

УДК 582.284:547.[56 + 57 + 58]:543.422.3  
<https://doi.org/10.33380/3034-3925-2025-2-2-29>

## Методика определения суммы фенольных соединений в грибе *Climacodon septentrionalis* (Fr.) P. Karst.

Н. И. Мандрик<sup>1</sup>✉, Д. И. Савицкая<sup>1</sup>, Р. И. Лукашов<sup>1</sup>, М. Н. Пovyдыш<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет» (БГМУ). 220083, Республика Беларусь, г. Минск, проспект Дзержинского, д. 83

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, литера А

✉ Контактное лицо: Мандрик Наталья Ивановна. E-mail: natali.mandrik.97@gmail.com

ORCID: Н. И. Мандрик – <https://orcid.org/0009-0004-5239-5902>;  
Д. И. Савицкая – <https://orcid.org/0009-0009-6438-1774>;  
Р. И. Лукашов – <https://orcid.org/0000-0001-5234-6319>;  
М. Н. Пovyдыш – <https://orcid.org/0000-0002-7768-9059>.

Статья поступила: 02.04.2025

Статья принята в печать: 14.04.2025

Статья опубликована: 18.04.2025

### Резюме

**Введение.** Паразитарный гриб климакодон северный (*Climacodon septentrionalis* (Fr.) P. Karst.) на данный момент малоизучен, но известно, что он обладает антиоксидантной активностью, что может быть использовано в медицине. На территории Республики Беларусь зарегистрирован лишь один лекарственный препарат грибного происхождения и ряд биологически активных добавок к пище. Отсутствует информация об оптимальных методах и методиках получения извлечения из сырья грибного происхождения с максимально возможным содержанием фенольных соединений, а также методики их определения.

**Цель.** Разработать методику определения суммы фенольных соединений в грибе *Climacodon septentrionalis*.

**Материалы и методы.** Объектом исследования являлись плодовые тела гриба климакодона северного, выращенные в естественных условиях и хранящиеся при температуре  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . В ходе исследования использовались следующие реактивы: реактив Фолина – Чиокалтеу (ООО «Аналит Комплект», Россия), натрий углекислый безводный (х.ч., ООО «АО РЕАХИМ», Россия), спирт этиловый технический (марки «Экстра-М», 96,41 %), вода очищенная; стандарт – галловая кислота (98 %, Acros Organics BVBA, Бельгия); оборудование: весы аналитические Explorer EX125D, спектрофотометр SOLAR PB 2201, плитка электрическая Goodhelper ES-10P10, баня водяная WB-12, аквадистиллятор электрический АЭ-25.

**Результаты и обсуждение.** Оптимальным способом извлечения фенольных соединений из климакодона северного является экстрагирование водой при температуре  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  и соотношении сырье:экстрагент 1:20 в течение 150 мин однократно. Извлечение оставляют для остывания при комнатной температуре, процеживают через ватный тампон, доводят при необходимости водой до исходного объема. При определении суммы фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту рекомендуется использовать 0,10 мл извлечения, 0,45 мл реактива Фолина – Чокалтеу, перемешивание, добавление 5,25 мл 10%-го раствора натрия карбоната, перемешивание, время реакции 16 мин, измерение оптической плотности при длине волны 760 нм.

**Заключение.** Концентрация суммы фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту в полученном извлечении составляет  $202 \pm 5$  мкг/мл или  $0,41 \pm 0,01$  % при пересчете на сырую массу сырья климакодона северного.

**Ключевые слова:** грибы, климакодон северный, *Climacodon septentrionalis*, фенольные соединения, реактив Фолина – Чокалтеу, методика

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Н. И. Мандрик, Д. И. Савицкая провели исследование методом спектрофотометрии и обработали данные. Р. И. Лукашов разработал дизайн эксперимента, участвовал в обработке данных. М. Н. Пovyдыш оказывала методологическую помощь, заготавливала образцы. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и написании текста статьи.

**Для цитирования:** Мандрик Н. И., Савицкая Д. И., Лукашов Р. И., Пovyдыш М. Н. Методика определения суммы фенольных соединений в грибе *Climacodon septentrionalis* (Fr.) P. Karst. *Гербарум*. 2025;2(2):30–40. <https://doi.org/10.33380/3034-3925-2025-2-2-29>

## Methodology for determining the sum of phenolic compounds in the mushroom *Climacodon septentrionalis* (Fr.) P. Karst.

Natalia I. Mandryk<sup>1</sup>✉, Diana I. Savitskaya<sup>1</sup>, Raman I. Lukashou<sup>1</sup>, Maria N. Povydysh<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Educational institution "Belarusian State Medical University". 83, Dzerzhinsky Avenue, Minsk, 220083, Republic of Belarus

<sup>2</sup> Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Olga V. Trineeva. **E-mail:** natali.mandrik.97@gmail.com

**ORCID:** Natalia I. Mandryk – <https://orcid.org/0009-0004-5239-5902>;  
Diana I. Savitskaya – <https://orcid.org/0009-0009-6438-1774>;  
Raman I. Lukashou – <https://orcid.org/0000-0001-5234-6319>;  
Maria N. Povydysh – <https://orcid.org/0000-0002-7768-9059>.

**Received:** 02.04.2025

**Accepted:** 14.04.2025

**Published:** 18.04.2025

### Abstract

**Introduction.** The parasitic fungus *Climacodon septentrionalis* (Fr.) P. Karst. has been little studied at the moment, but it is known to have antioxidant activity, which can be used in medicine. Only one medicinal product of fungal origin and a number of biologically active food supplements are registered in the Republic of Belarus. There is no information on the optimal methods and techniques for obtaining an extract from raw materials of fungal origin with the maximum possible content of phenolic compounds, as well as methods for their determination.

**Alm.** To develop a method for determining the content of phenolic compounds in the fungus *Climacodon septentrionalis*.

**Materials and methods.** The object of the study was the fruiting bodies of the northern *Climacodon* mushroom (*C. septentrionalis*), grown in natural conditions and stored at a temperature of –18 °C. The following reagents were used in the study: Folin – Ciocalteu reagent (LLC "Analit Komplekt", Russia), anhydrous sodium carbonate (reagent grade, LLC "JSC REAKHIM", Russia), technical ethyl alcohol Extra-M 96.41 %, purified water; gallic acid standard (98 %, Acros Organics BVBA, Belgium); equipment: Explorer EX125D analytical scales, SOLAR PB 2201 spectrophotometer, Good-helper ES-10P10 electric hotplate, WB-12 water bath, AE-25 electric water dis-tiller.

**Results and discussion.** The optimal method for extracting phenolic compounds from northern *Climacodon* is extraction with water at a temperature of 100 °C and a raw material: extractant ratio of 1:20 for 150 minutes once, draining the liquid into a separate closed container, leaving it to cool at room temperature, filtering through a cotton swab, bringing it to the original volume with water if necessary. When determining the amount of phenolic compounds in terms of gallic acid, it is recommended to use 0.10 ml of the extract, 0.45 ml of Folin – Ciocalteu reagent, stirring, adding 5.25 ml of 10 % sodium carbonate solution, stirring, reaction time – 16 minutes, measuring the optical density at a wavelength of 760 nm.

**Conclusion.** The concentration of the sum of phenolic compounds in terms of gallic acid in the obtained extract is  $202 \pm 5 \mu\text{g/ml}$  or the mass fraction when converted to the wet weight of *C. septentrionalis* is  $0.41 \pm 0.01 \%$ .

**Keywords:** mushrooms, *Climacodon septentrionalis*, phenolic compounds, Folin – Ciocalteu reagent, methodology

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Natalia I. Mandryk, Diana I. Savitskaya conducted the study using spectrophotometry and processed the data. Raman I. Lukashou developed the design of the experiment, participated in data processing. Maria N. Povydysh provided methodological assistance, prepared samples. All authors participated in the discussion of the results and writing the text of the article.

**For citation:** Mandryk N. I., Savitskaya D. I., Lukashou R. I., Povydysh M. N. Methodology for determining the sum of phenolic compounds in the mushroom *Climacodon septentrionalis* (Fr.) P. Karst. *Herbarium*. 2025;2(2):30–40. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/3034-3925-2025-2-2-29>

## Введение

**В** настоящее время известно, что грибы содержат разнообразные биологически активные вещества, но практически не используются в современной медицине и фармации, в связи с чем в полной мере не реализуется весь их ресурсный потенциал. Особый интерес представляют исследования низкомолекулярных вторичных метаболитов грибов. На территории Республики Беларусь зарегистрирован лишь один лекарственный препарат грибного происхождения и ряд биологически активных добавок к пище<sup>1,2</sup>, в связи с этим отсутствует информация об оптимальных методах и методиках получения извлечения из сырья грибного происхождения с максимально возможным содержанием фенольных соединений (ФС), а также методики их определения.

Большое разнообразие ФС и различия в их реакционной способности обуславливают наличие большого количества методов их определения. К основным методам определения компонентного состава ФС в растительном сырье относятся газовая хроматография и высокоэффективная жидкостная хроматография, или их комбинация с масс-спектрометрией, а также капиллярный электрофорез. Данные методы анализа требуют дорогостоящего оборудования, специальной пробоподготовки. ВЭЖХ часто включает определение ограниченной группы соединений из-за высокой стоимости большого количества стандартов и неустановленной структуры некоторых представителей полифенолов. Также данный метод обычно не учитывает содержание танинов, фенольных дитерпенов и летучих ФС. Спектрофотометрические методики определения ФС являются ограниченно селективными, что приводит к завышенной или заниженной оценке содержания [1, 2].

В то же время спектрофотометрические методики активно используются для количественного определения содержания ФС благодаря их простоте, экспрессности, высокой чувствительности. Существуют методики, основанные на собственном поглощении ФС в ультрафиолетовой и видимой части спектра, а также на применении реактивов Фолина – Чокальтеу (ФЧ) и Фолина – Дениса, ионов металлов ( $Al^{3+}$ ) или их комплексных соединений [1, 3–5].

Реактивы ФЧ и Фолина – Дениса чаще других используются для спектрофотометрического определения суммы ФС. Они представляют собой смесь молибдодольфраматных гетерополикомплексов структу-

ры Доусона. Данная смесь преимущественно состоит из членов ряда разнолигандных гетерополианионов, формула которых  $P_2Mo_nW_{18-n}O_{62}^{6-}$  ( $n = 4–5$ ). В состав реактива Фолина – Дениса входят только натриевые соли, а в реактив ФЧ на стадии синтеза вводят соли лития (I) с целью предотвращения образования малорастворимых солей в ходе анализа [1].

Метод определения ФС, основанный на использовании данных реактивов, обладает достаточно высокой чувствительностью, надежностью, воспроизводимостью. Однако оба реактива способны вступать в реакцию как с более сильными, чем ФС, восстановителями (например, аскорбиновая кислота), так и с менее реакционноспособными веществами (простые фенолы, аминокислоты, восстанавливающие сахара), что приводит к искаженным результатам исследования. Также данный метод характеризуется необходимостью работы в сильнощелочной среде ( $pH = 11,4$ ) для увеличения глубины окисления ФС, понижением растворимости натриевых солей гетерополианионов реактива ФЧ при работе со спиртовыми экстрактами, нелинейностью градуировочной функции (метод не подходит для определения содержания индивидуальных ФС), необходимостью использования высоких концентраций реактива для замедления нежелательных процессов разрушения окисленной и восстановленной форм реактива в сильнощелочной среде [1].

Для полного окисления даже наиболее активных ФС требуется продолжительное время. Так, для кверцетина светопоглощение перестает увеличиваться после 10 мин взаимодействия, а для рутина – после 30 мин. Наличие в объекте анализа менее реакционноспособных ФС требует увеличения времени проведения реакции. При этом чаще всего ограничиваются компромиссным временем 20–30 мин [1].

При взаимодействии ФС с реактивом ФЧ важную роль играет соотношение концентраций реактивов: фенол. Так как при изменении данного соотношения вид спектров поглощений не одинаков, можно предположить образование двух форм гетерополикомплексов: двухэлектронной с максимумом поглощения при 760–780 нм и четырехэлектронной с максимумом поглощения при значительно меньших длинах волн [1].

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что для каждого вида растительного сырья и сырья грибного происхождения необходимо подбирать оптимальные параметры для проведения исследования содержания ФС.

В качестве объекта исследования был выбран паразитарный гриб климакодон северный, который малоизучен, но обладает антиоксидантной активностью, что может быть использовано в медицине. Данный вид активности может быть связан как с по-

<sup>1</sup> Реестры УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении». Доступно по: <https://www.rceth.by/Refbank>. Ссылка активна на 15.12.2024.

<sup>2</sup> Единый реестр свидетельств о государственной регистрации. Доступно по: <https://nsi.eaeunion.org/portal/1995>. Ссылка активна на 15.12.2024.

лисахаридами, так и с фенольными соединениями, в структуре которых есть фенольные гидроксилы, образующие водородные связи со свободными радикалами, что будет снижать их негативное влияние на клетки [6, 7].

**Цель:** разработать методику определения суммы фенольных соединений в грибе *Climacodon septentrionalis*.

## Материалы и методы

### Реактивы и растворы

В ходе исследования использовались следующие реактивы: реактив Фолина – Чокалтеу (ООО «Аналит Комплект», Россия), натрий углекислый безводный (х.ч., ООО «АО РЕАХИМ», Россия), спирт этиловый технический (марки «Экстра-М», 96,41 %), вода очищенная; стандарт – галловая кислота (98 %, Acros Organics BVBA, Бельгия).

### Оборудование

Весы аналитические Explorer EX125D, спектрофотометр SOLAR PB 2201, баня водяная WB-12, аквади-стилятор электрический АЭ-25.

### Условия проведения испытания

Извлечение ФС из сырья осуществляли путем экстрагирования на водяной бане с обратным холодильником. Далее извлечение сливали без кусочков гриба в отдельную колбу, горло которой затягивали герметизирующей пленкой Parafilm®. Охлажденное до комнатной температуры извлечение процеживали через ватный тампон в мерную колбу и доводили объем до метки растворителем (данный шаг отличался на этапе подбора способа разделения).

На каждом этапе проводили определение суммы ФС спектрофотометрическим методом с использованием реактива ФЧ [8]. Исследование проводили в трех повторностях. Расчет суммы фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту осуществляли с использованием метода градуировочного графика, полученного ранее (рисунок 1) [9].

Статистическую обработку результатов химического эксперимента осуществляли с использованием пакета «Анализ данных» компьютерной программы Microsoft Office Excel 2019. Все результаты были представлены в виде среднего значения и полуширины доверительного интервала. Для оценки значимости отличий по степени извлечения ФС из сырья при разных условиях был использован t-критерий Стьюдента (сравнивали два значения с наибольшим значением суммы ФС в пересчете на галловую кислоту).

С учетом отличий в общем объеме реакционной смеси при построении градуировочного графика и исследовании анализируемого образца по оптимизированной методике возникла необходимость пересчета концентрации, найденной по градуировочному графику, для извлечения, полученного в результате экстракции. Данный пересчет осуществлялся по формуле:

$$X = \frac{C \times V_1}{V_2},$$

где  $C$  – содержание ФС в пересчете на галловую кислоту, найденное по градуировочному графику, мкг/мл;  $V_1$  – объем реакционной смеси с анализируемым извлечением, мл (5,80 мл);  $V_2$  – объем реакционной смеси с раствором галловой кислоты, мл (10,0 мл).

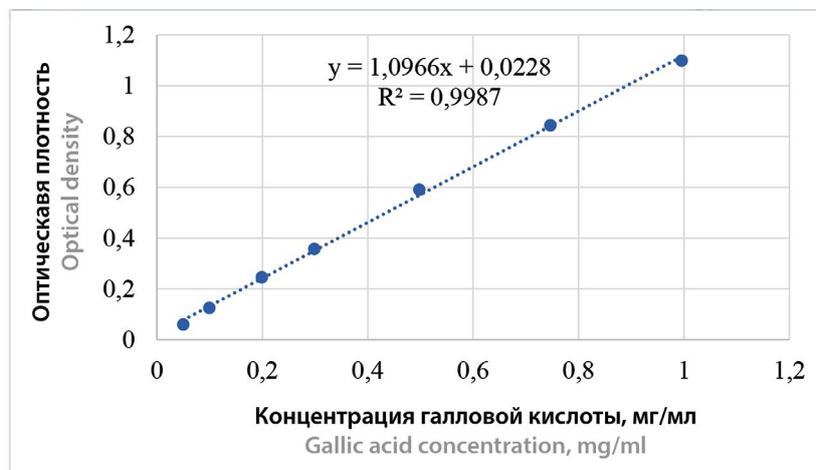


Рисунок 1. Зависимость оптической плотности раствора от концентрации галловой кислоты

Figure 1. Dependence of the optical density of the solution on the concentration of gallic acid

Расчет суммы ФС в пересчете на галловую кислоту ( $\omega$ , %) в сыром грибе производился по формуле:

$$\omega = \frac{X \times V}{m \times 10^6} \times 100,$$

где  $X$  – содержание ФС в пересчете на галловую кислоту в анализируемом извлечении, мкг/мл;  $V$  – объем полученного извлечения, мл;  $m$  – масса сырья, г.

### Объект исследования

В рамках данного исследования были использованы плодовые тела гриба климакодона северного (*Climacodon septentrionalis*), заготовленные в естественных условиях обитания и хранящиеся при температуре  $-18^\circ\text{C}$ .

### Результаты и обсуждение

Методику экстракции оптимизировали в следующей последовательности: подбор экстрагента, температуры, времени экстракции, соотношения сырье: экстрагент, а также кратности экстракции.

При подборе экстрагента исследовали наиболее доступные и безопасные для применения растворители – воду, спирт этиловый 30%-й, спирт этиловый 40%-й, спирт этиловый 70%-й, спирт этиловый 96%-й. Постоянные условия:  $T = 100^\circ\text{C}$ ,  $t = 60$  мин, соотношение сырье:экстрагент 1:8. По рисунку 2 и результатам статистической обработки ( $P = 95\%$ ;  $t_{\text{кр.}} = 2,78$ ;  $t = 6,55$ ) установлено, что наибольшее извлечение ФС из климакодона северного наблюдали при экстрагировании водой.

При подборе температуры экстракции проводили исследования при комнатной температуре ( $20^\circ\text{C}$ ),  $40$ ,  $60$ ,  $80$  и  $100$  (кипящая водяная баня)  $^\circ\text{C}$ . Постоян-

ные условия: экстрагент – вода,  $t = 60$  мин, соотношение сырье:экстрагент 1:8. По рисунку 3 и результатам статистической обработки ( $P = 95\%$ ;  $t_{\text{кр.}} = 2,78$ ;  $t = 10,33$ ) установлено, что наибольшее извлечение ФС наблюдали при температуре  $100^\circ\text{C}$ , так как при повышении температуры происходит интенсификация экстракции ФС.

Экстракцию проводили в течение 30, 60, 90, 120, 150 и 180 мин. Постоянные условия: экстрагент – вода,  $T = 100^\circ\text{C}$ , соотношение сырье:экстрагент 1:8. По рисунку 4 и результатам статистической обработки ( $P = 95\%$ ;  $t_{\text{кр.}} = 2,78$ ;  $t = 7,44$ ) показано, что наибольшее извлечение суммы ФС наблюдали при экстрагировании в течение 150 мин.

Исследовали следующие соотношения сырье:экстрагент (г:мл) – 1:5, 1:8, 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30. Постоянные условия: экстрагент – вода,  $T = 100^\circ\text{C}$ ,  $t = 150$  мин. По представленному рисунку 5 и результатам статистической обработки ( $P = 95\%$ ;  $t_{\text{кр.}} = 2,78$ ;  $t = 3,11$ ) показано, что наибольшее извлечение суммы ФС наблюдалось при соотношении сырье:экстрагент 1:20. Близкое значение получено для соотношения 1:8, но рекомендуется использовать соотношение 1:20, при котором будет больше градиент концентраций ФС в сырье и экстрагенте, а также меньший расход сырья для получения извлечения.

С учетом возможного практического применения экстракции определяли степень извлечения ФС при однократной и двукратной экстракции. Постоянные условия: экстрагент – вода,  $T = 100^\circ\text{C}$ ,  $t = 150$  мин, соотношение сырье:экстрагент 1:20. При двукратной экстракции первую порцию извлечения сливали в отдельную емкость, в колбу с остатками гриба после первой экстракции добавляли точный объем экстрагента, помещали на водяную баню на 150 мин, затем сливали в отдельную емкость, охлаждали до ком-

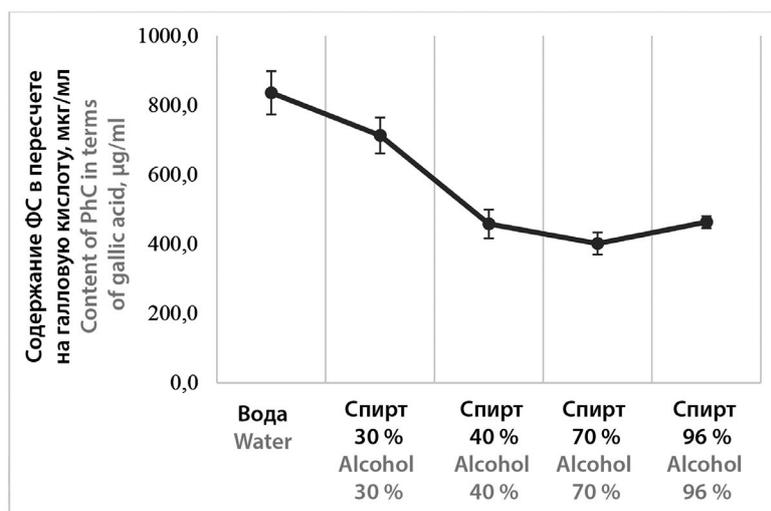


Рисунок 2. Зависимость содержания ФС в пересчете на галловую кислоту от вида экстрагента

Figure 2. Dependence of the content of PhC in terms of gallic acid on the type of extractant

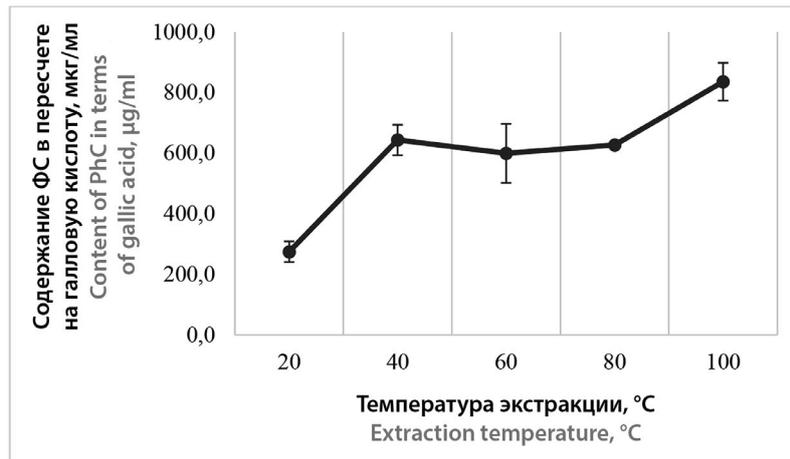


Рисунок 3. Зависимость содержания ФС в пересчете на галловую кислоту от температуры экстракции

Figure 3. Dependence of the content of PhC in terms of gallic acid on the extraction temperature

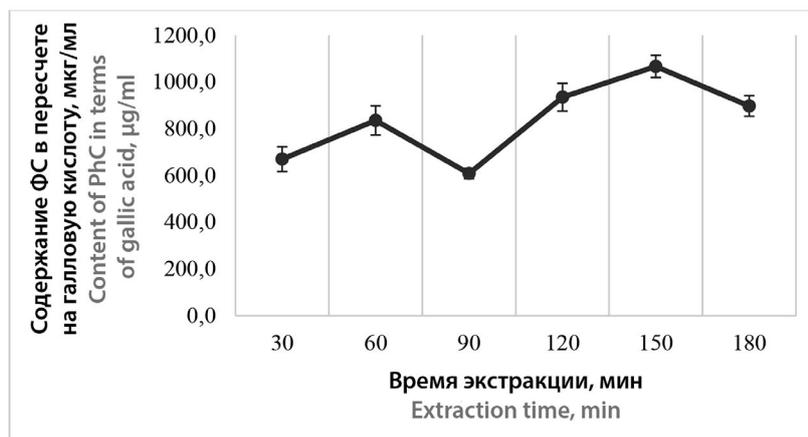


Рисунок 4. Зависимость содержания ФС в пересчете на галловую кислоту от времени экстракции

Figure 4. Dependence of the content of PhC in terms of gallic acid on the extraction time

натной температуры, объединяли охлажденные извлечения, процеживали в мерную колбу и доводили объем до метки; учитывали больший объем полученного извлечения в расчетах для возможности сопоставления результатов. При однократной экстракции сумма ФС в пересчете на галловую кислоту составила  $348 \pm 68,8$  мкг/мл, при двукратной –  $191,1 \pm 15,7$  мкг/мл. Трехкратную и другие варианты нецелесообразно изучать в связи с длительностью процесса (7,5 ч и более на кипящей водяной бане) и статистически значимым снижением степени извлечения ФС даже при двукратной экстракции ( $P = 95\%$ ;  $t_{кр.} = 2,78$ ;  $t = 8,53$ ). Рекомендуется проводить однократную экстракцию.

Поскольку в извлечение могут переходить балластные вещества, растворимость которых при остывании снижается и которые могут адсорбировать

на себе ФС, а также мелкие частички гриба, возникает необходимость в их отделении от извлечения. Поэтому следует подобрать метод с наименьшими потерями ФС. В качестве возможных методов разделения были выбраны отстаивание, процеживание через ватный тампон, двойное процеживание (извлечение процеживали через ватный тампон в отдельную емкость, затем снова процеживали через новый ватный тампон в мерную колбу, вымывая впитанное в вату извлечение водой при доведении до метки), фильтрация с помощью фильтровальной бумаги «белая лента» и центрифугирование. Постоянные условия: экстрагент – вода,  $T = 100\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $t = 150$  мин, соотношение сырье:экстрагент 1:20, однократная экстракция. После каждого метода разделения извлечение собирали в мерную колбу и доводили до нужного объема. По рисунку б и результатам статисти-

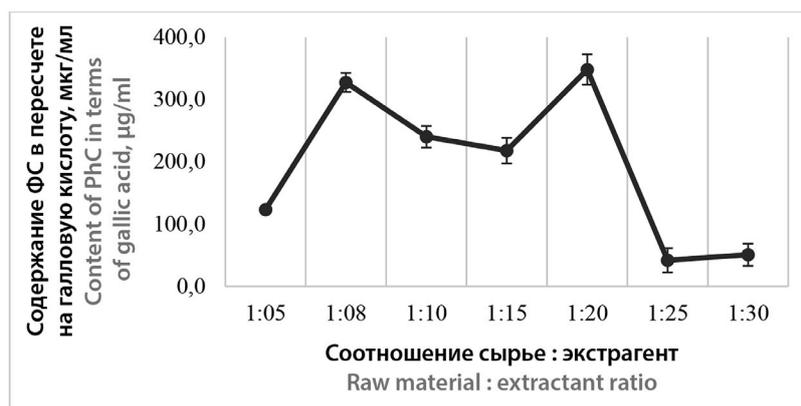


Рисунок 5. Зависимость содержания ФС в пересчете на галловую кислоту от соотношения сырье : экстрагент

Figure 5. Dependence of the content of PhC in terms of gallic acid on the ratio of raw materials : extractant

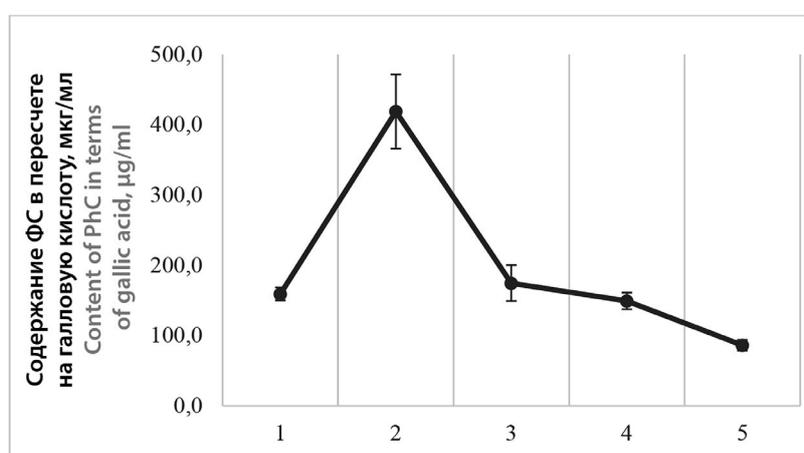


Рисунок 6. Зависимость содержания ФС в пересчете на галловую кислоту от метода разделения:

1 – отстаивание, 2 – процеживание, 3 – двойное процеживание, 4 – фильтрация, 5 – центрифугирование

Figure 6. Dependence of the content of PhC in terms of gallic acid on the separation method:

1 – settling, 2 – percolation, 3 – double percolation, 4 – filtration, 5 – centrifugation

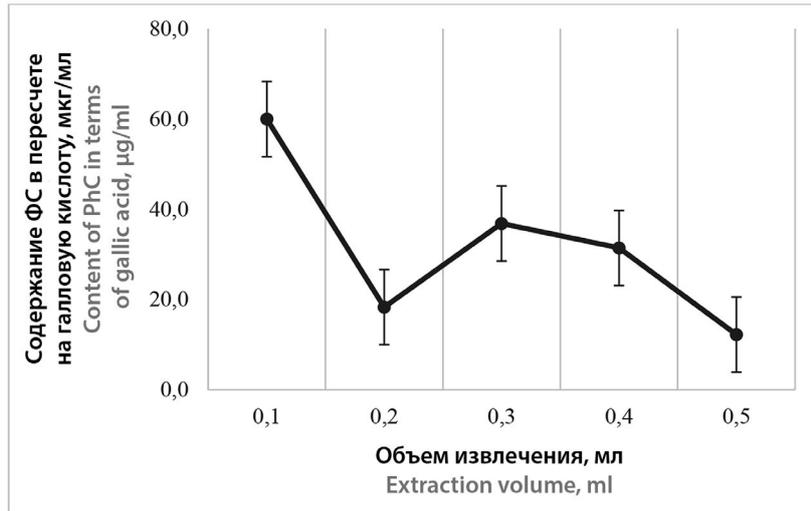
ческой обработки ( $P = 95\%$ ;  $t_{кр.} = 2,78$ ;  $t = 17,9$ ) показано, что наибольшее количество ФС сохраняется при однократном процеживании через ватный тампон. При отстаивании извлечения возможно осаждение ФС на балластных веществах. При двойном процеживании, фильтрации большое количество ФС остается на вспомогательном материале, при центрифугировании осаждается совместно с осадком.

Далее осуществляли оптимизацию параметров методики определения суммы ФС в пересчете на галловую кислоту с реактивом ФЧ в следующей последовательности: подбор объема извлечения, объема реактива ФЧ, объема 10%-го раствора натрия карбоната, времени реакции, длины волны, объема воды для разбавления раствора.

Исследовали следующие объемы извлечений: 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 и 0,5 мл (все полученные значения опти-

ческих плотностей были приведены к одинаковому объему извлечения для возможности сопоставления полученных результатов; также для каждого извлечения был использован компенсационный раствор с пересчитанным объемом 10%-го раствора натрия карбоната). Постоянные условия: количество реактива ФЧ – 0,15 мл, количество 10%-го раствора натрия карбоната – 4,76 мл, количество воды – до 10 мл, время реакции – 30 мин, длина волны – 760 нм. По данным, представленным на рисунке 7, и результатам статистической обработки ( $P = 95\%$ ;  $t_{кр.} = 2,78$ ;  $t = 5,45$ ) показано, что наибольшее содержание ФС определено при использовании 0,1 мл извлечения.

Исследовали следующие объемы реактива ФЧ: 0,10; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30; 0,35; 0,40; 0,45; 0,50; 0,55; 0,60 мл. Постоянные условия: количество извлече-



**Рисунок 7.** Зависимость содержания ФС в пересчете на галловую кислоту от объема извлечения

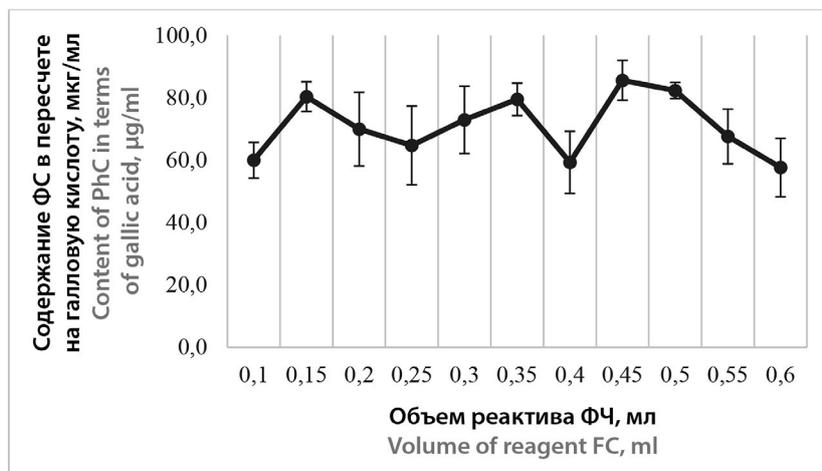
**Figure 7.** Dependence of the content of PhC in terms of gallic acid on the volume of extraction

ния – 0,10 мл, количество 10%-го раствора натрия карбоната – 4,76 мл, количество воды – до 10 мл, время реакции – 30 мин, длина волны – 760 нм. По данным, представленным на рисунке 8, и результатам статистической обработки ( $P = 95\%$ ;  $t_{кр.} = 2,78$ ;  $t = 2,82$ ) показано, что наибольшее содержание определено при использовании 0,45 мл реактива ФЧ.

Исследовали объемы 10%-го раствора натрия карбоната: 4,00; 4,45; 4,76; 4,90; 5,00; 5,10; 5,20; 5,25; 5,30; 5,40; 5,50 и 5,60 мл (были учтены и при приготовлении компенсационных растворов). Постоянные условия: количество извлечения – 0,10 мл, количество реактива ФЧ – 0,45 мл, количество воды – до 10 мл, время реакции – 30 мин, длина волны – 760 нм. По данным, представленным на рисунке 9, и результа-

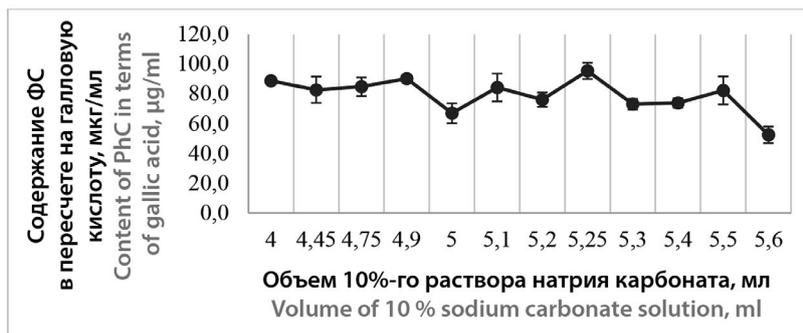
там статистической обработки ( $P = 95\%$ ;  $t_{кр.} = 2,78$ ;  $t = 4,06$ ) показано, что наибольшее содержание определено при использовании 5,25 мл 10%-го раствора натрия карбоната.

При исследовании времени реакции регистрировали оптическую плотность раствора каждые 2 мин на протяжении 120 мин. Постоянные условия: количество извлечения – 0,10 мл, количество реактива ФЧ – 0,45 мл, количество 10%-го раствора натрия карбоната – 5,25 мл, количество воды – 4,20 мл, длина волны – 760 нм. На рисунке 10 видно, что оптическая плотность раствора через 16 мин реакции значительно не изменяется, то есть все ФС вступили в реакцию с образованием гетерополикомплексов.



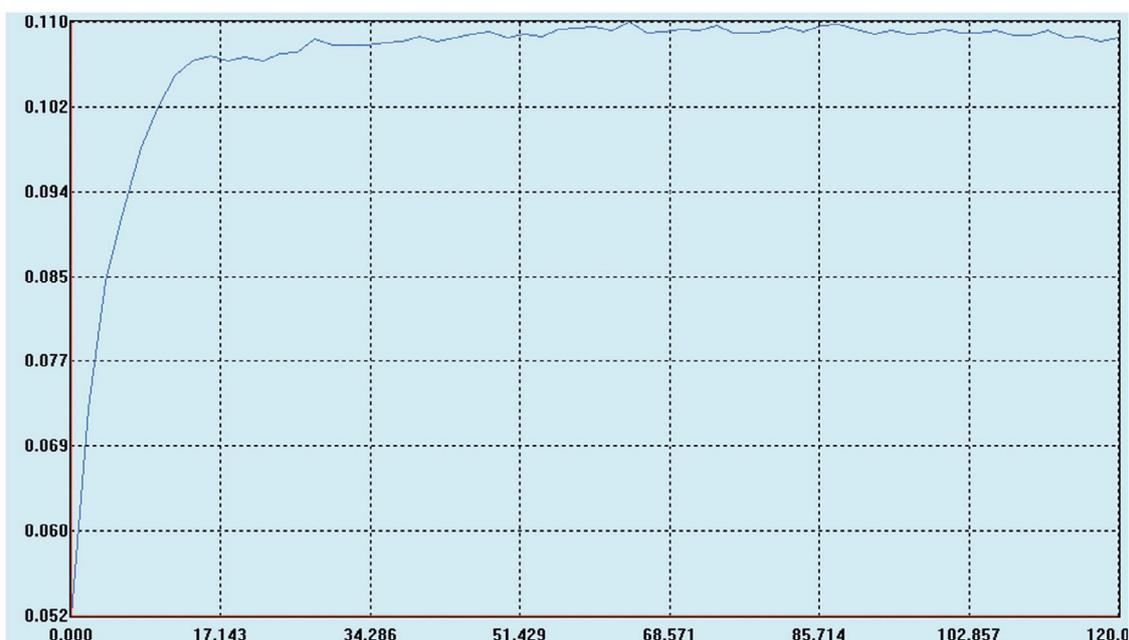
**Рисунок 8.** Зависимость содержания ФС в пересчете на галловую кислоту от объема реактива ФЧ

**Figure 8.** Dependence of the content of FS in terms of gallic acid on the volume of the FC reagent



**Рисунок 9.** Зависимость содержания ФС в пересчете на галловую кислоту от объема 10%-го раствора натрия карбоната

**Figure 9.** Dependence of the content of PhC in terms of gallic acid on the volume of 10 % sodium carbonate solution



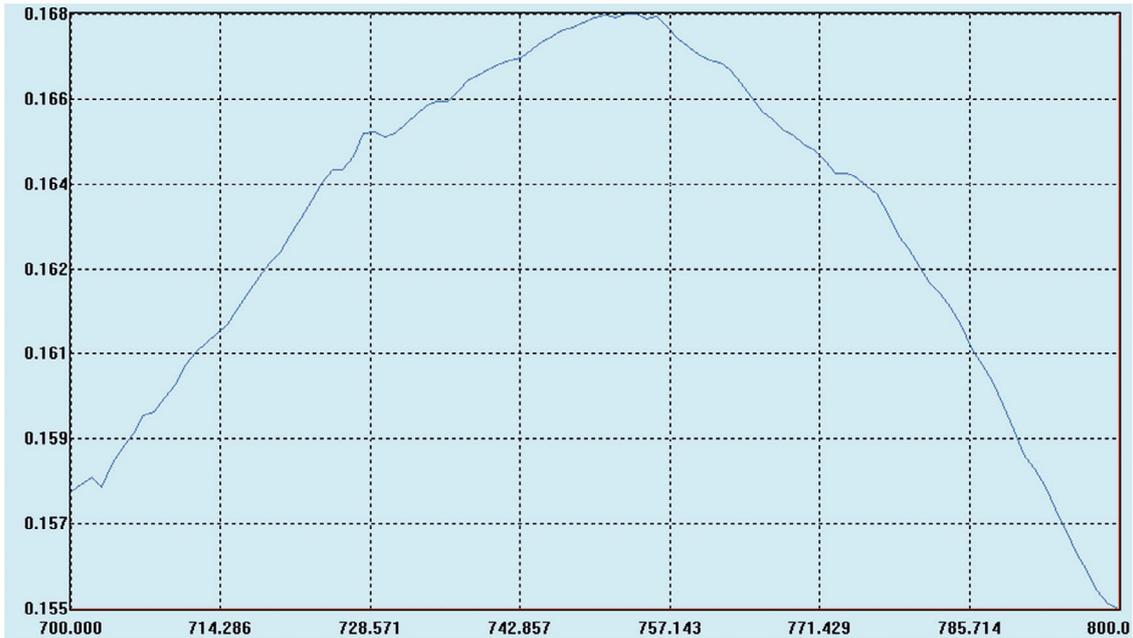
**Рисунок 10.** Зависимость оптической плотности раствора от времени реакции

**Figure 10.** Dependence of the optical density of the solution on the reaction time

Для определения оптимальной длины волны снимали спектры извлечения в диапазоне длин волн от 700 нм до 800 нм. Постоянные условия: количество извлечения – 0,10 мл, количество реактива ФЧ – 0,45 мл, количество 10%-го раствора натрия карбоната – 5,25 мл, количество воды – 4,20 мл, время реакции – 16 мин. На рисунке 11 видно, что оптическая плотность раствора в диапазоне длин волн 740–765 нм значительно не изменяется. Поскольку в литературных источниках часто встречаются методики определения ФС с использованием реактива ФЧ при 760 нм, данную длину волны можно использовать и в анализе извлечения из климакодона северного.

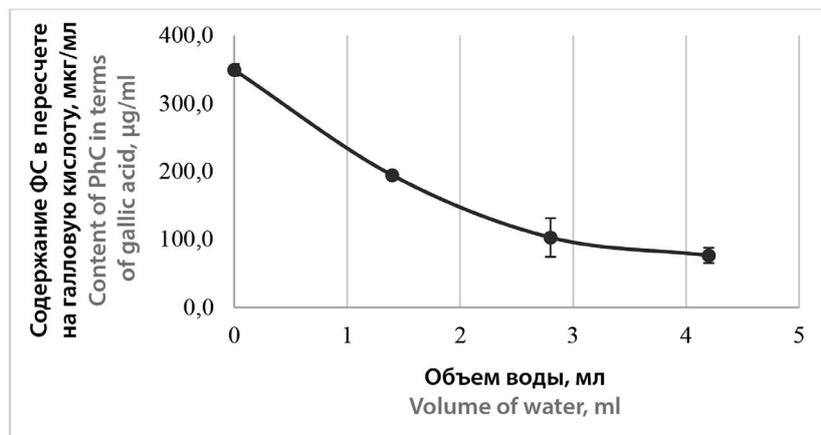
На рисунках 10 и 11 видно, что растворы имеют низкие значения оптической плотности, что исправлено на следующем этапе.

Для уменьшения погрешности измерения оптической плотности прибора проведена проверка влияния разбавления водой на содержание ФС в извлечении. Использовали растворы, в которые воду не добавляли, а также с добавлением 1,4; 2,8 и 4,2 мл воды. Все полученные значения оптических плотностей были приведены к одинаковому объему раствора для возможности сопоставления результатов. Постоянные условия: количество извлечения – 0,10 мл, количество реактива ФЧ – 0,45 мл, количество 10%-го раствора натрия карбоната – 5,25 мл, время реак-



**Рисунок 11.** Зависимость оптической плотности раствора от длины волны

**Figure 11.** Dependence of the optical density of the solution on the wavelength



**Рисунок 12.** Зависимость содержания ФС в пересчете на галловую кислоту от объема воды

**Figure 12.** Dependence of the content of PhC in terms of gallic acid on the volume of water

ции – 16 мин, длина волны – 760 нм. По данным, представленным на рисунке 12, и результатам статистической обработки ( $P = 95\%$ ;  $t_{кр.} = 2,78$ ;  $t = 67,5$ ) показано, что наибольшая сумма ФС наблюдалась, если не добавлять воду к реакционной смеси.

Таким образом, концентрация суммы фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту, найденная по уравнению градуировочного графика, составляет  $349 \pm 8$  мкг/мл. Концентрация суммы ФС в пересчете на галловую кислоту в полученном извлечении составляет  $202 \pm 5$  мкг/мл или массовая доля при пересчете на сырую массу климакодона северного –  $0,41 \pm 0,01\%$ .

## Заключение

Оптимальным способом извлечения ФС из климакодона северного является экстрагирование водой при температуре  $100\text{ }^\circ\text{C}$  и соотношении сырье: экстрагент 1:20 в течение 150 мин однократно, сливание жидкости в отдельную закрытую емкость, остывание до комнатной температуры и процеживание через ватный тампон, доведение водой до нужного объема раствора.

При определении суммы ФС в пересчете на галловую кислоту рекомендуется использовать 0,10 мл извлечения, 0,45 мл реактива ФЧ, перемешивание,

добавление 5,25 мл 10%-го раствора натрия карбоната, перемешивание, время реакции 16 мин, измерение оптической плотности при длине волны 760 нм.

Концентрация суммы ФС в пересчете на галловую кислоту в полученном извлечении составляет  $202 \pm 5$  мкг/мл, или массовая доля при пересчете на сырую массу климакодона северного –  $0,41 \pm 0,01$  %.

### Литература / References

1. Denisenko T. A., Vishnikin A. B., Tsiganok L. P. Reaction features of 18-molibdodiphosphate and Folin-Ciocalteu reagent with phenolic compounds. *Analytics and Control*. 2015;19(3):242–251. (In Russ.) DOI: 10.15826/analitika.2015.19.3.001.
2. Escarpa A., González M. C. Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. *Analytica Chimica Acta*. 2011;427(1):119–127. DOI: 10.1016/S0003-2670(00)01188-0.
3. Özyrek M., Güçlü K., Tütem E., Başkan K. S., Erçağ E., Çelik S. E., Baki S., Yıldız L., Karamanc Ş., Apak R. A comprehensive review of CUPRAC methodology. *Analytical Methods*. 2011;3(11):2439–2453.
4. Ignat I., Volf I., Popa V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*. 2011;126(4):1821–1835. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.12.026.
5. Jurd L. Aluminium complexes of phenolic flavones. Spectral and structural correlation. *Phytochemistry*. 1969;8(2):445–462. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)85447-3.
6. Wu J., Tsujimori M., Hirai H., Kawagishi H. Novel compounds from the mycelia and fruiting bodies of *Climacodon septentrionalis*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2011;75(4):783–785. DOI: 10.1271/bbb.100849.
7. Jia X., Zheng K., Liu S., Xu C. Optimization, Purification, Characterization, and Antioxidant Activity of Exopolysaccharide Produced by the Northern Tooth Mushroom, *Climacodon septentrionalis* (Basidiomycota). *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 2015;17(9):857–866.
8. Tsiarletskaia V., Lukashou R. Dynamics of the accumulation of phenolic compounds in *Taraxacum officinale* roots, leaves and flowers. *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2021;45(1):58–61.
9. Whaley A. K., Whaley A. O., Novikova V. V., Vasiliev V. O., Klemper A. V., Lukashov R. I., Mandrik N. I., Gurina N. S., Yakovlev G. P., Luzhanin V. G. Antimicrobial and Antioxidant Activity Screening of Mushrooms Growing in the Leningrad Region. *Drug development & registration*. 2023;12(4):111–125. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-4-1576.