

Abstract. With the growth of urbanization there is a complication of the ecological situation on high ways, area occupied by industrial enterprises, as well as in adjacent areas. Heavy metals remains one of the priority groups of pollutants, having both local, regional and global distribution. The main sources of chemical factors in the human body are food, drinking water, air. The toxic effects of chemical elements are related to their absorption in the gastrointestinal tract. Heavy metals remain one of the priority groups of pollutants, having both local, regional and global distribution. The toxicity of heavy metals depends on the concentration, duration of action, temperature, oxygen saturation of water and many other factors.

The aim of the experimental study was to investigate the degree of embryotoxicity of cadmium chloride when exposed throughout the gestation period in rats.

Object and methods of research. The study was performed on 32 Wistar rats, weighing 180-300 g. At the preparatory stage, the estrous cycle of females was examined by vaginal swabs, which made it possible to obtain females with a dated gestational age. The solution of cadmium chloride was administered to females at a dose of 2.0 mg/kg intragastrically, through a tube once a day, at the same time: the first group – control, the second group – the introduction of a solution of cadmium chloride. The solution of female rats was exposed daily from the 1st to the 19th day of pregnancy. The possible adverse effects of cadmium on embryonic development were determined by the ability to increase embryonic mortality, overall fetal development was assessed according to the tables of normal embryonic development according to Hamburger and Hamilton (HH). To determine the degree of embryotoxicity, the indicators of total, preimplantation and postimplantation embryonic mortality were calculated. The obtained results were processed by the method of variation statistics. The probability of statistical studies was assessed using Student's t-test. The obtained results indicate the embryotoxic effect of cadmium on embryonic development. The average number of embryos in the group exposed to cadmium chloride is 1.3 times less than the same indicator control values. The embryos of the control group met the criteria of embryonic development according to Hamburger and Hamilton (HH). Studies of removed embryos of the 13th day of development of the cadmium group showed a 28.5% lag in the formation of external criteria of embryogenesis, namely: torsion and flexion disorders, lag in the formation of somites. Performing this task, we calculated the indicators of total, preimplantation and postimplantation embryonic mortality.

According to the results of the calculations, in the group exposed to cadmium chloride there is a high level of overall embryonic mortality on both the 13th and 19th days of embryonic development. There was an increase in preimplantation mortality when exposed to cadmium on the 13th day to 0.07 ± 0.02 (control – 0.02 ± 0.02) and on the 19th day – 0.15 ± 0.07 vs. 0.01 ± 0.01 in control. Post-implantation mortality also increased significantly in the group of cadmium intoxication. On the 13th day, this figure in the group of cadmium exposure was 0.15 ± 0.03 against the control of 0.03 ± 0.01 , and on the 19th day was 0.11 ± 0.03 against the control groups – 0.04 ± 0.02 . Accordingly, the analysis of the obtained results proved the high level of embryo toxicity of cadmium chloride at enteral administration at a dose of 2.0 mg/kg in an experiment on rats.

Key words: cadmium, rat embryo, embryotoxicity.

Рецензент – проф. Небесна З. М.
Стаття надійшла 12.08.2020 року

DOI 10.29254/2077-4214-2020-3-157-70-75

УДК 634.737:581.44: 547.56:581. 543

Яворська Н. Й., Воробець Н. М.

ВМІСТ ПОЛІФЕНОЛІВ ТА ФЛАВОНОЇДІВ У ПАГОНАХ ЛОХИНИ ВИСОКОРОСЛОЇ ПРОТЯГОМ ВЕГЕТАЦІЙНОГО ПЕРІОДУ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів)

vorobetsnatalia@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконана в рамках науково-дослідної роботи за темою: «Синтез та перетворення нових фізіологічно активних речовин – похідних неконденсованих і конденсованих сульфур- та нітрогеновмісних гетероциклічних систем, з використанням методів моделювання, вивчення фізико-хімічних властивостей та проведення фармакологічного скринінгу одержаних сполук, дослідження різних видів дикорослих та культивованих рослин західного регіону України з метою одержання нових лікарських засобів, розробка технології лікарських засобів нових складів та опрацювання сучасних методик фармацевтичного та токсикологічного аналізу» (№ державної реєстрації 0116U 004500).

Вступ. Види роду *Vaccinium* (родини Ericaceae) – це багаторічники, які широко розповсюджені у при-

роді, є компонентами природних ланцюгів живлення та разом із селекційно створеними сортами є важливими комерційними об'єктами у якості їстівних (головним чином, плоди) та лікарської рослинної сировини (ЛРС). Від початку 20-го століття і до теперішнього часу було створено декілька сотень сортів виду *Loxium* високоросла (*Vaccinium corymbosum* L.), які відрізняються термінами проходження фізіологічних фаз, а відтак, термінами цвітіння, дозрівання плодів, входу в фазу зимового спокою тощо. Мало дослідженими залишаються закономірності та рівні накопичення біологічно активних речовин (БАР), зокрема поліфенолів та флавоноїдів у вегетативних частинах різних сортів *V. corymbosum*. Між тим, поліфеноли, а серед них група флавоноїдів, є найпоширенішими антиоксидантами в раціоні людини, терапевтична активність яких доведена науковими досліджен-

нями. Поліфеноли разом з іншими групами сполук захищають тканини людини від окиснювального стресу, який може викликати ряд важких патологій у людини, таких як рак [1], ішемічна хвороба серця [2,3]; запалення [2,4], метаболічний синдром [5] та інші. Вважають, що особливо перспективними поліфеноли можуть стати у персоніфікованому лікуванні клінічно неоднорідних захворювань, зокрема цукрового діабету [6] та порушення когнітивних функцій у старечому віці [7,8], а також у профілактичних цілях [9]. Великою мірою позитивний ефект на організм людини обумовлюється дією такої значної частини поліфенольних сполук як флавоноїди [3,9,10]. Тому важливо знати вміст і природу основних синтезованих та накопичених у рослині поліфенолів, кількість споживаних у різних дієтах, дієтичних добавках і витяжках із рослинної сировини (РС) перед вивченням механізму дії та їх застосуванням. Наші попередні експерименти [11] та дослідження інших авторів [12,13] дозволяють припустити, що вегетативні частини лохини високорослої можуть бути потенційним джерелом сполук фенольної природи, а щоб дослідити механізм дії необхідно знати їх вміст та динаміку накопичення протягом вегетаційного періоду, оскільки ряд публікацій свідчать про різні рівні накопичення поліфенолів залежно від фізіологічних фаз росту [14,15,16], а також від екстрагента [17,18].

Мета дослідження. Метою даної роботи було дослідити загальний вміст поліфенольних сполук, а серед них флавоноїдів у пагонах двох сортів лохини високорослої раннього та середнього строків дозрівання протягом чотирьох фаз вегетаційного періоду, а також з застосуванням різних екстрагентів.

Об'єкт і методи дослідження. Матеріалом для досліджень була лохина високоросла V. corymbosum сортів Блуджей (Bluejay) (раннього терміну дозрівання) та Блукроп (Bluescop) (середнього терміну дозрівання), які були отримані в умовах in vitro [19] і вирощені на експериментальній ділянці у виробника ТОВ «Беррі Партнер» (Львівська обл., Україна; 49° 79'28.01" N 24° 01'00.39" E). Зразки пагонів завдовжки 15-20 см зібрані протягом 2018-2019 років у фенологічні фази: цвітіння (I), плодоношення (II), після закінчення плодоношення (III), періоду підготовки до зимового спокою (IV). Рослинну сировину (РС) висушували на повітрі в темряві при температурі 22-24° C до повітряно-сухого стану і зберігали до використання.

РС подрібнювали до порошкоподібного стану в механічному млинку і з неї готували водні та водно-етанольні (20-, 30-, 40-, 50-, 60-, 70-, 80-, та 95%) екстракти методом мацерації за ДФУ (1:10/маса:об'єм/г:мл).

Загальний вміст поліфенолів визначали за модифікованою методикою з реагентом Фоліна-Чіокалтеу [20]. До екстрактів пагонів (1,5 мл) додавали реагент Фоліна-Чіокалтеу (1,5 мл), перемішували суміш 10 сек перед додаванням 7,5 % Na_2CO_3 (1,2 мл), перемішували 10 сек і залишали в темряві на 1-2 год. Вимірювання оптичної густини утвореної сполуки проводили при 650 нм. Одержані результати прирівнювали до калібрувальної кривої, яку будували з галою кислотою за тією ж методикою. Рівняння, отримане для калібрувальної кривої галою кислоти (50-450 мкг·мл⁻¹): $y=0,0025x+1,5755$, ($R^2=0,9982$). Загальний вміст поліфенолів виражали в міліграмах на

г (мг·г⁻¹) сухої маси сировини в перерахунку на галою кислоту.

Загальний вміст флавоноїдів у екстрактах кількісно визначали за методом описаним [20,21], з незначними модифікаціями. До 0,3 мл досліджуваного екстракту додавали 90 мкл 5 % NaNO_2 , перемішували 6 хв перед внесенням 180 мкл 10 % AlCl_3 , після чого залишали на 5 хв при кімнатній температурі перед додаванням 0,6 мл 1 М NaOH і 330 мкл H_2O . Інкубували протягом 30 хв при кімнатній температурі у темряві. Вимірювання оптичної густини утвореної сполуки проводили при 510 нм. Одержані результати прирівнювали до калібрувальної кривої, яку будували з кверцетином за тією ж методикою (від 50 до 600 мкг·мл⁻¹). $y=0,0004x-0,0243$ ($R^2=0,9871$). Загальний вміст флавоноїдів виражали в міліграмах на г (мкг·мл⁻¹) сухої маси сировини в перерахунку на кверцетин.

Усі експерименти проведені тричі у п'яти аналітичних повторностях. Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою пакету програм Microsoft Office Excel (2007). Результати наведені як середнє $\pm$ стандартне відхилення ($M \pm SD$). Статистичну достовірність отриманих результатів оцінювали за t-критерієм (Ст'юдента). Результати вважали статистично достовірними при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Вміст поліфенолів у пагонах сортів Блуджей та Блукроп протягом періоду спостереження у водних та водно-етанольних екстрактах на різних фенологічних фазах розвитку подано у **табл. 1**. Високий вміст поліфенольних сполук відмічено у фазі цвітіння та плодоношення, а також після періоду плодоношення і під час зимового періоду у пагонах обох сортів, що свідчать про інтенсивність метаболічних процесів як протягом періоду активної вегетації так і протягом відносного фізіологічного спокою в зимовий період. Порівняння вмісту поліфенолів залежно від екстрагента засвідчило, що найкращим із застосованих були 30% етанол та етанол у вищих концентраціях, які екстрагували на 33-68% більше поліфенолів у порівнянні з водою на стадії I, на 34-79% на стадії II, на 75-134% на стадії III, на 45-61% на стадії IV у сорту Блуджей; на 34-63%, 64-86%, 75-106%, 103-136% у сорту Блукроп, відповідно (**табл. 1**).

Високий вміст поліфенолів у фазі цвітіння та плодоношення очевидно пов'язаний з участю у фізіолого-біохімічних процесах генеративного відтворення, а після плодоношення – з продовженням періоду вегетації (фаза III), закінченням вегетації та адаптацією до проходження зимового періоду (фаза IV). Відновлення ростових процесів навесні залежить від готовності протистояти змінам температурного режиму – початок і завершення стану фізіологічного спокою визначається погодними умовами поточного року. Підтвердженням цьому певною мірою можна вважати добре відомі факти про те, що фенольні сполуки, а особливо флавоноїди, відіграють ключову роль у процесах розвитку та посилено синтезуються в умовах абіотичних стресів [22]. Рівень вмісту поліфенольних сполук у пагонах сортів Блукроп та Блуджей виявлений нами дуже близький до таких, що виявили інші дослідники у листках цих же сортів [23], та деяких сортів іншого виду роду *Vaccinium* [16].

Таблиця 1 – Вміст поліфенольних сполук у пагонах лохини високорослої у різні фази вегетації

Загальний вміст поліфенолів, мг·г ⁻¹ сухої маси в перерахунку на галову кислоту				
сорт Блуджей				
	I	II	III	IV
H ₂ O	92,94±2,517	86,05±1,904*	78,94±3,494*	95,9±1,138#
20%	108,52±0,328	115,68±0,804***	141,00±0,626***	144,53±0,660***
30%	154,88±1,218	109,02±0,575***	150,02±1,027**	148,74±0,873**
40%	154,16±1,686	139,02±1,608***	184,80±0,909***	149,70±2,026*
50%	156,28±1,582	144,74±4,708*	146,56±0,353***	153,10±1,017*
60%	123,92±0,941	143,20±2,648***	153,08±0,392***	139,45±2,539***
70%	157,96±1,102	154,08±2,136#	153,92±1,686*	149,84±1,337**
80%	151,00±1,320	128,74±1,115***	138,76±0,291***	154,95±1,235*
96%	142,96±1,012	147,52±3,945#	164,92±1,312***	149,74±0,938**
сорт Блукроп				
	I	II	III	IV
H ₂ O	90,93±0,619	84,32±1,600***	85,64±2,635*	66,02±0,847***
20%	134,52±0,666	130,20±0,568***	143,08±0,733***	137,24±0,991*
30%	132,71±0,911	138,68±0,881***	160,28±1,232***	134,28±0,720*
40%	134,76±0,923	146,68±1,538***	167,52±0,310***	155,96±1,232***
50%	137,35±1,294	142,58±0,349**	149,84±2,181***	134,60±0,367*
60%	122,32±1,782	150,52±0,999***	152,60±1,526**	140,20±0,843***
70%	147,24±0,898	152,10±1,276*	176,72±2,127***	130,92±0,416***
80%	148,96±1,975	157,08±0,526**	158,24±2,435*	150,60±0,865*
96%	146,52±0,588	154,32±0,869***	150,44±0,991**	154,12±0,843***

Примітка: 1) стадії вегетації: цвітіння (I), плодоношення (II), восени після плодоношення (III), період підготовки до зимового спокою (IV); 2) *p ≥ 0,1; *p ≤ 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001.

Протягом проходження фаз фізіологічного розвитку може змінюватись і вміст і співвідношення груп поліфенолів, зокрема флавоноїдів (рис.).

Максимальний вміст флавоноїдів у сорту Блуджей спостерігався у фазу I, II і на 8-14 % нижчий – у фазу IV, а у сорту Блукроп – перші дві фази розвитку. Кращими екстрагентами були різні концентрації водного етанолу порівняно з водою: на Iй та IIIй фазі найкращим екстрагентом був 70% та 80% етанол, на IIй – 80%, на IVй – 70%.

У сорту Блукроп на усіх фазах розвитку вміст флавоноїдів був нижчим порівняно з сортом Блуджей (рис.), а найвищим – у фазу I. Найкращими екстрагентами виявились 40-, 50- та 70% етанол. На IV фазі вміст флавоноїдів виявився найнижчим. Підрахунок свідчить, що доля флавоноїдів серед поліфенолів різна на різних фізіологічних фазах розвитку (табл. 2). Зміни кількісного вмісту флавоноїдів у пагонах очевидно, відображають фізіологічні потреби самих рослин. Численні дослідження свідчать, що флавоноїди захищають рослини від різних біотичних та абіотичних навантажень, що змінюються протягом вегетації, зокрема, можуть відігравати функціональну роль у акліматизації та морозостійкості рослин [24,25].

Сорт Блуджей раннього терміну дозрівання і раніше входить у фазу фізіологічного спокою, а відтак – швидше накопичує необхідні для зимівлі сполуки, в т.ч. флавоноїди. Блукроп – середнього терміну дозрівання, в час збору нами сировини очевидно ще не завершив підготовку до зимового періоду.

Рівень вмісту флавоноїдів у пагонах виявлений нами співрозмірний з одержаними іншими дослідниками у листках видів роду *Vaccinium* [16,23]. Виявлені концентрації флавоноїдів на різних фазах розвитку становлять значну частку від загального вмісту розчинних поліфенолів (табл. 2).

Тип екстрагента має важливе значення, оскільки залежно від нього кількість флавоноїдів змінюється на 12-250% на різних фазах розвитку. У водних ви-

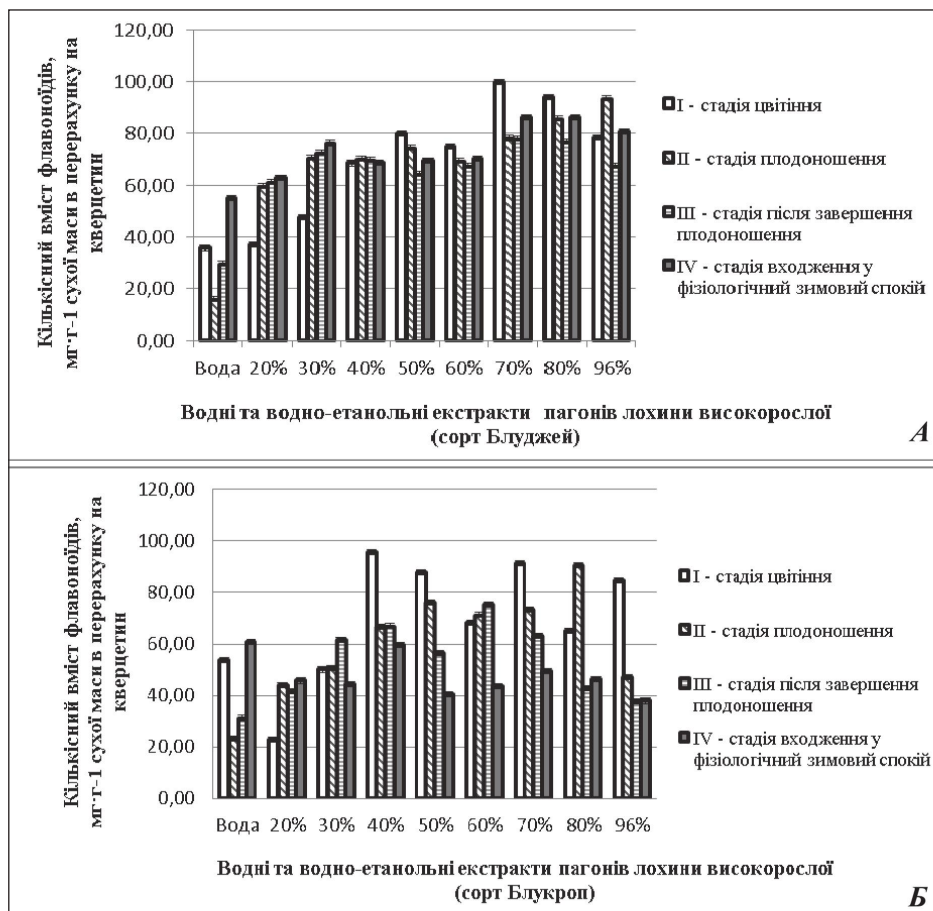


Рисунок – Вміст флавоноїдів у пагонах лохини високорослої сортів Блуджей (А) та Блукроп (Б), мг·г⁻¹ сухої маси в перерахунку на кверцетин, (M±SD, n=5).

тяжках флавоноїдів найбільше у фазу IV у обох сортів. За використання інших екстрагентів співвідношення інші. Це відображення того, як розчинники різної полярності екстрагують розчинні компоненти з РС, як це було показано іншими дослідниками [18]. Отже, оскільки екстракти рослин є багатокомпонентними, для ефективної ізоляції певних груп сполук слід враховувати тип екстрагента.

Різні групи поліфенолів важливі не лише для самих рослин. Рослинні поліфеноли проявляють сильні антиоксидантні властивості, здатні протистояти та зменшувати ризик виникнення та лікувати захворювання у людей [26]. Численні дослідження підкреслюють ключову роль окиснювального стресу та запалення при захворюваннях серцево-судинної системи, онкологічних, ожиріння, а також тих, що розвиваються переважно в старечому віці (цукровий діабет 2-го типу, хвороба Альцгеймера). Є переконливе підтвердження участі сполук фенольного природи з рослинної сировини у запобіганні цих хвороб [27,28]. Високий вміст поліфенолів та зокрема, флавоноїдів у пагонах лохини високорослої свідчить про перспективність їх подальшого вивчення з метою застосування.

Висновки. Отже, вміст поліфенолів та флавоноїдів у пагонах лохини високорослої сортів Блукроп та Блуджей змінюється залежно від сезону і фізіо-

Таблиця 2 – Частка флавоноїдів від загального вмісту поліфенолів у екстрактах пагонів сортів лохини високорослої залежно від екстрагента, %

Зразки / Фаза розвитку	сорт Блуджей				сорт Блукроп			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
H ₂ O	38,42	18,66	37,45	57,41	59,23	27,58	36,44	92,03
20 %	34,15	51,48	43,35	43,33	16,92	33,68	29,16	33,31
30 %	30,82	64,80	42,29	51,24	37,69	36,57	38,4	32,93
40 %	44,40	50,45	37,71	45,84	70,90	45,49	39,92	38,18
50 %	51,20	51,50	43,93	45,34	63,98	53,46	37,74	30,00
60 %	60,46	48,35	44,12	50,35	55,77	47,32	49,29	31,18
70 %	63,26	55,42	50,72	57,51	61,95	48,2	35,77	37,85
80 %	62,32	66,33	55,38	55,64	43,8	57,65	27,00	30,69
96 %	54,81	63,35	40,88	53,84	57,82	30,60	25,07	24,58

логічних фаз розвитку рослин. Одержані результати дозволяють оцінити оптимальний час збору рослинного матеріалу як джерела поліфенольних сполук та тип екстрагента.

Перспективи подальших досліджень пов'язані з вивченням основних груп поліфенолів, їх хімічного складу, впливу на метаболічні процеси та механізмів дії. Результати проведених досліджень дозволяють вважати пагони *V. corymbosum* перспективним джерелом рослинних антиоксидантів фенольного типу для фармацевтичної промисловості та бути сировиною для нутріцевтичної продукції.

Література

- Fujiki H, Imai K, Nakachi K, Sueoka E, Watanabe T, Suganuma M. Innovative strategy of cancer treatment with the combination of green tea catechins and anticancer compounds. *Cancer Cell & Microenvironment*. 2015;2:e886. DOI: 10.14800/ccm.886
- Tapiero H, Tew KD, Ba GN, Mathé G. Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? *Biomed Pharmacother*. 2002 Jun;56(4):200-7. DOI: 10.1016/s0753-3322(02)00178-6
- Hertog MGL, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Fidanza F. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch Intern Med*. 1995;155(4):381-6. DOI: 10.1001/archinte.1995.00430040053006
- Chuang CC, McIntosh MK. Potential mechanisms by which polyphenol-rich grapes prevent obesity-mediated inflammation and metabolic diseases. *Annual Review of Nutrition*. 2011;31:155-76. Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-072610-145149>
- Amiot MJ, Riva C, Vinet A. Effects of dietary polyphenols on metabolic syndrome features in humans: a systematic review. *Obesity Reviews*. 2016 April 15;17(7):573-86. Available from: <https://doi.org/10.1111/obr.12409>
- Grosso G, Stepaniak U, Micek A, Kozela M, Stefler D, Bobak M, et al. Dietary polyphenol intake and risk of type 2 diabetes in the Polish arm of the health, alcohol and psychosocial factors in Eastern Europe (HAPEE) study. *British Journal of Nutrition*. 2017;118(1):60-8. DOI: 10.1017/S0007114517001805
- Del Bó C, Riso P, Campolo J, Møller P, Loft S, Klimis-Zacas D, et al. A single portion of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) improves protection against DNA damage but not vascular function in healthy male volunteers. *Nutr Res*. 2013 Mar;33(3):220-7. DOI: 10.1016/j.nutres.2012.12.009
- Bensalem J, Dudoonné S, Gaudout D, Servant L, Calon F, Desjardins Y, et al. Polyphenol-rich extract from grape and blueberry attenuates cognitive decline and improves neuronal function in aged mice. *Journal of Nutritional Science*. 2018;7:E19. DOI: 10.1017/jns.2018.10
- Ma L, Sun Z, Zeng Y, Luo M, Yang J. Molecular mechanism and health role of functional ingredients in blueberry for chronic disease in human beings. *Int J Mol Sci*. 2018 Sep;19(9):pii:E2785. DOI: 10.3390/ijms19092785
- Kandaswami C, Middleton E. Free Radical scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids. In: Armstrong D, editor. *Free Radicals in Diagnostic Medicine. Advances in Experimental Medicine and Biology*. 1994;366:351-76. Available from: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1833-4_25
- Yavors'ka NY, Vorobets' NM. Polifenol'nyy kompleks vehetatyvnykh orhaniv lokhyny vysokorosloyi *Vaccinium corymbosum* L. V: Medychna ta klinichna khimiya (Dodatok). 2019;21.3(80):330-1. [in Ukrainian].
- Contreras RA, Köhler H, Pizarro M, Zúiga GE. In vitro cultivars of *Vaccinium corymbosum* L. (Ericaceae) are a source of antioxidant phenolics. *Antioxidants*. 2015;4(2):281-92. Available from: <https://doi.org/10.3390/antiox4020281>
- Wang L, Wu J, Wang HX, Li SS, Zheng XC, Du H, et al. Composition of phenolic compounds and antioxidant activity in the leaves of blueberry cultivars. *J Funct Foods*. 2015;16:295-304.
- Zhu L, Liu X, Tan J, Wang B. Influence of harvest season on antioxidant activity and constituents of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) leaves. *J Agric Food Chem*. 2013;61(47):11477-83. Available from: <https://doi.org/10.1021/jf4035892>
- Routray W, Orsat V. Variation of phenolic profile and antioxidant activity of North American highbush blueberry leaves with variation of time of harvest and cultivar. *Ind Crop Prod*. 2014;62:147-55. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.08.020
- Cezarotto VS, Giacomelli SR, Vendruscolo MH, Vestena AS, Cezarotto CS, Da Cruz, et al. Influence of harvest season and cultivar on the variation of phenolic compounds composition and antioxidant properties in *Vaccinium ashei* leaves. *Molecules*. 2017;22(10):1603. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules22101603>
- Deng Y, Yang G, Yue J, Qian B, Liu Z, Wang D, et al. Influences of ripening stages and extracting solvents on the polyphenolic compounds, antimicrobial and antioxidant activities of blueberry leaf extracts. *Food Control*. 2014;38:184-91. DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.10.023
- Venskutonis PR, Barnackas S, Kazemavičūtė R, Maždzienė R, Pukalskas A, Šipailienė A, et al. Variations in antioxidant capacity and phenolics in leaf extracts isolated by different polarity solvents from seven blueberry (*Vaccinium* L.) genotypes at three phenological stages. *Acta Physiol. Plant*. 2016;38(2):1-13. DOI: 10.1007/s11738-015-2053-y
- Yavorska NY, Lobachevska OV, Khorkavtsiv YaD, Kyvak NYa. Microclonal propagation of the varieties of highbush blueberry *Vaccinium corymbosum* L. *Biotechnologia Acta*. 2016;9(5):30-7. Available from: <https://doi.org/10.15407/biotech9.05.030>
- Chew KK, Ng SY, Thoo YY, Khoo MZ, Wan Aida WM, Ho CW. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Centella asiatica* extracts. *Int Food Res J*. 2011;18(2):571-8.

21. Ozsoy N, Can A, Yanardag R, Akev N. Antioxidant activity of Smilax excelsa L. leaf extracts. Food Chemistry. 2007;110(3):571-83. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.037>
22. Sharma A, Shahzad B, Rehman A, Bhardwaj R, Landi M, Zheng B. Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. Molecules. 2019 June 26;24(13):2452. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules24132452>
23. Páscoa RNMJ, Gomes MJ, Sousa C. Antioxidant activity of blueberry (*Vaccinium* spp.) cultivar leaves: differences across the vegetative stage and the application of near infrared spectroscopy. Molecules. 2019 Nov;24(21):3900. Published online 2019 Oct 29. DOI: 10.3390/molecules24213900
24. Samanta A, Das G, Dey S. Roles of flavonoids in plants. Int J Pharm Sci Tech. 2011 January-June;6(1):12-35.
25. Sharma A, Shahzad B, Rehman A, Bhardwaj R, Landi M, Zheng B. Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. Molecules. 2019;24(13):2452. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules24132452>
26. Cory H, Passarelli S, Szeto J, Tamez M, Mattei J. The role of polyphenols in human health and food systems: a mini-review. Front Nutr. 2018 Sept 21;5:87. Available from: <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00087>
27. Vitale M, Masulli M, Rivelles AA, Bonora E, Cappellini F, Nicolucci A. Dietary intake and major food sources of polyphenols in people with type 2 diabetes: The TOSCA.IT Study. Eur J Nutr. 2018 Mar;57:679-88. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00394-016-1355-1>
28. Reinisalo M, Kärilund A, Koskela A, Kaarniranta K, Karjalainen RO. Polyphenol stilbenes: molecular mechanisms of defence against oxidative stress and aging-related diseases. Oxidative medicine and cellular longevity. 2015;2015. Available from: <https://doi.org/10.1155/2015/340520>

ВМІСТ ПОЛІФЕНОЛІВ ТА ФЛАВОНОЇДІВ У ПАГОНАХ ЛОХИНИ ВИСОКОРОСЛОЇ ПРОТЯГОМ ВЕГЕТАЦІЙНОГО ПЕРІОДУ

Яворська Н. Й., Воробець Н. М.

Резюме. Досліджено вміст поліфенолів і флавоноїдів у пагонах двох сортів лохини високорослої *Vaccinium corymbosum* L.: Блукроп та Блуджей, інтродукованих у Львівській області протягом 2018-19 років, на різних фізіологічних стадіях розвитку (цвітіння (I), плодоношення (II), після закінчення плодоношення (III), входження у стадію зимового фізіологічного спокою (IV) у водних та різної концентрації водно-етанольних екстрактах. Виявлено, що загальний вміст поліфенольних сполук змінюється в межах 86,05-184,80 мг·мл⁻¹ у пагонах Блуджей та в межах 84,32-176,72 мг·мл⁻¹ сухої маси в перерахунку на галову кислоту у Блукроп. Хорошими екстрагентами для поліфенолів виявилися 30%-й етанол та водні розчини етанолу у вищих концентраціях. Максимальний вміст флавоноїдів у сорту Блуджей спостерігався у фази I, II і на 8-14 % нижчий – у фазу IV, а у сорту Блукроп – перші дві фази розвитку. Кращими екстрагентами флавоноїдів були різні концентрації водного етанолу порівняно з водою. Одержані результати свідчать, що пагони лохини високорослої можуть бути потенційним джерелом поліфенольних сполук та флавоноїдів.

Ключові слова: *Vaccinium corymbosum* L. сорти Блукроп та Блуджей, поліфеноли, флавоноїди.

СОДЕРЖАНИЕ ПОЛИФЕНОЛОВ И ФЛАВОНОИДОВ В ПОБЕГАХ ГОЛУБИКИ ВЫСОКОРОСЛОЙ В ТЕЧЕНИЕ ВЕГЕТАЦИОННОГО ПЕРИОДА

Яворская Н. И., Воробец Н. Н.

Резюме. Исследовано содержание полифенолов и флавоноидов в побегах двух сортов голубики высокорослой *Vaccinium corymbosum* L.: Блукроп и Блуджей, интродуцированных во Львовской области в течение 2018-19 годов, на разных физиологических стадиях развития (цветения (I), плодоношения (II), после окончания плодоношения (III), вхождения в стадию зимнего физиологического покоя (IV) в водных и различной концентрации водно-этанольных экстрактах. Выведено, что общее содержание полифенольных соединений изменяется в пределах 86,05-184,80 мг·мл⁻¹ сухой массы в пересчете на галловую кислоту в Блукроп. Хорошими экстрагентами для полифенолов оказались 30%-й этанол и водные растворы этанола в более высоких концентрациях. Максимальное содержание флавоноидов у сорта Блуджей наблюдалось в фазы I, II и на 8-14% ниже – в фазу IV, а у сорта Блукроп – в первые две фазы развития. Лучшими экстрагентами флавоноидов были разные концентрации водного этанола по сравнению с водой. Полученные результаты свидетельствуют, что побеги голубики высокорослой могут быть потенциальным источником полифенольных соединений, и флавоноидов.

Ключевые слова: *Vaccinium corymbosum* L. сорта Блукроп и Блуджей, полифенолы, флавоноиды.

SEASONAL VARIATION IN THE POLYPHENOLS AND FLAVONOIDS CONTENT IN SHOOTS OF Highbush BLUEBERRY CULTIVARS DURING VEGETATION STAGES

Yavorska N., Vorobets N.

Abstract. It is known that different groups of polyphenolic compounds that enter the human and animal body with food and/or herbal medicines have a significant impact on the course of metabolic processes, and hence the health of the body. During the last century, the species of *Vaccinium corymbosum* L. (highbush blueberry) (and its' varieties) are widely used: berries as edible, other organs as a source of BAS. It is known that the accumulation of polyphenols by plants depends on many factors and their content in different organs and parts can vary.

Objective. This study investigated polyphenols and flavonoids content of two varieties (Bluecrop and Blujay) of *V. corymbosum* shoot extracts harvested at four physiological stages. The aim was also to evaluate the effect of the solvents on the completeness of the extraction of polyphenols and flavonoids received from plant raw materials by maceration.

Object and methods. Highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) varieties Bluecrop and Blujay were grown in the field of Berry Partner Ltd. in Lviv region of Ukraine during 2018-2019. Shoots of Bluecrop and Blujay were harvested at four physiological stages (blooming (I), ripening of berries (II), after ripening (III), preparing to winter (IV), and extracted by ten solvents (water, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 95% ethanol). Results on total polyphenols

content (TPC) are based on spectrophotometrically quantification following modified Folin-Ciocalteu method, the content of flavonoids (TFC) was evaluated spectrophotometrically. Data are means $\pm$ SDs (n=5).

Results. Results expressed on dry matter basis revealed the shoots contain the following: it was found that the TPC varies in the range of 86.05-184.80 mg·g⁻¹ DW in gallic acid equivalents in Bluejay and in the range of 84.32-176.72 mg·g⁻¹ DW in gallic acid equivalents in Bluecrop. Good solvents for polyphenols were 30% ethanol and aqueous solutions of ethanol in higher concentrations, which extracted 33-68% more polyphenols compared to water in stage I, 34-79% in stage II, 75-134% in stage III, by 45-61% at stage IV in the variety Bludgey; by 34-63%, 64-86%, 75-106%, 103-136% in the Bluecrop variety, respectively. The maximum TFC in the Bluejay was observed in the phase of flowering (99,2 $\pm$ 7,67 mg·g⁻¹ DW in quercetin equivalent), fruiting (93,46 $\pm$ 4,33 mg·g⁻¹ DW in quercetin equivalent) and 8-14% lower – in the phase of entering the winter period of physiological rest, and in the Bluecrop – the first two phases of development. Better solvents were different concentrations of aqueous ethanol compared to water: in phase I and III the best solvent was 70% and 80% ethanol, in II – 80%, in IV – 70%.

Conclusion. Thus, the highbush blueberry polyphenols content depends on the seasons (and physiological phases of plant development) and may present variability through the leading to different final bioproducts with variable composition. Polyphenols content in highbush blueberry shoot extracts varied during extraction solvents. The obtained results allow estimating the optimal time of collection of plant material as a source of polyphenolic compounds. The results of the research allow considering the shoots of *V. corymbosum* varieties Bluecrop and Bluejay a promising source of plant antioxidants of phenolic type for further investigation for the pharmaceutical industry and to be a raw material for nutraceutical products.

Key words: *Vaccinium corymbosum* L. varieties Bluecrop and Bluejay, polyphenols, flavonoids.

*Рецензент – проф. Небесна З. М.
Стаття надійшла 01.06.2020 року*