны и гликозиды демонстрируют зоны желто-коричневого окрашивания в УФ-свете при 254 нм [Wagner, Bladt, 1996].

При анализе исследуемых фракций методом ТСХ с визуализацией в УФ-свете при 254 нм было отмечено наличие зон с бурой окраской, характерной для полифенолов, для фракций Ф8, Ф9 и Ф10. Для фракции Ф8 наблюдалось хроматографическое разделение на шесть зон бурого окрашивания с различными временами удерживания, для фракции Ф9 — на три зоны бурого окрашивания с различными временами удерживания, для фракции Ф10 — только одна зона бурого окрашивания, соответствующая, по всей видимости, полифенольным компонентам.

Анализ общего количества полифенолов и антиоксидантной активности отдельных фракций спиртового экстракта *Z. asiatica* приведен в табл. 1.

Как видно из данных табл. 1, максимальное количество полифенолов присутствует во фракциях Ф6-Ф9, эти же фракции, за исключением Ф6, характеризуются и максимальной антиоксидантной активностью. Коэффициент корреляции Пирсона между АОА и содержанием полифенолов отдельных фракций составил 0,58.

Таким образом, спиртовой экстракт *Z. asiatica* представлен широким спектром веществ полифенольной природы. Методами тонкослойной хроматографии и УФ-спектрофотометрии показано, что в экстракте присутствуют предположительно гидроксикоричные кислоты, флавонолы (кверцетин) или флавоны (апигенин). Отсутствие корреляции между АОА и содержанием полифенолов в отдельных фракциях свидетельствует о присутствии в экстракте соединений другой природы, обладающих антиоксидантной активностью.

Содержание полифенолов и антиоксидантная активность отдельных фракций *Z. asiatica*

Table 1

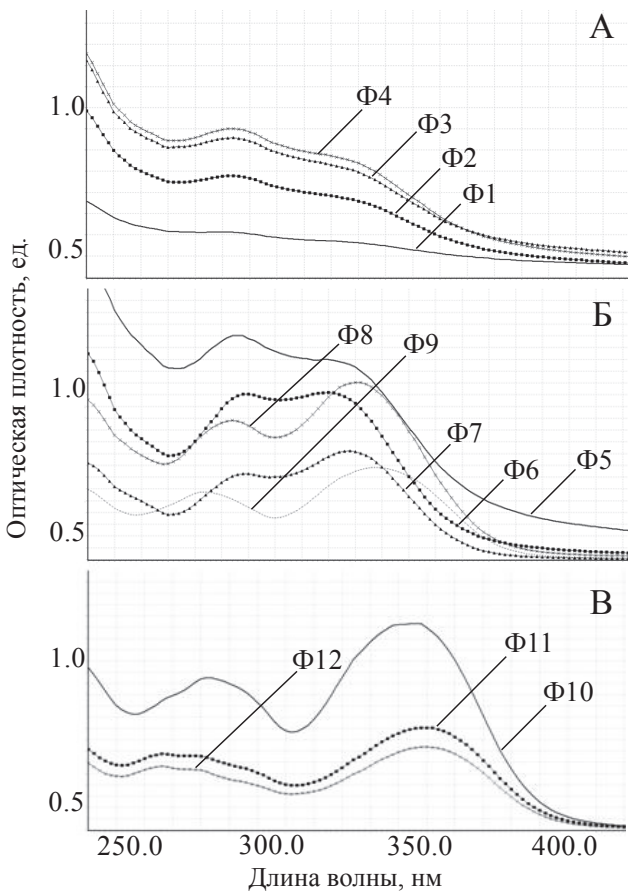
Content of polyphenols and antioxidant activity for certain fractions of alcohol extract from *Z. asiatica*

№ фракции	Полифенолы, мг/мл	АОА, мкг аскорбиновой кислоты/мл
1	Н/о	Н/о
2	0,21 ± 0,10	23,3 ± 3,1
3	0,22 ± 0,10	23,7 ± 2,9
4	0,22 ± 0,10	23,4 ± 2,8
5	0,22 ± 0,10	23,4 ± 3,2
6	0,27 ± 0,10	23,8 ± 3,5
7	0,30 ± 0,10	107,1 ± 3,4
8	0,23 ± 0,10	118,0 ± 2,9
9	0,26 ± 0,10	94,7 ± 2,1
10	0,17 ± 0,10	19,1 ± 3,5
11	Н/о	Н/о
12	Н/о	Н/о

Примечание. Н/о — не обнаружено.

В результате эксклюзионной хроматографии спиртового экстракта *Z. marina* было собрано 12 фракций (Ф1-Ф12). Результаты спектрального анализа 12 фракций в диапазоне длин волн от 220 до 500 нм представлены на рис. 2.

Как видно на рис. 2 (А), фракции Ф1-Ф4 имеют максимум при длине волны 280 нм и небольшое плечо при 330 нм, причем интенсивность оптической плотности при 280 нм существенно выше интенсивности при 330 нм. По всей вероятности, в данных фракциях содержатся простые производные бензола, например галловая кислота, также вероятно наличие гетероциклических ароматических соединений, имеющих максимум поглощения при 270–280 нм. К тому же поглощение при 280 нм может свидетельствовать о присутствии веществ белковой природы, ковалентно связанных с полисахаридами и/или полифенольными компонентами.



существенно выше интенсивности при 330 нм. По всей вероятности, в данных фракциях содержатся простые производные бензола, например галловая кислота, также вероятно наличие гетероциклических ароматических соединений, имеющих максимум поглощения при 270–280 нм. К тому же поглощение при 280 нм может свидетельствовать о присутствии веществ белковой природы, ковалентно связанных с полисахаридами и/или полифенольными компонентами.

Рис. 2. Спектры поглощения отдельных фракций спиртового экстракта *Z. marina*: Ф1-Ф4 (А), Ф5-Ф9 (Б), Ф10-Ф12 (В)

Fig. 2. UV absorption spectra for certain fractions of alcohol extract from *Z. marina*: Ф1-Ф4 (А), Ф5-Ф9 (Б), Ф10-Ф12 (В)

Фракции Ф5-Ф9 (рис. 2, Б) характеризуются двумя максимумами поглощения в диапазоне 270–290 и 320–340 нм. Причем для фракций Ф9 и Ф8 наблюдается сдвиг в более длинноволновую область спектра. Также для фракций Ф8 и Ф9 соотношение оптической плотности A_{340}/A_{290} становится больше единицы, тогда как для фракций Ф5-Ф7 соотношение A_{320}/A_{270} меньше единицы. Поскольку в данных фракциях могут содержаться, помимо полифенолов, и белковые компоненты, преобладание веществ с максимумом оптической плотности при 340 нм может косвенно свидетельствовать о том, что в данных фракциях наблюдается преимущественное содержание полифенольных компонентов по сравнению с белковыми веществами. Профиль оптической плотности с двумя максимумами поглощения свидетельствует о наличии гидроксикоричных кислот (хлорогеновой и кофейной), флавонолов (кверцетин) либо флавонов (апигенин).

УФ-спектр фракций Ф10-Ф12 (рис. 2, В) характеризуется одним пиком с максимумом при 350 нм и плечом с увеличением оптической плотности при 255 и 270 нм. Соотношение A_{350}/A_{270} для всех трех фракций больше единицы и максимально для Ф10. Такой УФ-профиль может быть характерен для рутина, кверцетина и кемпферола.

При анализе исследуемых фракций методом ТСХ с визуализацией в УФ-свете при 254 нм было отмечено наличие зон с бурой окраской, характерной для полифенолов, для фракции Ф6-Ф11, что подтверждает наличие полифенольных компонентов в исследуемых фракциях. Причем для фракций Ф6, Ф10 наблюдалось хроматографическое разделение на три зоны с характерным для полифенолов окрашиванием; для фракций Ф8 и Ф11 — на две зоны бурого окрашивания с различными временами удерживания, а фракции Ф7, Ф9 и Ф12 характеризовались одним пятном, соответствующим полифенольным соединениям.

Общее содержание полифенолов и величина антиоксидантной активности исследуемых фракций *Z. marina* приведены в табл. 2.

Таблица 2
Содержание полифенолов и антиоксидантная активность отдельных фракций спиртового экстракта *Z. marina*

Table 2
Content of polyphenols and antioxidant activity for certain fractions of alcohol extract from *Z. marina*

№ фракции	Полифенолы, мг/мл	АОА, мкг аскорбиновой кислоты/мл
1	Н/о	47,6 ± 2,3
2	Н/о	86,8 ± 2,3
3	Н/о	97,5 ± 2,3
4	Н/о	103,6 ± 2,3
5	0,22 ± 0,10	111,7 ± 2,3
6	0,70 ± 0,10	213,9 ± 2,3
7	0,45 ± 0,10	211,1 ± 2,3
8	0,26 ± 0,10	117,8 ± 2,3
9	0,15 ± 0,10	96,2 ± 2,3
10	0,15 ± 0,10	119,6 ± 2,3
11	0,22 ± 0,10	123,1 ± 2,3
12	Н/о	116,4 ± 2,3

Примечание. Н/о — не обнаружено.

Как видно из данных табл. 2, значимое количество полифенолов, определенное по методу Фолина-Чекольте, содержится во фракциях Ф6-Ф8. Эти же фракции характеризуются и высокой антиоксидантной активностью (коэффициент корреляции Пирсона $r = 0,91$). Для фракций Ф9-Ф11 отмечается снижение общего содержания полифенолов, а во фракции Ф12 полифенолы не обнаруживаются данным методом, при этом по антиоксидантной активности эти фракции сопоставимы с фракцией Ф8. Надо отметить, что для фракций Ф9, Ф10 при визуализации в УФ-свете на ТСХ от-

мечено наличие зон с ярко-желтой окраской, не являющейся характерной для веществ полифенольной природы, тогда как зоны бурого окрашивания в этих фракциях представлены незначительно. Тем не менее величина антиоксидантной активности в данных фракциях предполагает наличие биологически активных компонентов.

Следовательно, спиртовой экстракт морской травы *Z. marina* также является гетерогенной системой, включающей вещества различной природы, обладающие биологической активностью. При этом в отдельных фракциях (Ф6, Ф7) обнаружена значимая корреляция между АОА и содержанием полифенолов. Антиоксидантная активность этих фракций почти в два раза выше, чем максимальная АОА фракций экстракта *Z. asiatica*. При этом надо отметить, что в сумме АОА спиртового экстракта меньше, чем экстракта *Z. asiatica*, что свидетельствует о преобладании в последнем веществ нефенольной природы с высокой АОА. Это подтверждается и данными анализа содержания полифенолов в отдельных фракциях, суммарное количество которых практически не различается в экстрактах *Z. asiatica* и *Z. marina* (соответственно 2,10 и 2,15 мг/мл).

Заключение

Проведенный анализ спиртовых экстрактов морских трав Дальнего Востока *Z. asiatica* и *Z. marina* позволяет сделать вывод, что морские травы содержат широкий спектр веществ, обладающих антиоксидантной активностью. Результаты исследований фракционного состава спиртовых экстрактов свидетельствуют о присутствии в них соединений как полифенольной, так и белковой природы, предположительно в виде пигментов и гликопротеинов. Данные ТСХ-анализа и УФ-спектра позволяют сделать вывод о наличии в составе экстрактов фенольных кислот, флавонов и флавонолов, отличающихся биологической активностью и имеющих потенциальное прикладное значение. Состав полифенолов отдельных видов морских трав, на наш взгляд, обладает общими химическими составляющими и характеризуется индивидуальными компонентами, наличие или отсутствие которых может быть связано с принадлежностью к тому или иному виду или с влиянием условий среды обитания.

Финансирование работы

Результаты настоящего исследования были получены в рамках выполнения государственной программы «Мониторинг качества и безопасности морского растительного сырья дальневосточных морей и продуктов переработки водорослей».

Соблюдение этических стандартов

Настоящая статья не содержит исследований с использованием животных в качестве объектов.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Информация о вкладе авторов

Н.М. Аминина, Е.П. Караулова — организация, планирование экспериментов, обработка данных, написание и редактирование статьи; В.М. Остапенко — проведение экспериментов, обработка данных, написание и редактирование статьи.

Список литературы

Аминина Н.М., Вишневская Т.И., Караулова Е.П. и др. Перспективы использования промысловых и потенциально промысловых бурых водорослей дальневосточных морей в качестве источника полифенолов // Биол. моря. — 2020. — Т. 46, № 1. — С. 37–44. DOI: 10.31857/S0134347520010027.

Аминина Н.М., Вишневская Т.И., Караулова Е.П., Якуш Е.В. Содержание полифенолов и антиоксидантная активность экстрактов из некоторых видов морских водорослей // Изв. ТИНРО. — 2017. — Т. 189. — С. 184–191.

Боголицын К.Г., Дружинина А.С., Овчинников Д.В. и др. Полифенолы бурых водорослей // Химия растительного сырья. — 2018. — № 3. — С. 5–21. DOI: 10.14258/jcrpm.2018031898.

Боголицын К.Г., Дружинина А.С., Овчинников Д.В., Паршина А.Э. Полифенолы арктических бурых водорослей: выделение, полимолекулярный состав // Химия растительного сырья. — 2019. — № 4. — С. 65–75. DOI: 10.14258/jcrpm.2019045135.

Боковня И.Е., Давидович В.В. Оценка содержания биологически активных веществ в морской траве семейства Zosteraceae при различных способах ее заготовки // Международный научно-исследовательский журнал. — 2015. — № 8-2. — С. 6–7.

Имбс Т.И., Звягинцева Т.Н. Флоротаннины — полифенольные метаболиты бурых водорослей // Биол. моря. — 2018. — Т. 44, № 4. — С. 217–227. DOI: 10.1134/S0134347518040010.

Alagan V.T., Valsala R.N., Rajesh K.D. Bioactive chemical constituent analysis, in vitro antioxidant and antimicrobial activity of whole plant methanol extracts of *Ulva lactuca* Linn // Br. J. Pharm. Res. — 2017. — Vol. 15(1). — P. 1–14. DOI: 10.9734/BJPR/2017/31818.

Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G. Natural products (secondary metabolites) // Biochemistry and Molecular Biology of Plants. — Hoboken, 2000. — P. 1250–1318.

de Quirós A.R.-B., Lage-Yusty M.A., López-Hernández J. Determination of phenolic compounds in macroalgae for human consumption // Food Chem. — 2010. — Vol. 121, № 2. — P. 634–638. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.12.078.

Enerstvedt K.H., Lundberg A., Sjøtun I.K. et al. Characterization and seasonal variation of individual flavonoids in *Zostera marina* and *Zostera noltii* from Norwegian coastal waters // Biochemical Systematics and Ecology. — 2017. — Vol. 74. — P. 42–50. DOI: 10.1016/j.bse.2017.08.003.

Eom S.-H., Lee S.-H., Yoon N.-Y. et al. α -Glucosidase and α -amylase-inhibitory activities of phlorotannins from *Eisenia bicyclis* // J. Sci. Food Agric. — 2012. — Vol. 92. — P. 2084–2090. DOI: 10.1002/jsfa.5585.

Häkkinen S.H., Kärenlampi S.O., Heinonen I.M. et al. Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries // J. Agric. Food Chem. — 1999. — Vol. 47, № 6. — P. 2274–2279. DOI: 10.1021/jf9811065.

Imbs T.I., Skriptsova A.V., Zvyagintseva T.N. Antioxidant activity of fucose-containing sulfated polysaccharides obtained from *Fucus evanescens* by different extraction methods // J. Appl. Phycol. — 2015. — Vol. 27, № 1. — P. 545–553. DOI: 10.1007/s10811-014-0293-7.

Kannan R.R.R., Arumugam R., Thangaradjou T., Anantharaman P. Phytochemical constituents, antioxidant properties and *p*-coumaric acid analysis in some seagrasses // Food Res. Int. — 2013. — Vol. 54, Iss. 1. — P. 1229–1236. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.01.027.

Koivikko R., Loponen J., Honkanen T., Jormalainen V. Contents of soluble, cell-wall-bound and exuded phlorotannins in the brown alga *Fucus vesiculosus*, with implications on their ecological functions // J. Chem. Ecol. — 2005. — Vol. 31, № 1. — P. 195–212. DOI: 10.1007/s10886-005-0984-2.

Li Y., Qian Z.-J., Ryu B. et al. Chemical components and its antioxidant properties in vitro: An edible marine brown alga, *Ecklonia cava* // Bioorg. Med. Chem. — 2009. — Vol. 17. — P. 1963–1973. DOI: 10.1016/j.bmc.2009.01.031.

Li Y.-X., Wijesekara I., Li Y., Kim S.-K. Phlorotannins as bioactive agents from brown algae // Process Biochem. — 2011. — Vol. 46, Iss. 12. — P. 2219–2224. DOI: 10.1016/j.procbio.2011.09.015.

Machu L., Misurcova L., Ambrozova J.V. et al. Phenolic Content and Antioxidant Capacity in Algal Food Products // Molecules. — 2015. — Vol. 20, Iss. 1. — P. 1118–1133. DOI: 10.3390/molecules20011118.

Martínez J.H.I., Castañeda H.G.T. Preparation and chromatographic analysis of phlorotannins // J. Chromatogr. Sci. — 2013. — Vol. 51, Iss. 8. — P. 825–838. DOI: 10.1093/chromsci/bmt045.

Melanson J.E., MacKinnon S.L. Characterization of Phlorotannins from Brown Algae by LC-HRMS // Methods Mol. Biol. — 2015. — № 1308. — С. 253–266. DOI: 10.1007/978-1-4939-2684-8_16.

Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity // Songklanakarin J. Sci. Technol. — 2004. — Vol. 26, Iss. 2. — P. 211–219.

Murray M., Dordevic A.L., Ryan L., Bonham M.P. An emerging trend in functional foods for the prevention of cardiovascular disease and diabetes: Marine algal polyphenols // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. — 2018. — Vol. 58, № 8. — P. 1342–1358. DOI: 10.1080/10408398.2016.1259209.

Pádua D., Rocha E., Gargiulo D., Ramos A.A. Bioactive compounds from brown seaweeds: Phloroglucinol, fucoxanthin and fucoidan as promising therapeutic agents against breast cancer // Phytochemistry Letters. — 2015. — Vol. 14. — P. 91–98. DOI: 10.1016/j.phytol.2015.09.007.

Quackenbush R.C., Bunn D., Lingren W. HPLC determination of phenolic acids in the water-soluble extract of *Zostera marina* L. (eelgrass) // Aquatic Botany. — 1986. — Vol. 24, Iss. 1. — P. 83–89. DOI: 10.1016/0304-3770(86)90119-1.

Rajauria G. Optimization and validation of reverse phase HPLC method for qualitative and quantitative assessment of polyphenols in seaweed // J. Pharm. Biomed. Anal. — 2018. — Vol. 148. — P. 230–237. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.10.002.

Shibata T., Ishimaru K., Kawaguchi S. et al. Antioxidant activities of phlorotannins isolated from Japanese Laminariaceae // J. Appl. Phycol. — 2008. — Vol. 20. — P. 705–711. DOI: 10.1007/s10811-007-9254-8.

Thomas N.V., Kim S.-K. Potential pharmacological applications of polyphenolic derivatives from marine brown algae // Environ. Toxicol. Pharmacol. — 2011. — Vol. 32, Iss. 3. — P. 325–335. DOI: 10.1016/j.etap.2011.09.004.

Tomás-Barberán F.A., Ferreres F., Gil M.I. Antioxidant phenolic metabolites from fruit and vegetables and changes during postharvest storage and processing // Studies in Natural Products Chemistry. — 2000. — Vol. 23. — P. 739–795. DOI: 10.1016/S1572-5995(00)80141-6.

Wagner H., Blatt S. Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas. — Berlin, Germany : Springer, 1996. — 359 p.

References

Aminina, N.M., Vishnevskaya, T.I., Karaulova, E.P., Epur, N.V., and Yakush, E.V., Prospects for the use of commercial and potentially commercial brown algae of the far eastern seas as a source of polyphenols, *Russ. J. Mar. Biol.*, 2020, vol. 46, no. 1, pp. 34–41. doi 10.31857/S0134347520010027

Aminina, N.M., Vishnevskaya, T.I., Karaulova, E.P., and Yakush, E.V., Content of polyphenols and antioxidant activity of extracts from certain species of seaweeds, *Izv. Tikhookean. Nauchno-Issled. Inst. Rybn. Khoz. Okeanogr.*, 2017, vol. 189, pp. 184–191.

Bogolitsyn, K.G., Druzhinina, A.S., Ovchinnikov, D.V., Kaplitsin, P.A., Shulgina, E.V., and Parshina, A.E., Polyphenols of brown algae, *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2018, no. 3, pp. 5–21.

Bogolitsyn, K.G., Druzhinina, A.S., Ovchinnikov, D.V., Parshina, A.E., Shulgina, E.V., Turova, P.N., and Stavrianidi, A.N., Polyphenols of arctic brown algae: extraction, polymolecular composition, *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2019, no. 4, pp. 65–75. doi 10.14258/jcprm.2019045135

Bokovnya, I.E. and Davidovich, V.V., Evaluation of the content biologically active substances of marine grass Zosteraceae in different methods of preparation, *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal*, 2015, no. 8-2, pp. 6–7.

Imbs, T.I. and Zvyagitseva, T.N., Phlorotannins are polyphenolic metabolites of brown algae, *Russ. J. Mar. Biol.*, 2018, vol. 44, no. 4, pp. 263–273. doi 10.1134/S106307401804003X

Alagan, V.T., Valsala, R.N., and Rajesh, K.D., Bioactive chemical constituent analysis, in vitro antioxidant and antimicrobial activity of whole plant methanol extracts of *Ulva lactuca* Linn, *Br. J. Pharm. Res.*, 2017, vol. 15, no. 1, pp. 1–14. doi 10.9734/BJPR/2017/31818

Croteau, R., Kutchan, T.M., and Lewis, N.G., Natural products (secondary metabolites), *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, Hoboken, 2000, pp. 1250–1318.

de Quirós, A.R.-B., Lage-Yusty, M.A., and López-Hernández, J., Determination of phenolic compounds in macroalgae for human consumption, *Food Chem.*, 2010, vol. 121, no. 2, pp. 634–638. doi 10.1016/j.foodchem.2009.12.078

Enerstvedt, K.H., Lundberg, A., Sjøtun, I.K., Fadnes, P., and Jordheim, M., Characterization and seasonal variation of individual flavonoids in *Zostera marina* and *Zostera noltii* from Norwegian coastal waters, *Biochemical Systematics and Ecology*, 2017, vol. 74, pp. 42–50. doi 10.1016/j.bse.2017.08.003

Eom, S.-H., Lee, S.-H., Yoon, N.-Y., Jung, W.-K., Jeon, Y.-J., Kim, S.-K., Lee, M.-S., and Kim, Y.-M., α -Glucosidase and α -amylase-inhibitory activities of phlorotannins from *Eisenia bicyclis*, *J. Sci. Food Agric.*, 2012, vol. 92, pp. 2084–2090. doi 10.1002/jsfa.5585

Häkkinen, S.H., Kärenlampi, S.O., Heinonen, I.M., Mykkänen, H.M., and Törrönen, A.R., Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries, *J. Agric. Food Chem.*, 1999, vol. 47, no. 6, pp. 2274–2279. doi 10.1021/jf9811065

Imbs, T.I., Skriptsova, A.V., and Zvyagitseva, T.N., Antioxidant activity of fucose-containing sulfated polysaccharides obtained from *Fucus evanescens* by different extraction methods, *J. Appl. Phycol.*, 2015, vol. 27, no. 1, pp. 545–553. doi 10.1007/s10811-014-0293-7

Kannan, R.R.R., Arumugam, R., Thangaradjou, T., and Anantharaman, P., Phytochemical constituents, antioxidant properties and *p*-coumaric acid analysis in some seagrasses, *Food Res. Int.*, 2013, vol. 54, no. 1, pp. 1229–1236. doi 10.1016/j.foodres.2013.01.027

Koivikko, R., Loponen, J., Honkanen, T., and Jormalainen, V., Contents of soluble, cell-wall-bound and exuded phlorotannins in the brown alga *Fucus vesiculosus*, with implications on their ecological functions, *J. Chem. Ecol.*, 2005, vol. 31, no. 1, pp. 195–212. doi 10.1007/s10886-005-0984-2

Li, Y., Qian, Z.-J., Ryu, B., Lee, S.-H., Kim, M.-M., and Kim, S.-K., Chemical components and its antioxidant properties in vitro: An edible marine brown alga, *Ecklonia cava*, *Bioorg. Med. Chem.*, 2009, vol. 17, pp. 1963–1973. doi 10.1016/j.bmc.2009.01.031

Li, Y.-X., Wijesekara, I., Li, Y., and Kim, S.-K., Phlorotannins as bioactive agents from brown algae, *Process Biochem.*, 2011, vol. 46, no. 12, pp. 2219–2224. doi 10.1016/j.procbio.2011.09.015

Machu, L., Misurcova, L., Ambrozova, J.V., Orsavova, J., Mlcek, J., Sochor, J., and Jurikova, T., Phenolic Content and Antioxidant Capacity in Algal Food Products, *Molecules*, 2015, vol. 20, no. 1, pp. 1118–1133. doi 10.3390/molecules20011118

Martínez, J.H.I. and Castañeda, H.G.T., Preparation and chromatographic analysis of phlorotannins, *J. Chromatogr. Sci.*, 2013, vol. 51, no. 8, pp. 825–838. doi 10.1093/chromsci/bmt045

Melanson, J.E. and MacKinnon, S.L., Characterization of Phlorotannins from Brown Algae by LC-HRMS, *Methods Mol. Biol.*, 2015, no. 1308, pp. 253–266. doi 10.1007/978-1-4939-2684-8_16

Molyneux, P., The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 2004, vol. 26, no. 2, pp. 211–219.

Murray, M., Dordevic, A.L., Ryan, L., and Bonham, M.P., An emerging trend in functional foods for the prevention of cardiovascular disease and diabetes: Marine algal polyphenols, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2018, vol. 58, no. 8, pp. 1342–1358. doi 10.1080/10408398.2016.1259209

Pádua, D., Rocha, E., Gargiulo, D., and Ramos, A.A., Bioactive compounds from brown seaweeds: Phloroglucinol, fucoxanthin and fucoidan as promising therapeutic agents against breast cancer, *Phytochemistry Letters*, 2015, vol. 14, pp. 91–98. doi 10.1016/j.phytol.2015.09.007

Quackenbush, R.C., Bunn, D., and Lingren, W., HPLC determination of phenolic acids in the water-soluble extract of *Zostera marina* L. (eelgrass), *Aquatic Botany*, 1986, vol. 24, no. 1, pp. 83–89. doi 10.1016/0304-3770(86)90119-1

Rajauria, G., Optimization and validation of reverse phase HPLC method for qualitative and quantitative assessment of polyphenols in seaweed, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2018, vol. 148, pp. 230–237. doi 10.1016/j.jpba.2017.10.002

Shibata, T., Ishimaru, K., Kawaguchi, S., Yoshikawa, H., and Hama, Y., Antioxidant activities of phlorotannins isolated from Japanese Laminariaceae, *J. Appl. Phycol.*, 2008, vol. 20, pp. 705–711. doi 10.1007/s10811-007-9254-8

Thomas, N.V. and Kim, S.-K., Potential pharmacological applications of polyphenolic derivatives from marine brown algae, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 2011, vol. 32, no. 3, pp. 325–335. doi 10.1016/j.etap.2011.09.004

Tomás-Barberán, F.A., Ferreres, F., and Gil, M.I., Antioxidant phenolic metabolites from fruit and vegetables and changes during postharvest storage and processing, *Studies in Natural Products Chemistry*, 2000, vol. 23, pp. 739–795. doi 10.1016/S1572-5995(00)80141-6

Wagner, H. and Bladt, S., *Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas*, Berlin, Germany: Springer, 1996.

Sostoyaniye promyslovykh resursov Dal'nevostochnogo rybnokhozyaystvennogo basseyna. Prognoz obshchego vylova gidrobiontov na 2020 g. (kratkaya versiya) (The state of the fishery resources of the Far Eastern fishery basin. Forecast of the total catch of aquatic organisms for 2020 (short version)), Vladivostok: TINRO, 2020.

Поступила в редакцию 18.02.2021 г.

После доработки 16.04.2021 г.

Принята к публикации 21.05.2021 г.