



ВАЛИДАЦИЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПРОРОСТКАХ ЯЧМЕНЯ И ОВСА ДЛЯ СКРИНИНГА СТРЕССОУСТОЙЧИВЫХ ГЕНОТИПОВ

**Товстик Е.В.^{1*}, Окулова В.В.¹, Романова А.С.¹,
Шуплецова О.Н.²**

¹ Вятский государственный университет, Киров, Россия

² Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока
им. Н.В. Рудницкого, Киров, Россия

*E-mail: tovstik2006@inbox.ru

VALIDATION OF A SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR DETERMINING PHENOLIC COMPOUNDS IN BARLEY AND OAT SPROUTS FOR SCREENING STRESS-RESISTANT GENOTYPES

**Tovstik E.V.^{1*}, Okulova V.V.¹, Romanova A.S.¹,
Shuplecova O.N.²**

¹ Vyatka State University, Kirov, Russia

² Federal Agricultural Research Center of the North-East
named N.V. Rudnitsky, Kirov, Russia

*E-mail: tovstik2006@inbox.ru

Аннотация

В условиях возрастающей антропогенной нагрузки на агроэкосистемы актуальна разработка методов ранней диагностики устойчивости сельскохозяйственных культур к абиотическим стрессам. В качестве биохимических маркеров стрессоустойчивости перспективно использовать фенольные соединения (ФС), участвующие в нейтрализации активных форм кислорода, регуляции окислительно-восстановительных процессов, формировании барьерных функций клеточных стенок. Цель работы – валидация спектрофотометрической методики количественного определения ФС с реактивом Фолина-Чокальтеу в спиртовых и щелочных экстрактах из проростков ячменя (*Hordeum vulgare* L., сорт «Белгородский 100») и овса (*Avena sativa* L., сорт «Архан») для объективного скрининга их стрессоустойчивых генотипов. Экстракцию ФС из проростков проводили 70%-м этанолом и 2 н. раствором NaOH с последующей нейтрализацией 3 М HCl. Анализ выполняли на спектрофотометре ПЭ5300ВИ ($\lambda = 765$ нм). В качестве стандарта использовали галловую кислоту. Валидацию методики осуществляли по критериям линейности и повторяемости. Коэффициент корреляции (r) при этом составил 0.99; RSD – 1.5–4% для спиртовых и 2.1–3.2% для щелочных экстрактов. В ходе анализа получены сопоставимые значения общего содержания ФС в проростках ячменя ($17,64 \pm 0,39$ мг/г) и овса ($16,9 \pm 0,6$ мг/г) при щелочной экстракции; выявлена существенная разница в выходе свободной фракции ФС от их общего содержания в проростках при экстракции этанолом (35% – у ячменя, 14% – у овса). Методика спектрофотометрического определения содержания ФС с реактивом Фолина-Чокальтеу позволила получить сопоставимые и стабильные результаты при использовании в качестве экстрагентов ФС из проростков ячменя и овса этанола и щелочного раствора. Доказана валидность методики по характеристикам линейность и повторяемость, а также ее пригодность для скрининга стрессоустойчивых генотипов по уровню накопления свободных и общих ФС в их проростках.

Ключевые слова:

галловая кислота, реактив Фолина-Чокальтеу, фенольные соединения, зерновые культуры, проростки, экстракция, линейность, повторяемость, валидность методики

Поступила в редакцию: 03.01.2025
Принято в печать: 23.03.2026

Abstract

In conditions of increasing anthropogenic pressure on agroecosystems, it is important to develop methods for early diagnosis of crop resistance to abiotic stresses. As biochemical markers of stress resistance, it is promising to use phenolic compounds (PC) involved in the neutralization of reactive oxygen species, regulation of redox processes, and formation of barrier functions of cell walls. This study aimed is to validate the spectrophotometric method for the quantitative determination of PC with the Folin-Ciocalteu reagent in alcoholic and alkaline extracts from barley (*Hordeum vulgare* L., variety "Belgorodskiy100") and oat (*Avena sativa* L., variety "Arhan") sprouts for the objective screening of their stress-resistant genotypes. Phenolic compounds were extracted from the sprouts using 70% ethanol and 2N NaOH solution, followed by neutralization with 3M HCl. Analysis was performed using a PE5300VI spectrophotometer ($\lambda = 765$ nm). Gallic acid was used as the standard. The method was validated according to the linearity and repeatability criteria. The correlation coefficient (r) was 0.99; RSD – 1.5–4% for alcoholic extracts and 2.1–3.2% for alkaline extracts. The analysis yielded comparable values of total PC content in barley (17.64 ± 0.39 mg/g) and oat (16.9 ± 0.6 mg/g) sprouts using alkaline extraction; a significant difference in the yield of free PC fraction from the total PC content in sprouts using ethanol extraction was revealed (35% for barley, 14% for oats). The spectrophotometric determination of PC content using Folin-Ciocalteu reagent allowed for comparable and stable results to be obtained using ethanol and an alkaline solution as extractants for PC from barley and oat sprouts. The validity of the method in terms of linearity and repeatability, as well as its suitability for screening stress-resistant genotypes based on the accumulation level of free and total PC in sprouts, was proven.

Keywords:

gallic acid, Folin-Ciocalteu reagent, phenolic compounds, grain crops, sprouts, extraction, linearity, repeatability, validity of the method

Received: 03.01.2025
Accepted: 23.03.2026

Цитировать | Cite as

DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-9> EDN: <https://www.elibrary.ru/urljkk>

ВВЕДЕНИЕ

В условиях возрастающей антропогенной нагрузки на агроэкосистемы актуальна разработка методов ранней диагностики устойчивости сельскохозяйственных культур к абиотическим стрессам. Лабораторные эксперименты с проростками позволяют проводить скрининг толерантных генотипов в течение короткого периода времени с применением различных стрессовых нагрузок [Сельдиминова 2019; Товстик *и др.* 2025]. Это позволяет оптимизировать селекционный процесс, снизить экономические риски, повысить эффективность агротехнологий [González Guzmán *et al.* 2022].

В качестве биохимических маркеров стрессоустойчивости перспективно использовать фенольные соединения (ФС), участвующие в нейтрализации активных форм кислорода, регуляции окислительно-восстановительных процессов в растениях, формировании барьерных функций клеточных стенок [Петухов *и др.* 2020; Stiller *et al.* 2021]. Экспериментальные данные подтверждают наличие связи между уровнем накопления ФС и степенью устойчивости растений к окислительному стрессу [Kerchev, Van Breusegem 2022]. Как правило, растения, характеризующиеся усиленным синтезом ФС в ответ на стрессовые воздействия, проявляют большую устойчивость и лучшую приспособляемость к неблагоприятным условиям окружающей среды [Jańczak-Pieniżek *et al.* 2022].

К основным методам количественного определения ФС в растительном сырье относят капиллярный электрофорез, высокоэффективную жидкостную и газовую хроматографию в комбинации с масс-спектрометрией [Шамилов *и др.* 2022; Сутула *и др.* 2024]. Благодаря простоте и экспрессности, широкое распространение в научных исследованиях получили также спектрофотометрические методики. Они основаны на собственном поглощении ФС в ультрафиолетовой и видимой областях спектра, использовании реактива Фолина-Чокальтеу [Николаева *и др.* 2021; Куркин *и др.* 2024]. Суть аналитической процедуры заключается в окислительно-восстановительной реакции, протекающей в щелочной среде между ФС и солями фосфорномолибденовой и фосфорновольфрамовой кислот, входящих в состав реактива. В результате реакции образуются интенсивно окрашенные растворимые комплексы синего цвета, которые характеризуются выраженным максимумом поглощения в диапазоне длин волн 760–765 нм [Ainsworth, Gillespie 2007].

Стандартизированные методики спектрофотометрического определения содержания ФС в растительных объектах ориентированы преимущественно на фармакопейное сырье [ГФ РФ XV] и чай [ГОСТ Р ИСО 14502-1-2010]. Наиболее сопоставимый по объекту исследования метод приведен в патенте RU 2700787 С1, где в качестве анализируемого объекта выступают свежие листья пшеницы и гречихи. При этом экстракция ФС осуществляется 96%-м этанолом [Николаева *и др.* 2019]. Применительно к скринингу толерантных генотипов данный подход имеет существенные ограничения, так как 96%-й этанол не всегда обеспечивает полноценное извлечение ФС из растительного сырья, что ведет к недооценке его фенольного состава [Lohvina *et al.* 2021].

Наиболее часто в научных исследованиях в качестве экстрагента свободных ФС используют более полярную смесь, состоящую из этанола и дистиллированной воды; связанные со структурными компонентами клеточной стенки ФС извлекают щелочными растворами [Shahidi, Hossain 2023]. Наличие воды в данных экстрагентах способствует лучшему набуханию растительного сырья за счет увеличения площади контакта между растительной матрицей и растворителем, что повышает выход ФС [Sentkowska *et al.* 2024].

Ограниченность сферы применения стандартизированных методик в сочетании с вариативностью экстрагентов обуславливает необходимость валидации методики определения содержания ФС.

Цель работы – валидация спектрофотометрической методики количественного определения ФС с реактивом Фолина-Чокальтеу в спиртовых и щелочных экстрактах из проростков ячменя и овса для объективного скрининга их стрессоустойчивых генотипов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

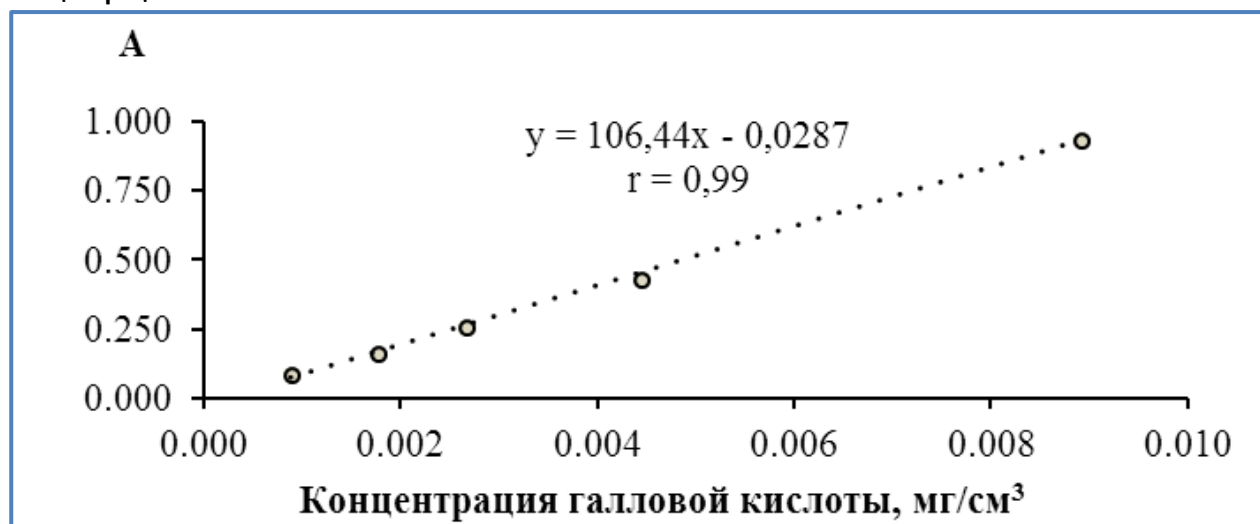
Объектами исследования служили проростки ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта «Белгородский 100» и овса (*Avena sativa* L.) сорта «Архан». Проростки получали методом рулонной культуры. Перед проведением исследований семена замачивали в дистиллированной воде на 16 ч.

Набухшие семена (100 шт.) равномерно размещали на расстоянии 1–2 см друг от друга между двумя слоями стерильной фильтровальной бумаги. После увлажнения листы сворачивали в плотные рулоны и помещали в химические стаканы, наполненные дистиллированной водой. Инкубацию осуществляли в лабораторных условиях при температуре $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ с фотопериодом 16 ч освещения/8 ч темноты. Через 14 суток извлекали растения из рулонов, отделяли проростки от корней и производили их сушку при температуре 60°C в сушильном шкафу SNOL 58/350 (AB UMEGA-GROUP, Литва).

Из воздушно-сухих измельченных образцов ($n = 2$) растительного сырья (проростки) массой 0.08–0.09 г (точная навеска) производили экстрагирование ФС 70%-м этанолом (3 см^3 , режим экстрагирования: $t = 5^\circ\text{C}$, $\tau = 16 \text{ ч}$) и 2 н. раствором гидроксида натрия (1.5 см^3 , режим экстрагирования: $t = 80^\circ\text{C}$, $\tau = 2 \text{ ч}$), с последующей нейтрализацией 3 М соляной кислотой. Для отделения экстрактов от растительных остатков использовали лабораторную центрифугу СМ-12 с ротором РУ-08 (TAGLER, Россия). Режим центрифугирования: 4000 об/мин, 5 мин. Анализ содержания ФС в экстрактах осуществляли на спектрофотометре марки ПЭ5300ВИ (ООО «Экросхим», Россия) (стеклянные кюветы с толщиной слоя 1 см) при длине волны 765 нм по отношению к контрольному раствору. Анализируемый раствор включал аликвоту (точно измеренный объем) пробы, реактив Фолина-Чокальтеу (0.4 см^3), 20%-й раствор карбоната натрия (0.6 см^3), дистиллированную воду (до достижения объема 10 см^3). Перед проведением анализа растворы выдерживали 2 ч в темноте при комнатной температуре $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ для развития окраски. В качестве стандарта использовали галловую кислоту (содержание основного вещества не менее 98%; CDH, Индия). Реактив Фолина-Чокальтеу представлял собой коммерческий продукт (2 н., «ЛенРеактив»).

Линейность градуировочной характеристики проверяли по стандартному раствору галловой кислоты с массовой концентрацией 5 мг/см^3 . Построение градуировочного графика осуществляли по пяти точкам, распределенным в диапазоне возрастающих концентраций (0.00089 ; 0.00179 ; 0.00268 ; 0.00446 ; 0.00893 мг/см^3). Каждый калибровочный уровень рассчитывали на основе трех независимых измерений оптической плотности растворов галловой кислоты (рис. 1).

Рисунок 1. Зависимость оптической плотности от концентрации галловой кислоты **Figure 1. Dependence of optical density on gallic acid concentration**



Уравнение регрессии ($y = 106.44x - 0.0287$) использовали для расчета массовой концентрации галловой кислоты в анализируемом растворе (C , мг/см^3). Массовую концентрацию ФС в проростках, вычисляли по формуле с учетом потери в массе при высушивании:

$$X = \frac{C \cdot V_1 \cdot V_2}{V_3 \cdot m},$$

где X – массовая концентрация ФС (мг/г); C – массовая концентрация галловой кислоты, найденная по градуировочному графику (мг/см^3); V_1 – объем экстракта (см^3); V_2 – объем анализируемого раствора (см^3); V_3 – аликвота пробы (см^3); m – масса навески проростков (г).

Валидацию методики определения ФС осуществляли по двум характеристикам – линейность и повторяемость [ОФС 1.1.0012 ГФ РФ XV]. Линейность методики устанавливали на пяти уровнях концентрации. Предварительно определяли оптимальное количественное соотношение анализируемого раствора и реактива Фолина-Чокальтеу. Растворы готовили путем уменьшения и увеличения аликвоты спиртовых и щелочных экстрактов по следующей схеме соответственно: 1 уровень – 0.16 и 0.08 см³ (80%); 2 уровень – 0.18 и 0.09 см³ (90%); 3 уровень – 0.20 и 0.10 см³ (100%); 4 уровень – 0.22 и 0.11 см³ (110%); 5 уровень – 0.24 и 0.12 см³ (120%). Строили график зависимости оптической плотности растворов от концентрации в них галловой кислоты. За удовлетворительный результат валидации принимали графическое изображение регрессионной прямой и значение коэффициента корреляции (r), удовлетворяющее условию больше или равно 0.99.

Повторяемость результатов устанавливали на двух образцах экстрактов в пяти-, шестикратной повторности. Критерием валидности методики по характеристике повторяемости служило значение относительного стандартного отклонения (RSD), не превышающего 10%.

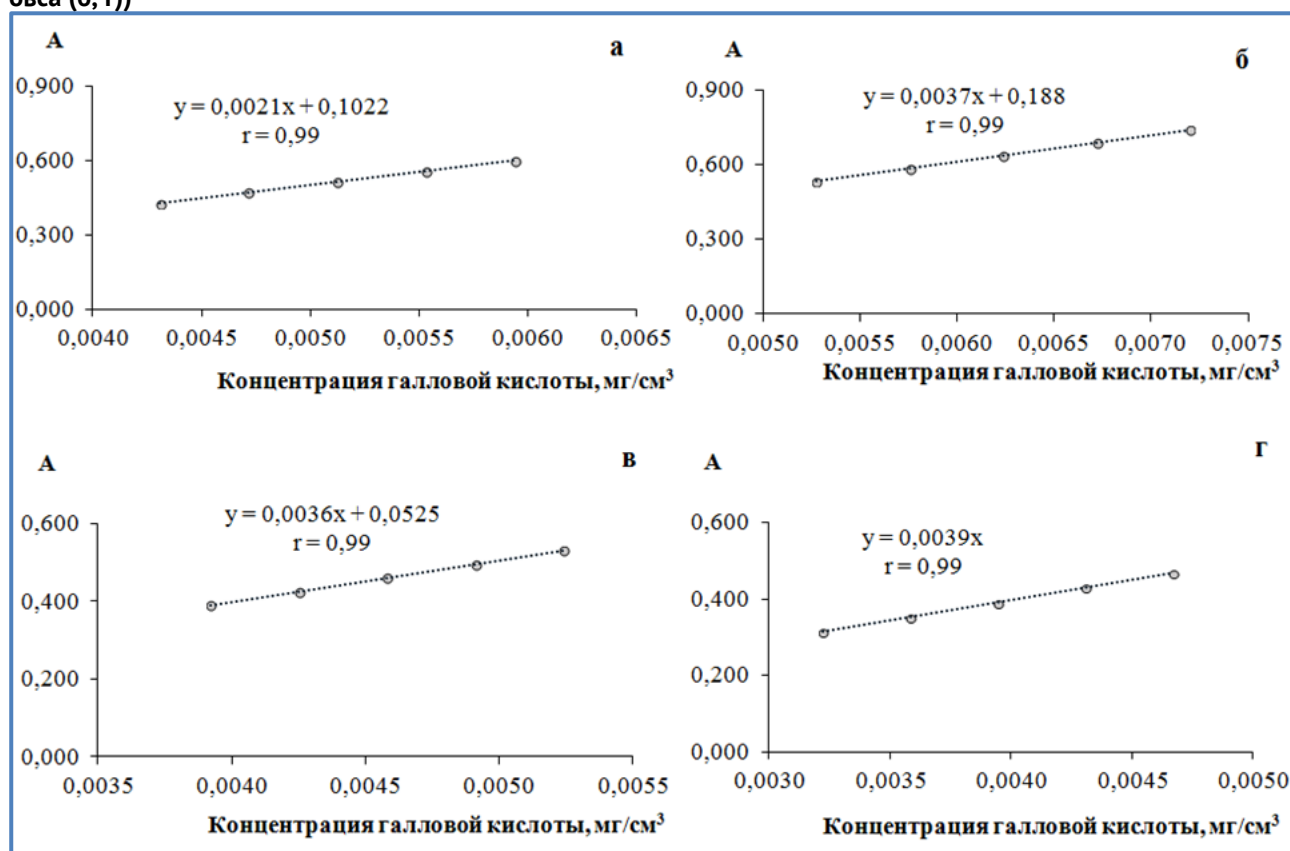
Статистическую обработку данных и построение графиков выполняли в программе Excel для Microsoft Office 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Данные по оптической плотности растворов характеризовались линейной зависимостью, величина коэффициента корреляции при этом составила 0.99, что позволило говорить о валидности методики по критерию линейности для выбранного сырья и экстрагента (рис. 2 а-г).

Рисунок 2. Вид зависимости оптической плотности от концентрации фенольных соединений в анализируемом растворе (а, б – спиртовые; в, г – щелочные экстракты из проростков ячменя (а, в) и овса (б, г))

Figure 2. Dependence of optical density on the concentration of phenolic compounds in the analyzed solution (а, б – alcohol extracts; в, г – alkaline extracts from barley (а, в) and oat (б, г) seedlings)



Величина RSD варьировала от 1.5 до 4% для спиртовых и от 2.1 до 3.2% – для щелочных экстрактов. Более низкие, чем 10% величины RSD свидетельствовали о прецизионности методики в условиях повторяемости (таб.).

Таблица. Результаты определения повторяемости результатов методики **Table. Results of determining the repeatability of the method results**

№	Оптическая плотность, А	Концентрация фенольных соединений, мг/см ³	x_i	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$	Метрологические характеристики
Спиртовые экстракты из проростков						
Ячмень						
1	0.528	0.0052	11.145	-0.260	0.068	$S_x = 0.18$ $S_{x_{cp}} = 0.015$ $\Delta = 0.18$ $\varepsilon = 1.6\%$ RSD = 1.5% X = 11.41 ± 0.18 мг/г
2	0.585	0.0058	11.282	-0.123	0.015	
3	0.551	0.0054	11.364	-0.041	0.002	
4	0.396	0.0040	11.628	0.223	0.050	
5	0.443	0.0044	11.501	0.095	0.009	
6	0.495	0.0049	11.512	0.107	0.011	
Среднее значение \bar{x} , мг/г			11.406			
Сумма значений					0.155	
Овес						
1	0.596	0.0059	15.199	0.603	0.364	$S_x = 0.6$ $S_{x_{cp}} = 0.04$ $\Delta = 0.7$ $\varepsilon = 5\%$ RSD = 4% X = 14.6 ± 0.7 мг/г
2	0.674	0.0066	15.225	0.628	0.395	
3	0.701	0.0069	14.254	0.342	0.117	
4	0.782	0.0076	14.422	0.174	0.030	
5	0.821	0.0080	13.881	0.715	0.511	
Среднее значение \bar{x} , мг/г			14.596			
Сумма значений					1.417	
Щелочные экстракты из проростков						
Ячмень						
1	0.337	0.0034	17.109	-0.533	0.284	$S_x = 0.37$ $S_{x_{cp}} = 0.021$ $\Delta = 0.39$ $\varepsilon = 2.2\%$ RSD = 2.1% X = 17.64 ± 0.39 мг/г
2	0.386	0.0039	17.261	-0.382	0.146	
3	0.326	0.0033	17.967	0.325	0.106	
4	0.366	0.0037	17.788	0.146	0.021	
5	0.414	0.0042	17.972	0.330	0.109	
6	0.452	0.0045	17.757	0.115	0.013	
Среднее значение \bar{x} , мг/г			17.643			
Сумма значений					0.679	
Овес						
1	0.337	0.0034	16.934	0.046	0.002	$S_x = 0.5$ $S_{x_{cp}} = 0.032$ $\Delta = 0.6$ $\varepsilon = 3.4\%$ RSD = 3.2% X = 16.9 ± 0.6 мг/г
2	0.370	0.0037	16.631	0.349	0.122	
3	0.407	0.0041	16.537	0.443	0.197	
4	0.445	0.0045	16.496	0.485	0.235	
5	0.350	0.0036	17.493	0.512	0.262	
6	0.314	0.0032	17.792	0.812	0.659	
Среднее значение \bar{x} , мг/г			16.981			
Сумма значений					1.477	

Согласно результатам проведенного анализа, общее содержание ФС в проростках ячменя (17.64 ± 0.39 мг/г) и овса (16.9 ± 0.6 мг/г), экстрагируемое щелочью, статистически не различалось. Экстракция 70%-м этанолом позволила извлечь значимую долю (свободная фракция) ФС от их общего содержания в проростках. В количественном выражении разница между спиртовыми и щелочными экстрактами составила 35% для ячменя и 14% для овса.

ОБСУЖДЕНИЕ

Важнейшим этапом обеспечения точности и воспроизводимости результатов определения содержания ФС в растительном сырье является экстракция. На эффективность данного процесса влияют многие факторы, включая выбор экстрагента [Brglez Mojzer *et al.* 2016].

Результаты исследования показали, что экстракция щелочью обеспечивает более высокий выход ФС из ростков ячменя и овса, чем экстракция этиловым спиртом. Полученные результаты согласуются с данными о хорошей растворимости ФС в полярных растворителях (метанол, этанол) [Kim *et al.* 2022], но их извлечение щелочью более эффективно за счет физико-химического воздействия на сырье [Mansur *et al.* 2022].

Согласно результатам предыдущих исследований, содержание связанной фракции ФС в зерне ячменя составляет 8.7 ± 0.6 мг/г, свободной – 2.49 ± 0.13 мг/г [Шеромов *и др.* 2024]. В процессе прорастания, таким образом, происходит увеличение общего содержания и содержания свободной фракции ФС в проростках ячменя (17.64 ± 0.39 мг/г и 11.41 ± 0.18 мг/г соответственно) по сравнению с зерном. При этом доля свободной фракции в общем пуле ФС зерна ниже (28%), чем пуле проростков (65%). Выявленные изменения могли быть связаны с активацией ферментов при прорастании зерна, перераспределением питательных веществ и синтезом новых соединений. Кроме того, установлено межвидовое варьирование соотношения фракций ФС в проростках исследованных видов растений, что могло быть обусловлено генетическим контролем синтеза и метаболизмом данных соединений. Выявленные структурные изменения (увеличение общего содержания и доли свободной фракции ФС), происходящие при прорастании семян, а также видовая специфичность распределения ФС в проростках обуславливает необходимость дифференцированного подхода к выбору экстрагента в зависимости от задач эксперимента. Игнорирование этой процедуры может привести к селективной экстракции отдельных фракций и, как следствие, к некорректной оценке содержания ФС в растительном сырье.

По результатам проведенного эксперимента можно заключить, что методика спектрофотометрического определения содержания ФС с реактивом Фолина-Чокальтеу позволяет получить сопоставимые и стабильные результаты при использовании в качестве экстрагентов ФС из проростков ячменя и овса 70%-го этанола и щелочного раствора. Методика количественного определения может быть рекомендована для скрининга стрессоустойчивых генотипов по уровню накопления свободных и общих ФС в их проростках.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках Государственного задания Федерального аграрного научного центра Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого по теме № FNWE-2026-0008 «Разработка новых биотехнологических методов создания перспективных генотипов сельскохозяйственных культур со стабильной продуктивностью, толерантных к эдафическим стрессорам, получение нового исходного материала регенерантного происхождения для селекции адаптивных сортов растений».

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Конфликт интересов | Conflicts of Interest

У авторов отсутствует конфликт интересов. The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Куркин В.А., Куркина А.В., Косенко А.А. (2024) Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в почках *Populus alba* L. *Химия растительного сырья*. (2): 168–175. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20240212904> EDN: AXGYW
- Николаева Т.Н., Лапшин П.В., Загоскина Н.В. (2021) Метод определения суммарного содержания фенольных соединений в растительных экстрактах с реактивом Фолина-Дениса и реактивом Фолина-Чокальтеу: модификация и сравнение. *Химия растительного сырья*. (2): 291–299. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021028250> EDN: CSUVWV
- Николаева Т.Н., Лапшин П.В., Нечаева Т.Л., Загоскина Н.В. (2019) Способ определения суммарного содержания фенольных соединений в растительных объектах. Патент № RU 2700787 С1. EDN: PZPLNA
- Петухов А.С., Хридохин Н.А., Петухова Г.А., Кремлева Т.А. (2020) Ответная реакция антиоксидантных систем травянистых растений на повреждение клеток в условиях техногенного загрязнения городской среды. *Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И.*

- Вернадского. Биология. Химия. **6(72)**(1): 134–149. <https://doi.org/10.37279/2413-1725-2020-6-1-134-149> EDN: TUVKHD
- Сельдимирова О.А. (2019) Тестирование селективных агентов для оценки яровой мягкой пшеницы на устойчивость к засухе. *Экобиотех.* **2**(1): 51–62. <https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-1-51-62> EDN: SSNZSX
- Сутула М.Ю., Губайдуллин Н.Н., Рахимжанова А.О., Манабаева Ш.А. (2024) Идентификация вторичных метаболитов методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией в каллусных тканях *Cistanche deserticola* Y.C. Ma. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology.* (4): 21–39. <https://doi.org/10.11134/btp.4.2024.3> EDN: OEYFYH
- Товстик Е.В., Шуплецова О.Н., Панихина Л.В., Злобина Ю.А. (2025) Адаптивный потенциал ячменя при токсичном воздействии кадмия в различных условиях оценки. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции.* **186**(2): 128–137. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2025-2-128-137> EDN: IXCCFA
- Шамилов А.А., Бубенчикова В.Н., Гарсия Е.Р., Ибаева Х.А., Ларский М.В. (2022) Разработка и валидация методики количественного определения фенольных соединений и хлорогеновой кислоты в голубики болотной листьях. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* **25**(2): 14–23. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-02-03> EDN: MUMFFR
- Шеромов А.М., Товстик Е.В., Шуплецова О.Н. (2024) Валидация методики определения свободных и связанных полифенолов в растениях ячменя методом спектрофотометрии. *Экобиотех.* **7**(2): 80–85. <https://doi.org/10.31163/2618-964X-2024-7-2-80-85> EDN: ABQUAL
- Ainsworth E.A., Gillespie K.M. (2007) Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature Protocols.* **2**(4): 875–877. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.102>
- Brglez Mojzer E., Knez Hrnčič M., Škerget M., Knez Ž., Bren U. (2016) Polyphenols: extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules.* **21**(7): 901. <https://doi.org/10.3390/molecules21070901>
- González Guzmán M., Cellini F., Fotopoulos V., Balestrini R., Arbona V. (2022) New approaches to improve crop tolerance to biotic and abiotic stresses. *Physiologia Plantarum.* **174**(1): e13547. <https://doi.org/10.1111/ppl.13547> EDN: FTJENE
- Jańczak-Pieniżek M., Cichoński J., Michalik P., Chrzanowski G. (2022) Effect of heavy metal stress on phenolic compounds accumulation in winter wheat plants. *Molecules.* **28**(1): 241. <https://doi.org/10.3390/molecules28010241> EDN: IUDTMX
- Kerchev P.I., Van Breusegem F. (2022) Improving oxidative stress resilience in plants. *The Plant Journal.* **109**(2): 359–372. <https://doi.org/10.1111/tpj.15493> EDN: ZVDACP
- Kim J.S., Cuong D.M., Bae Y. Bin, Cho S.K. (2022) Antioxidant and antiproliferative activities of solvent fractions of broccoli (*Brassica oleracea* L.) sprout. *Applied Biological Chemistry.* **65**(1): 34. <https://doi.org/10.1186/s13765-022-00700-2> EDN: FCBRNL
- Lohvina H., Sándor M., Wink M. (2021) Effect of ethanol solvents on total phenolic content and antioxidant properties of seed extracts of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) varieties and determination of phenolic composition by HPLC-ESI-MS. *Diversity.* **14**(1): 7. <https://doi.org/10.3390/d14010007> EDN: OAFFND
- Mansur A.R., Lee S.G., Lee B.-H., Han S.G., Choi S.-W., Song W.-J., Nam T.G. (2022) Phenolic compounds in common buckwheat sprouts: composition, isolation, analysis and bioactivities. *Food Science and Biotechnology.* **31**(8): 935–956. <https://doi.org/10.1007/s10068-022-01056-5> EDN: SRRUPE
- Sentkowska A., Ivanova-Petropulos V., Pyrzynska K. (2024) What can be done to get more—extraction of phenolic compounds from plant materials. *Food Analytical Methods.* **17**(4): 594–610. <https://doi.org/10.1007/s12161-024-02594-w> EDN: KZWJTV
- Shahidi F., Hossain A. (2023) Importance of insoluble-bound phenolics to the antioxidant potential is dictated by source material. *Antioxidants.* **12**(1): 203. <https://doi.org/10.3390/antiox12010203> EDN: HYHPRQ
- Stiller A., Garrison K., Gurdyumov K., Kenner J., Yasmin F., Yates P., Song B.-H. (2021) From fighting critters to saving lives: polyphenols in plant defense and human health. *International Journal of Molecular Sciences.* **22**(16): 8995. <https://doi.org/10.3390/ijms22168995> EDN: LDCLHO

REFERENCES

- Kurkin V.A., Kurkina A.V., Kosenko A.A. (2024) The development of methods for determination the total flavonoids in buds of *Populus alba* L. *Chemistry of plant raw material.* (2): 168–175. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20240212904> EDN: AXGYW (In Rus.)

- Nikolaeva T.N., Lapshin P.V., Zagoskina N.V. (2021) Method for determining the total content of phenolic compounds in plant extracts with Folin-Denis reagent and Folin-Chocalteu reagent: modification and comparison. *Chemistry of plant raw material*. (2): 291–299. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021028250> EDN: CSUVWV (In Rus.)
- Nikolaeva T.N., Lapshin P.V., Nechaeva T.L., Zagoskina N.V. (2019) Method of determining total content of phenol compounds in plant objects. Patent № RU 2700787 C1. EDN: PZPLNA (In Rus.)
- Petukhov A.S., Khritokhin N.A., Petukhova G.A., Kremleva T.A. (2020) Herbage plants antioxidant system response to cells damage in conditions of urban environment anthropogenic pollution. *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*. **6(72)**(1): 134–149. <https://doi.org/10.37279/2413-1725-2020-6-1-134-149> EDN: TUVKHD (In Rus.)
- Seldimirova O.A. (2019) Testing of selective agents for evaluation of spring soft wheat for drought resistance. *Ecobiotech*. **2**(1): 51–62. <https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-1-51-62> EDN: SSNZSX (In Rus.)
- Sutula M.Y., Gubaidullin N.N., Rakhimzhanova A.O., Manabayeva S.A. (2024) Identification of secondary metabolites by gas chromatography with mass spectroscopy in callus tissues of *Cistanche deserticola* Y.C. Ma. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*. (4): 21–39. <https://doi.org/10.11134/btp.4.2024.3> EDN: OEYFYH (In Rus.)
- Tovstik E.V., Shupletsova O.N., Panikhina L.V., Zlobina Yu.A. (2025) Adaptive potential of barley under toxic impact of cadmium in various conditions of assessment. *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. **186**(2): 128–137. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2025-2-128-137> EDN: IXCCFA (In Rus.)
- Shamilov A.A., Bubenchikova V.N., Garsiya E.R., Ibaeva Kh.A., Larsky M.V. (2022) Investigation and validation of quantitative analysis of phenolic compounds and chlorogenic acid in the vaccinium uliginosum leaves. *Problems of Biological Medical and Pharmaceutical Chemistry*. **25**(2): 14–23. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-02-03> EDN: MUMFFR (In Rus.)
- Sheromov A.M., Tovstik E.V., Shupletsova O.N. (2024) Validation of a method for determining free and bound polyphenols in barley plants by spectrophotometry. *Ecobiotech*. **7**(2): 80–85. <https://doi.org/10.31163/2618-964X-2024-7-2-80-85> EDN: ABQUAL (In Rus.)
- Ainsworth E.A., Gillespie K.M. (2007) Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*. **2**(4): 875–877. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.102>
- Brglez Mojzer E., Knez Hrnčič M., Škerget M., Knez Ž., Bren U. (2016) Polyphenols: extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules*. **21**(7): 901. <https://doi.org/10.3390/molecules21070901>
- González Guzmán M., Cellini F., Fotopoulos V., Balestrini R., Arbona V. (2022) New approaches to improve crop tolerance to biotic and abiotic stresses. *Physiologia Plantarum*. **174**(1): e13547. <https://doi.org/10.1111/ppl.13547> EDN: FTJENE
- Jańczak-Pieniążek M., Cichoński J., Michalik P., Chrzanowski G. (2022) Effect of heavy metal stress on phenolic compounds accumulation in winter wheat plants. *Molecules*. **28**(1): 241. <https://doi.org/10.3390/molecules28010241> EDN: IUDTMX
- Kerchev P.I., Van Breusegem F. (2022) Improving oxidative stress resilience in plants. *The Plant Journal*. **109**(2): 359–372. <https://doi.org/10.1111/tpj.15493> EDN: ZVDACP
- Kim J.S., Cuong D.M., Bae Y. Bin, Cho S.K. (2022) Antioxidant and antiproliferative activities of solvent fractions of broccoli (*Brassica oleracea* L.) sprout. *Applied Biological Chemistry*. **65**(1): 34. <https://doi.org/10.1186/s13765-022-00700-2> EDN: FCBRL
- Lohvina H., Sándor M., Wink M. (2021) Effect of ethanol solvents on total phenolic content and antioxidant properties of seed extracts of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) varieties and determination of phenolic composition by HPLC-ESI-MS. *Diversity*. **14**(1): 7. <https://doi.org/10.3390/d14010007> EDN: OAFFND
- Mansur A.R., Lee S.G., Lee B.-H., Han S.G., Choi S.-W., Song W.-J., Nam T.G. (2022) Phenolic compounds in common buckwheat sprouts: composition, isolation, analysis and bioactivities. *Food Science and Biotechnology*. **31**(8): 935–956. <https://doi.org/10.1007/s10068-022-01056-5> EDN: SRRUPE
- Sentkowska A., Ivanova-Petropulos V., Pyrzynska K. (2024) What can be done to get more—extraction of phenolic compounds from plant materials. *Food Analytical Methods*. **17**(4): 594–610. <https://doi.org/10.1007/s12161-024-02594-w> EDN: KZWJTV
- Shahidi F., Hossain A. (2023) Importance of insoluble-bound phenolics to the antioxidant potential is dictated by source material. *Antioxidants*. **12**(1): 203. <https://doi.org/10.3390/antiox12010203> EDN: HYHPRQ

Stiller A., Garrison K., Gurdyumov K., Kenner J., Yasmin F., Yates P., Song B.-H. (2021) From fighting critters to saving lives: polyphenols in plant defense and human health. *International Journal of Molecular Sciences*. 22(16): 8995. <https://doi.org/10.3390/ijms22168995> EDN: LDCLHO

Цитировать как

Товстик Е.В., Окулова В.В., Романова А.С., Шуплецова О.Н. (2025). Валидация спектрофотометрической методики определения содержания фенольных соединений в проростках ячменя и овса для скрининга стрессоустойчивых генотипов. *Экобиотех*. 8(3): 102-110. DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-9> EDN: <https://www.elibrary.ru/urljkk>

Сведения об авторах

Евгения Владимировна Товстик, к.б.н., доцент кафедры фундаментальной химии и методики обучения химии Института химии и экологии ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет», Киров, РФ. E-mail: tovstik2006@inbox.ru, SPIN-код: [8792-9281](https://orcid.org/0000-0003-1861-6076), ORCID: [0000-0003-1861-6076](https://orcid.org/0000-0003-1861-6076), Scopus Author ID: [57004932100](https://orcid.org/57004932100), WoS Research ID: [P-1350-2017](https://orcid.org/P-1350-2017)

Валерия Вячеславовна Окулова, студент кафедры фундаментальной химии и методики обучения химии Института химии и экологии ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет», Киров, РФ. E-mail: stud160727@vyatsu.ru

Анна Сергеевна Романова, студент кафедры фундаментальной химии и методики обучения химии Института химии и экологии ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет», Киров, РФ. E-mail: stud160711@vyatsu.ru

Ольга Наумовна Шуплецова, д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологических методов селекции сельскохозяйственных растений ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого», Киров, РФ. E-mail: olga.shuplecova@mail.ru, SPIN-код: [8443-0705](https://orcid.org/8443-0705), ORCID: [0000-0003-4679-0717](https://orcid.org/0000-0003-4679-0717), Scopus Author ID: [54385823700](https://orcid.org/54385823700).

Cited as

Tovstik E.V., Okulova V.V., Romanova A.S., Shuplecova O.N. (2025). Validation of a spectrophotometric method for determining phenolic compounds in barley and oat sprouts for screening stress-resistant genotypes. *Ecobiotech*. 8(3): 102-110. DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-9> EDN: <https://www.elibrary.ru/urljkk>

Information About the Authors

Evgeniya V. Tovstik, Candidate of Biological Sciences, Assistant Professor, Department of Fundamental Chemistry and Chemistry Teaching Methods, Institute of Chemistry and Environment, Vyatka State University, Kirov, Russian Federation. E-mail: tovstik2006@inbox.ru, SPIN-code: [8792-9281](https://orcid.org/8792-9281), ORCID: [0000-0003-1861-6076](https://orcid.org/0000-0003-1861-6076), Scopus Author ID: [57004932100](https://orcid.org/57004932100), WoS Research ID: [P-1350-2017](https://orcid.org/P-1350-2017)

Valeria V. Okulova, student, Department of Fundamental Chemistry and Chemistry Teaching Methods, Institute of Chemistry and Environment, Vyatka State University, Kirov, Russian Federation. E-mail: stud160727@vyatsu.ru

Anna S. Romanova, student, Department of Fundamental Chemistry and Chemistry Teaching Methods, Institute of Chemistry and Environment, Vyatka State University, Kirov, Russian Federation. E-mail: stud160711@vyatsu.ru

Olga N. Shupletsova, Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Biotechnological Methods of Agricultural Plant Breeding, Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, Kirov, Russian Federation. E-mail: olga.shuplecova@mail.ru, SPIN-code: [8443-0705](https://orcid.org/8443-0705), ORCID: [0000-0003-4679-0717](https://orcid.org/0000-0003-4679-0717), Scopus Author ID: [54385823700](https://orcid.org/54385823700).